

## 「細胞接着」のしくみと機能

### 巻頭インタビュー

大阪大学大学院 生命機能研究科・医学系研究科 教授

月田早智子

## 上皮バリアシステムと

タイトジャンクション

## 「TJアピカル複合体」

上皮細胞の最大のミッションは細胞シートを形成することだ。シート形成そのものはカドヘリンを中心とした細胞接着複合体としてのアドヘレンスジャンクションにより制御される。そして、タイトジャンクションによって上皮細胞間バリアが確立すると、上皮細胞シートは構造的・機能的に分化してさまざまな高次機能を生み出す。そのような生体システムを確立するのに必須な細胞間接着装置とアピカル膜構築に着目し、関連領域の研究者と共同でさまざまな解析を行っている研究者にインタビューした。

上皮細胞の最大のミッションはシートを形成することです。なぜなら、私たちの身体の表面は上皮細胞シートで覆われ、生体内の内部環境が外部環境から隔絶されています。また、その内部環境も、多くのコンパートメントに分けられ、それぞれのコンパートメントの環境が保たれています。上皮細胞シートによって生体内の恒常性を保っているからです。

この外部との隔絶、さらには内部環境のコンパートメント化のために壁を作り仕切りをしている上皮細胞シートは、細胞どうしの接着で形成されます。ここではその細胞の接着について述べますが、その前に少し基礎的なこととお話ししておきたいと思います。

月田早智子(つきた・さちこ)  
1978年、東京大学薬学系研究科修士課程修了。1983年東京大学医学研究科第一基礎医学(解剖学)博士課程修了。東京都臨床医学総合研究所、岡崎国立共同研究機構生理学研究所、京都大学を経て、2007年より現職。2012年文部科学大臣表彰・科学技術賞、2015年東レ科学技術賞を受賞。タイトジャンクションの研究者として知られ、クローアインを発見した月田承一郎氏はパートナーであり研究の同志でもあった。



### 細胞の接着とその意義

私たちの身体は約60兆の細胞から成り立っているといわれてきました。ただし、近年は、各組織の体積や臓器ごとに算定した細胞数の合計として、37兆個余りともいわれています。いずれにしても、ヒトは多数の細胞からなる文字通りの多細胞生物だといえます。

では、これだけたくさんの細胞はどのようにしてまとまり、機能しているのでしょうか？ 細胞には、いろいろな種類があり、それぞれ形や性質が違います。しかし、細胞が単純に集まり、無秩序に結合すると、単なる細胞の塊にしかありません。例えば心臓がリズムカルに拍動するのも、同じ形や性質の細胞が集まって心臓という臓器をつくってこそ、協調して働けるようになるのです。このように同じ形や性質の細胞が集まったものを組織といい、上皮組織、結合組織、筋組織、神経組織の四つに大きく分類されています。

では、実際に、どのようにして細胞は結合するのでしょうか？ 細胞が集まってまとまる際の結合様式は、大きく二つに分類されます。一つは、細胞間マトリックスと呼ばれる物質を足場にして結合するものです。もう一つは、そのような足場に依存しないまさに細胞どうしの結合です。

図1 タイトジャンクション・アピカル複合体を軸とした上皮バリア研究の新展開

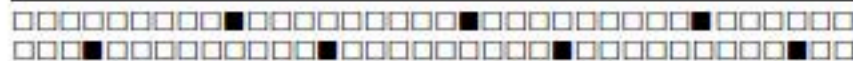
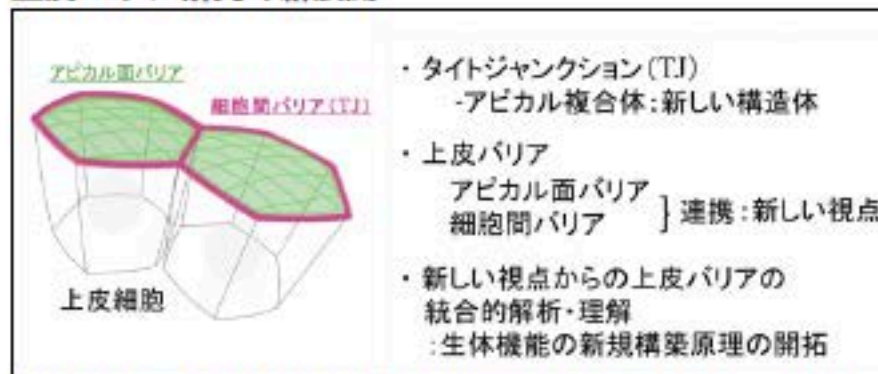
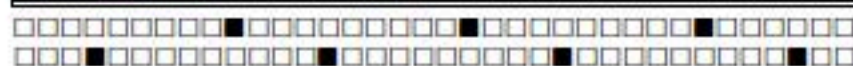
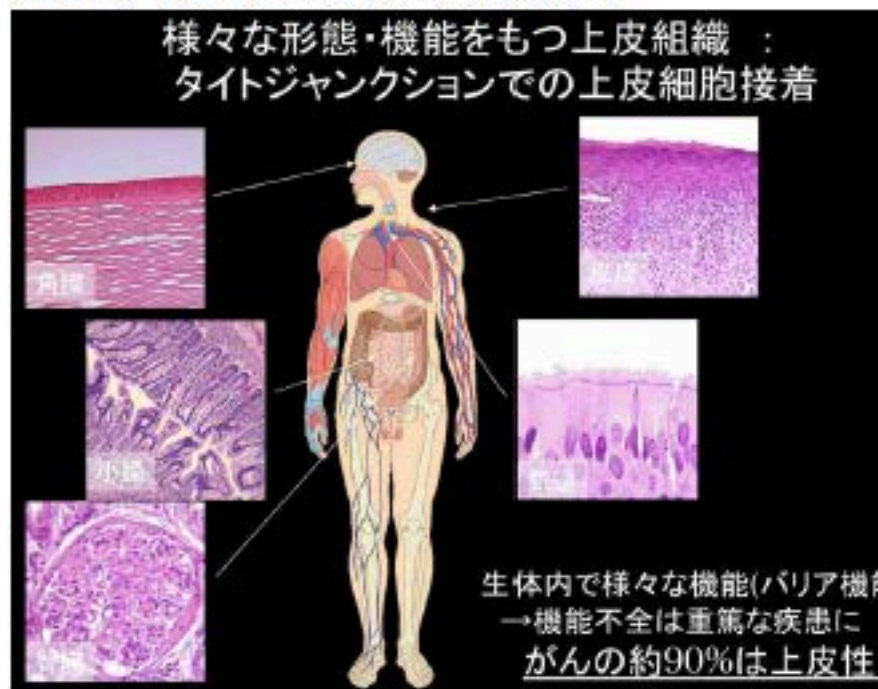


図2 様々な形態・機能をもつ上皮組織:  
タイトジャンクションでの上皮細胞接着



この後者の細胞どうしの結合が、細胞が組織を形成する過程では欠かせません。そしてこの結合も、細胞の上辺(アピカル)から順に隣接する細胞の細胞膜を密着させるタイトジャンクション(tight junction: 密着結合)、細胞の形態を保持するアドヘレンスジャンクション(adherens junction: 接着結合)、細胞同士をボタン状につなぎ合わせるアスモソーム(desmosome)という結合、そして隣接する細胞どうしの間で物質移動ができるようにするギャップジャンクション(gap junction: ギャップ結合)などに分類されます。これは言い換えると、細胞の結合様式には、それぞれが担う役割があるということでもあります。

## 細胞を結合させるタンパク質

細胞間の接着では、細胞どうしを接着させるいわゆる接着分子が重要な役割を果たしています。例えば、アドヘレンスジャンクションとアスモソームに関与するのが、カドヘリンというタンパク質。これは1982年に京都大学の竹市雅俊名誉教授によって発見され、命名されました。

このカドヘリンは細部の組織構築のために不可欠な接着分子です。カドヘリンは同じタイプの性質を持ったカドヘリンどうしが接着するという性質を持っています。例えばよく知られている実験ですが、肝臓の細胞と腎臓の細胞をバラバラにして混ぜておくと、やがて肝臓は肝臓どうし、腎臓は腎臓どうしが集まって塊をつくります。

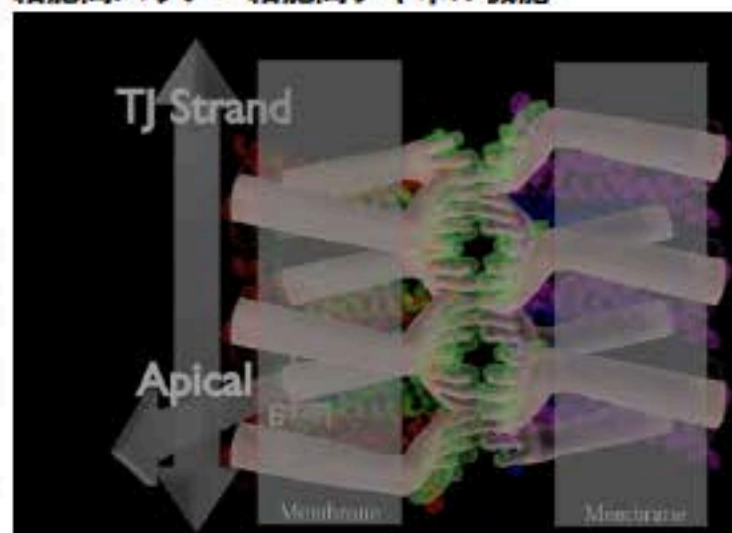
カドヘリンを失った細胞は安定した接着ができません。つまり、細胞どうしが集まっても、カドヘリンによる安定した接着ができないと、その集団を組織として形成したり維持したりすることができないのです。

そして、細胞の上辺で隣り合う細胞どうしを文字通り密着させているのが、タイトジャンクションにおける接着分子クローディンです。1998年、京都大学教授出会った故・月田承一郎とその研究グループが発見しました。私もその一員です。

クローディンは膜を4回貫通するタンパク質で、細胞膜の外側でクローディンどうしが結合します。すると、隣り合う細胞の膜どうしが、まるでタンパク質の糸で縫い合わされたように密着して一体となるのです。

冒頭で述べた上皮細胞の最大のミッションであるシートの形成には、カドヘリンとクローディンが欠かせません。細胞表面に存在するカドヘリン分子が、細胞内のアクチンフィラメントよりなる細胞骨格構造と連結することにより、アドヘレンスジャンクションストランドという強い接着構造が形成されます。一方、クローディンが線状に重合し、タイトジャンクションストランドという構造体を形成することで、内部環境

図3 クローディン重合によるTJstrandの形成と細胞間バリア・細胞間チャンネル機能



□□□□□□□□□□ ■ □□□□□□□□□□ ■ □□□□□□□□□□ ■  
 □□□□□□□□□□ ■ □□□□□□□□□□ ■ □□□□□□□□□□ ■

と外部環境を隔絶して生体内の恒常性を確保することができます。

## 生体のバリア機能

生体内の恒常性を確保しているということは、言い換えると、上皮細胞が接着し形成される上皮細胞シートは、生体内でさまざまなバリア機能を創出しているということです。実はこのバリア機能にもクローディンが関わっています。

例えば、クローディン1をノックアウトしたマウスは、生後すぐに水分が蒸散して脱水を呈し、半日くらいで生きていけなくなります。私たちヒトの身体は、成人では約60～65パーセントが水分で満たされているといわれています。クローディン1は、水分を保つために体内から体外へのバリアとして機能しているといえるでしょう。

クローディンは現在までに、ヒトやマウスにおいては27種類のファンファミリーが確認されています。そして、組織ごとにタイプが異なる複数種のクローディンが出現することにより、器官特有のバリア機能を発揮するのではないかと考えられています。

私たち（大阪大学大学院生命機能研究科・医学系研究科の徳増玲太郎特任研究員、同大学院医学系研究科情報統合医学・皮膚科学教室の室田浩之准教授）が取り組んだ近年の研究成果から、その一端について解説しましょう。

クローディン1のノックアウトマウスは出生後1日で死に至るため、これまで加齢に伴って出現する症状や疾患への影響を調べることは困難でした。そこで、クローディン1の発現量を6段階で変化させた遺伝子改変マウスを作製し、その成長過程を調べることで、出生後の加齢による皮膚の変化にクローディン1が与える影響を調べたのです。

表皮を構成するケラチノサイトという細胞を用いて、mRNAの発現量、タンパク質量、バリア機能の関係性を解析したところ、mRNAの発現量が半分程になるまでは、バリア機能に大きな変化はありませんが、半分以下になると急激にそのバリア機能が低下。マウス新生児でも、バリア機能の低下に合わせるように、表皮の分化異常が観察されました。

これをマウスの成長過程で追うと、クローディン1の発現量の減少に伴い、アトピー性皮膚炎に似た症状が観察されました。その症状は、幼児期に顕著に認められるのですが、成長に従って回復する傾向があります。また回復の度合いは、クローディン1の発現量に応じて変化するという結果を得ました。

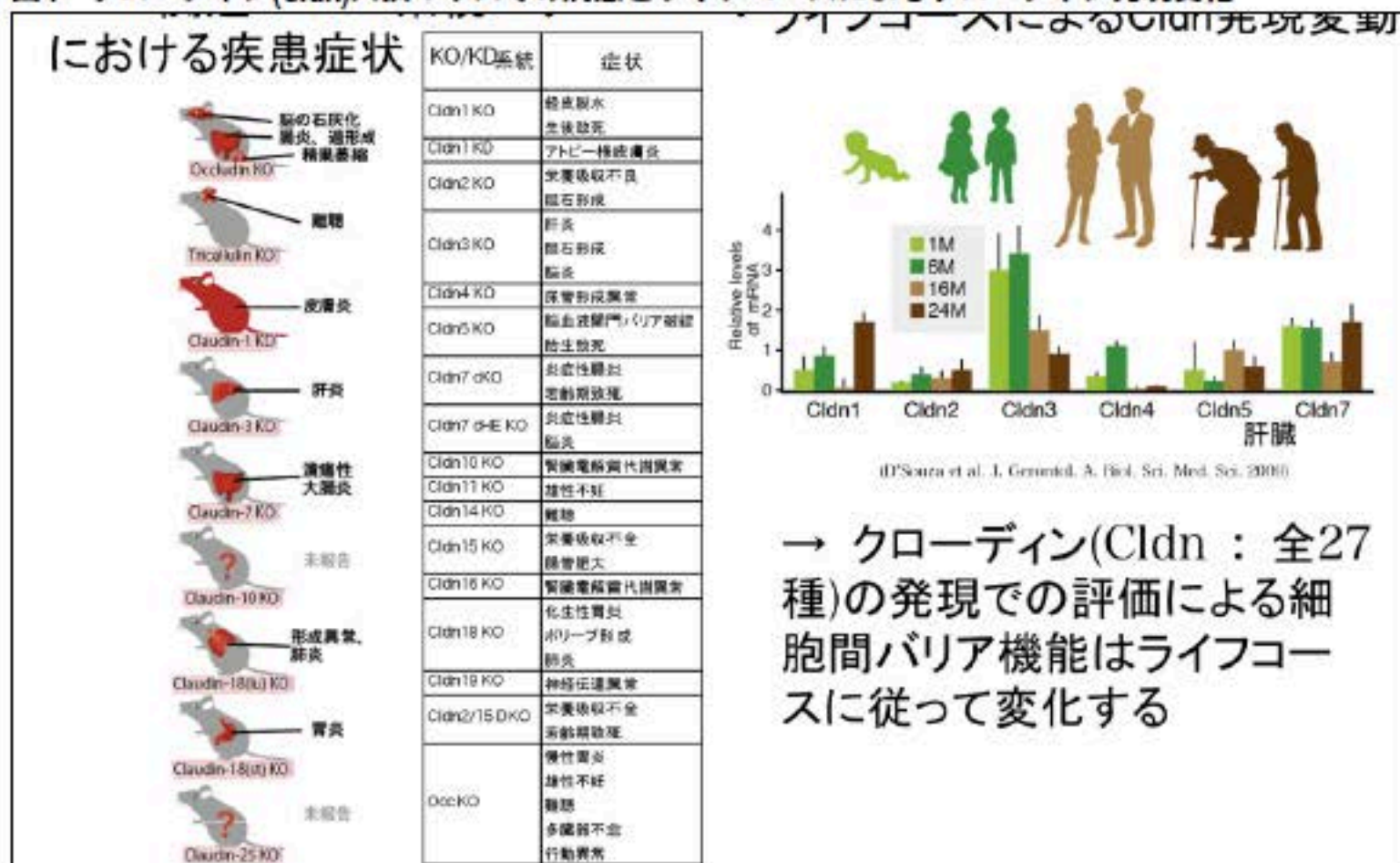
このほかにもノックアウトマウスを使った研究から、図（クローディン欠損マウスでの病態変化とライフコースによるクローディンの発現変化）のように、どのクローディンが欠けるとどのような症状が出現するのか、さらにまた年齢に応じて機能に高低があることがわかってきています。

## 膜を透過させるチャンネル

このようにバリア機能構築におけるクローディンの役割は大いに注目されてきましたが、実はクローディンには細胞間バリア内チャンネルとしての役割やアピカル膜チャンネル・トランスポーターとしての機能もあります。この機能があるからこそ消化管で栄養の吸収などが可能です。しかし、メカニズムの全容はなかなか解明することができませんでした。

そこで私たち（共同：大阪大学・生命機能研究の田村淳准教授）は、小腸で多く発現するクローディン2とクローディン5の遺伝子を欠損させたダブルノックアウトマウスを作製し、腸管の各部位での栄養吸収と電解質恒常性の関連について野生型マウスと比較検討

図4 クローディン(Cldn)欠損マウスでの病態とライフコースによるクローディン発現変化



→ クローディン(Cldn：全27種)の発現での評価による細胞間バリア機能はライフコースに従って変化する

しました。

アミノ酸はナトリウム依存性と非依存性の2つの経路で吸収されますが、ナトリウム依存性吸収が大きく低下していました。便を確認すると支部さんの含有量が多く。これは脂肪酸の吸収低下を示唆しています。結果として、ダブルノックアウトマウスでは、糖・アミノ酸・脂肪の3大栄養素全ての吸収が低下し、電解質恒常性も崩れ、離乳期前後で致死となりました。

原因を解析すると、細胞間バリア内チャンネルとしてNa<sup>+</sup>イオンが小腸内腔に供給されず、アピカル膜のNa<sup>+</sup>依存性栄養吸収トランスポーターが機能しなかったと考えられます。

つまり、クローディン12とクローディン15が欠損すると、細胞間のイオン透過性が低下するので、粘膜下から腸管内腔に供給されるナトリウムイオンも低下して腸管内のナトリウムイオン濃度が激減。その結果、腸管内ナトリウム依存性の3大栄養素の吸収が阻害されるということです。このことから、クローディンが透過イオンの選択的なチャンネルであること、そして

アピカル膜タンパク質がクローディンとともに機能して生体システムを構築していることがわかりました。

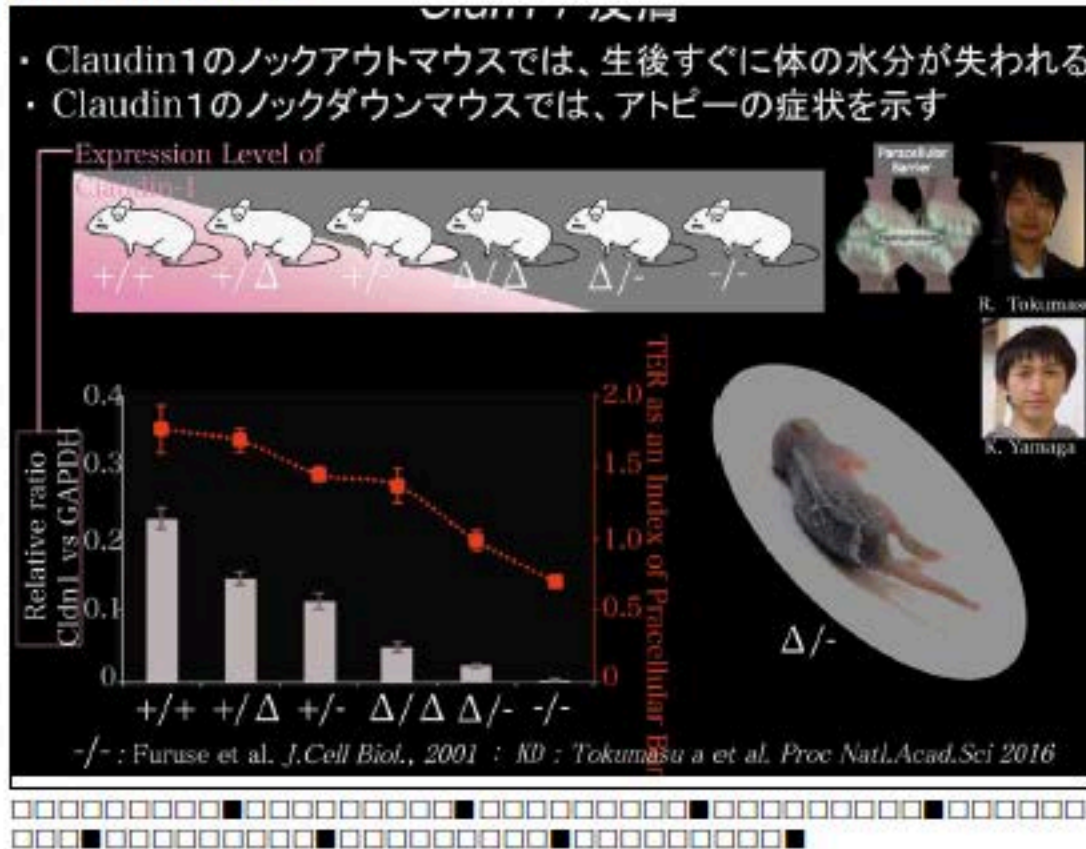
### TJ-アピカル複合体

上皮細胞シートの形態はさまざまに変化します。実は繊毛もその一つ。ヒトの気管や卵管の内腔は繊毛細胞のシートによりびっしりとおおわれています。一つひとつの繊毛細胞は毛のような構造を100～200本も持っていて、それら繊毛細胞のすべての繊毛は規則正しく同じ方向に動く波を形成し、パケツリレー式にも運びます。こうした動きの協調で、気管では細菌やウイルスなどの異物の除去、卵管では卵子の運搬輸送などが行われているわけです。

しかし、なぜ繊毛細胞がこのように規則正しく同じ方向に動くことができるのかは謎でした。そこで、この謎の解明を試みたのです。

この繊毛の根元付近を顕微鏡で立体的に観察すると、繊毛と繊毛の間に細長い細胞骨格繊維がメッシュ状に走っています。そして各繊毛はメッシュの隙間から伸

図5 Cldn1-/-皮膚



びているのですが、これを超高圧電子顕微鏡トモグラフィで見ると、繊毛の根元に小さな突起があり、メッシュ状の繊維は、その突起に結合されていることが確認できました。

この突起にはOdf2というタンパク質が存在しています。そこでOdf2の一部を欠損させたマウスを作製して調べてみると、繊毛の根元には突起が形成されず、メッシュ状の繊維も構築されません。繊毛の動きは協調せず、完全にバラバラです。その結果、マウスは異物を排出できないので咳やくしゃみをし続けました。また、マウスは不妊症になりました。これは繊毛が協調しないために、卵管で卵子を運ぶことができなくなったからではないかと考えられます。

この研究により、繊毛の根元に付着する突起が繊毛の協調運動の要となっていることがわかりました。Odf2と関連するタンパク質の解析などさらに研究を進めることにより、将来的には気管の繊毛細胞の動きを制御して、気道での感染症やその重症化の予防が可能になるのではないかと期待できます。また、卵管に原因のある不妊症も治療できる可能性もあるでしょう。

ところで、上皮細胞シートにおける個々の細胞は、

タイトジャンクション(TJ)によって強く接着し、敷石状の規則正しい細胞輪郭を有しています。これをアピカル側から見る、上皮細胞アピカル面とTJは、ひとつながりに一体化しているように見えます。共同研究に取り組む私たちは、上皮細胞アピカル(頂端部)に存在する細胞骨格とタイトジャンクションを「TJアピカル複合体」というシステムとして定義しました。そして上皮バリアシステムとしての「TJアピカル複合体」という研究分野の開拓に乗り出したのです。

ここで触れた研究はいずれ

もこの視点で取り組んだものです。例えば前述の多繊毛同調運動を「TJアピカル複合体」というシステムから解析すると、突起すなわち繊毛の根元にある繊毛基底の特定部位に付随する構造体が形成できないと、繊毛の配置と運動が大幅に乱れ、「TJアピカル複合体」が正常に発達しません。一方、突起が正常に発達したマウスでは、突起が「TJアピカル複合体」に結合することで正常な繊毛運動を確立し、生体バリアとして働くことができました。つまり、多繊毛上皮細胞の繊毛運動の方向制御には、基底小体とアピカル膜直下の微小管ネットワークが必要なのです。

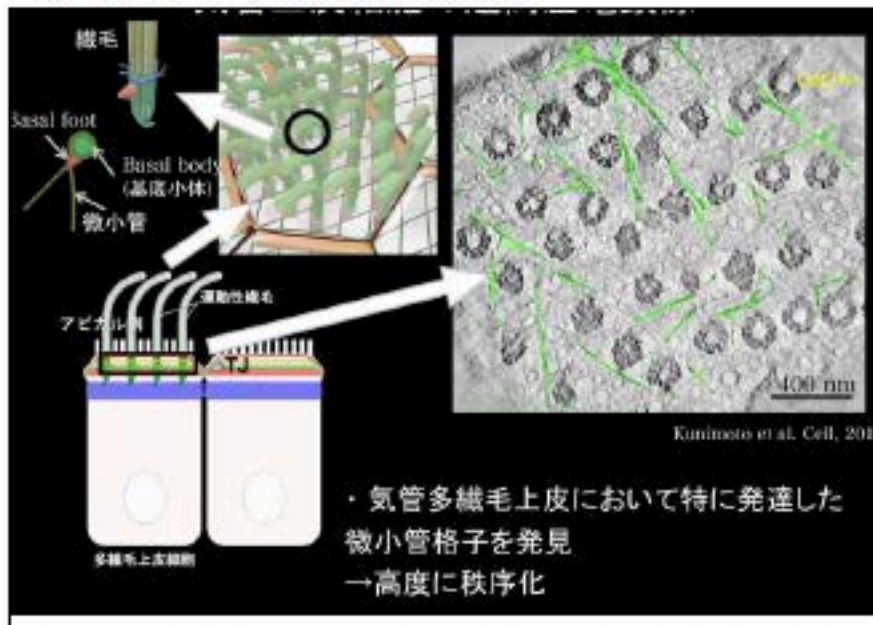
### 構造解明と今後の展望

少しずつ解明が進む一方で、クローディンがどのような構造をとってタイトジャンクションを形成しているのかは、発見以来の謎でした。また、クローディンがチャンネルとして働くときに、どのようにして透過させるものを選択しているのかも、同じく謎でした。これらの謎を解く糸口になると期待できるのが、クローディンの構造解析です。

私たち(名古屋大学細胞生理学センター(CeSPI)、大学院創薬科学研究科の藤吉好則 特任教授、東京大

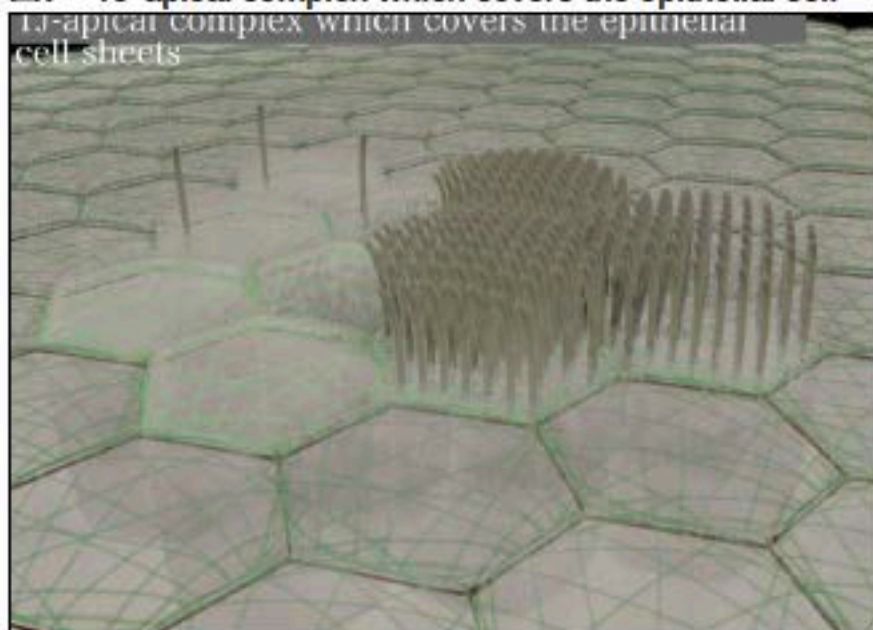
## 「細胞接着」のしくみと機能

図6 気管上皮細胞の超高压電顕像



□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□□□□  
 □□■□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□

図7 TJ-apical complex which covers the epithelial cell



□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□□□□  
 □□■□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□□□□□□□■□□

学大学院理学系研究科の瀧木理教授との共同研究グループ)は、クローディン15の構造を原子分解能で解明しました。

その結果、クローディン15は幅約3ナノメートルの大きさで、4回膜貫通型のタンパク質として新規の折りたたみ構造を取っていることや、細胞外側の2つのループ領域がひと続きのシート構造を形成し、それが4本ヘリックスバンドルからなる膜貫通領域にアンカーされていることが明らかになりました。そしてこの構造解析から、クローディン15が細胞外に掌

を向けたような構造を持つこと、その表面の電荷の正負で細胞間の隙間を透過するイオンの種類を制御できることが明らかになったのです。

この研究で得たクローディンの機能および構造解析の知見は、将来的なクローディンの構造解明への入り口になったと確信しています。また、今後はイオン恒常性の仕組みへの理解が深まり、低マグネシウム血症や硬化性胆管炎、難聴、C型肝炎細ウイルスなどクローディンに関わる疾患について、胞間隙を経由した新規ドラッグデリバリー法開発の基礎となることを期待しています。

私が研究仲間とともに取り組んでいるのは、基礎研究です。これまでの研究から、タイトジャンクションそのものや「TJアピカル複合体」の異常が、私たちの健康を損なうことを明らかにしてきました。そしてこれらの総合的知見が新たな治療方法や創薬などの基盤に、多くの人の健康に寄与できればと願っています。

神経組織と上皮組織は関係ないといわれていますが、一方で近年はこれまで無縁とされてきた腸管と脳の関係が言及されるようになりました。小腸に炎症が起きて非常に悪い状態になると、その炎症物質が脳に蓄積されて機能できなくなってしまうという説です。

皮膚にも神経があり、それは全て脳につながっています。例えばそんな皮膚の神経の直下で炎症が起こると、その炎症物質も脳に運

ばれ、脳機能にダメージを与える可能性があるといえるでしょう。血管もまた全身を循環しています。末端の上皮直下の炎症が、身体中を回って脳に蓄積されるとも考えられます。そう考えると、上皮から脳機能を制御できる日が来るかもしれません。例えば、皮膚の状態をよくしておけば、健康で脳神経疾患を抑制し、健康で長生きできるようになるかもしれない!? そんな期待を口にすると、「エビデンスがない」「妄想だ」と一刀両断されてしまうのですが、私は希望を捨てられません。研究の源は未来への夢と希望です。