

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 中津 大貴

血管や乳管などの管腔や皮膚の表面を覆うものとして、上皮細胞シートが存在する。上皮細胞シートは、上皮内外の物質やイオンの往来を制限的に制御する機能（バリア機能）の担い手として知られている。そして、近年の研究から、上皮細胞シートのバリア機能の攪乱が管腔や皮膚からの内容物や水分の流出を招き、生体にとって致命的な影響や重篤な疾患を引き起こすことが報告されている。タイトジャンクション(TJs)は、上皮細胞シートを生み出す上皮細胞間の密着結合を制御する構造体である。TJs には二細胞接着面に構成されるバイセルラータイトジャンクション(bTJs)と、三細胞接着点に構成されるトリセルラータイトジャンクション(tTJs)という 2 つの異なる構造体が存在する。そして、tTJs の構造形成異常は bTJs のそれと同様に、上皮細胞シートのバリア機能攪乱を介して個体に重大な悪影響を与えることが示唆されている。しかしながら、tTJs の構造形成の制御因子や制御メカニズムは、その重要性に反してほとんど明らかにされていない。

本研究では、tTJs 構成タンパク質である **angulin-1/LSR** の細胞内局在や発現量の変化を指標に、tTJs の構造形成を制御するキナーゼ群の可視化スクリーニングを行った。そして、80 種類のキナーゼ阻害剤によるキナーゼ活性抑制と、1713 種類の siRNA を用いたキナーゼ発現抑制による網羅的なキナーゼスクリーニングと実験的な検証により、**JNK1**、**JNK2**、**Pyk2** を tTJs の構造制御因子として同定した。さらに、バイオインフォマティクス的手法を用い、**JNK1** が **angulin-1/LSR** の 288 残基目のセリンのリン酸化サイトであることを予測した。フォスタグ法などの生化学的な実験結果をもとに、その 288 番目のセリン残基が **JNK1** により直接的なリン酸化を受け、それを介して **angulin-1/LSR** などの構成タンパク質が tTJs へ濃縮すること、そして、それが tTJs の構造維持に必要であることを発見した。また、**JNK2** が **JNK1** の下流に位置し、**angulin-1/LSR** のリン酸化と tTJs の構造維持に必須な役割を果たすことも明らかにした。一方、**Pyk2** が **JNK** とは独立のメカニズムで、tTJs の構造形成を正常に維持している

ことも示した。

また、本研究では、**JNK1**、**JNK2**、**Pyk2** が **tTJs** の構造形成を正常に維持することで、上皮細胞シートのバリア機能の強化を抑制していることを示し、**tTJs** の構造形成制御を介した上皮細胞シートのバリア機能調節の新規メカニズムを明らかにした。

このように、本研究において、**JNK1**、**JNK2**、**Pyk2** という 3 種類のキナーゼが **tTJs** の構造形成の制御因子であることを初めて同定し、上皮細胞シートのバリア機能の調節で必須な役割を担うことを発見したことは極めて重要である。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。