

博士論文要旨

消化管における細胞骨格関連タンパク質エズリンの 生理的な役割に関する研究

立命館大学大学院理工学研究科
総合理工学専攻博士課程後期課程

ヨシタ サリ
吉田 沙織

エズリンは、主に消化管(胃・小腸)や腎尿細管の刷子縁膜(Brush border membrane: BBM)に集積し、細胞膜上のタンパク質とアクチン細胞骨格とを架橋して、アクチンフィラメントの再構成を伴う細胞の形態変化や、膜タンパク質の細胞膜上での発現や機能を制御する。本研究では、マウスの消化管におけるエズリンの働きについて動物モデルを用いて検討した。エズリンの発現を野生型の5%まで低下させたトランスジェニックマウス(エズリンノックダウン[*Vil2^{kd/kd}*]マウス)と野生型マウスの胃の組織を比較すること、回腸BBM画分のプロテオーム解析を行うことによってエズリンが果たす役割を検討した。

胃においてエズリンは、主に壁細胞の管腔側膜に発現し、胃酸分泌に先立っておこるプロトンポンプを含む細管小胞と管腔側膜が融合する過程に関与する。*Vil2^{kd/kd}*マウスでは、この膜融合が行えずに無酸症を起こすことが報告されている。しかしながら、エズリンが胃粘膜や壁細胞内の構造に対して与える影響については調べられていなかった。そこで、本研究では、両マウスの胃粘膜と壁細胞の構造を比較した。その結果、*Vil2^{kd/kd}*マウスは、高ガストリン血症にともなう起こる腺窩上皮の過形成と、胃底腺の拡張をとまなう胃粘膜の肥厚を起こすことを見出した。また、胃底腺において、壁細胞と主細胞の割合が減少し、副細胞の割合が増加する構造変化を起こすことを見出した。さらに、*Vil2^{kd/kd}*マウスでは典型的な細管小胞や管腔側膜が欠損し、野生型マウスでは見られない異常なミトコンドリアや空胞化が観察された。このことから、エズリンは、酸分泌にとまなう膜融合に関わるだけでなく、胃粘膜の構造や、壁細胞内の微細構造の維持にも必要であることを明らかにした。

小腸においてエズリンは、溶質輸送に関わる膜タンパク質が多く発現する吸収上皮細胞のBBMに集積する。エズリンは直接的に、または足場タンパク質を介して間接的に、膜タンパク質と結合して膜表面での発現に影響を与えると考えられるが、その全体像は明らかにされていなかった。そこで、本研究では、*Vil2^{kd/kd}*マウスと野生型マウスの回腸BBM画分を用いたプロテオーム解析を行い、網羅的な発現比較を行った。その結果、*Vil2^{kd/kd}*マウスのBBM画分において、いくつかの膜輸送タンパク質や細胞骨格関連タンパク質、小胞輸送関連タンパク質の発現に増減が見られた。また、*Vil2^{kd/kd}*マウスで発現低下が見られたタンパク質のうち、モノカルボン酸輸送体であるSMCT1やクロライドチャネルであるCLIC5、足場タンパク質であるNHERF1については、ウェスタンブロットや免疫蛍光染色によって膜表面での発現が低下することを確認した。

以上、本研究では消化管におけるエズリンの役割について検討を行い、胃では胃酸分泌に関わるだけでなく、壁細胞の構造維持や胃粘膜の構造維持に関わることを明らかにした。回腸では溶質輸送に関わるタンパク質の膜表面での発現に影響を与えることを明らかにし、エズリンが回腸における溶質輸送に関与する可能性を示した。