

The bicellular tensile force sorts the localization of LSRs in bicellular and tricellular junctions

Ann N Y Acad Sci. 2017 Jun; 1397(1): 185-194. doi: 10.1111/nyas.13362.
Epub 2017 May 10.

Kohno T, Kikuchi S, Ninomiya T, Kojima T.

要旨 LSR は3個の上皮細胞に囲まれた領域に集積するタイト結合タンパク質である。ある種の癌の悪性化は LSR の発現や局在を変化させるが、その機序には不明な点が多い。本論文では、細胞表層の環状張力が LSR の細胞間接着領域での局在変化と密接に関連することを初めて明らかにした。

1. 背景

隣接細胞間の接装置であるタイト結合 (TJ), アドヘレンス結合 (AJ), 及びデスマソームは、物理的結合装置としての役割だけでなく、細胞の密度や運動能の変化を感知して細胞機能に影響を与える受容器としての機能を有することが明らかに成りつつある。2個の上皮細胞が接すると、そこには辺で接する領域が形成され、3個以上集まると、細胞同士が点で接触する領域が必ず出現する。上皮バリアの形成には、2細胞間 TJ の形成だけでなく、3細胞に囲まれた領域の完全な閉塞が必要である。2細胞間には、Occludin, Claudin, JAM 等が細胞間を架橋することで細胞間に TJ を形成する。一方、3細胞間を完全にシールするためには、前述とは異なる TJ タンパク質が必要である。これまでに、3細胞間に囲まれた領域に局在する膜タンパク質として、LSR と Tricellulin が同定された。3細胞間領域は、これらのタンパク質を介して未知の機序で架橋し、隙間を封鎖している。また、生存上、選択的物質透過のために一時的な3細胞間領域の弛緩が要求されるが、その調節機序も明らかではない。

膀胱癌、乳癌、卵巣癌等において、LSR の発現増加が癌の悪性度の亢進に関与することが報告された。我々は、ヒト正常子宮内膜に発現する LSR の局在が、月経周期に依存的に変化することを明らかにした¹⁾。さらに、子宮内膜癌においても LSR の発現量の増加および局在変化と癌の悪性化との間に相関があることを示した²⁾。一方で、LSR の細胞内発現量の増減を伴う LSR の細胞内局在部位の変化の機序や、それによる細胞機能への影響の有無はほとんど明らかではない。そこで我々は、LSR の細胞内局在の違いを生み出す機序を明らかにするために、子宮内膜腺癌細胞株 Sawano を用いて、その細胞内局在の変化を観察した。

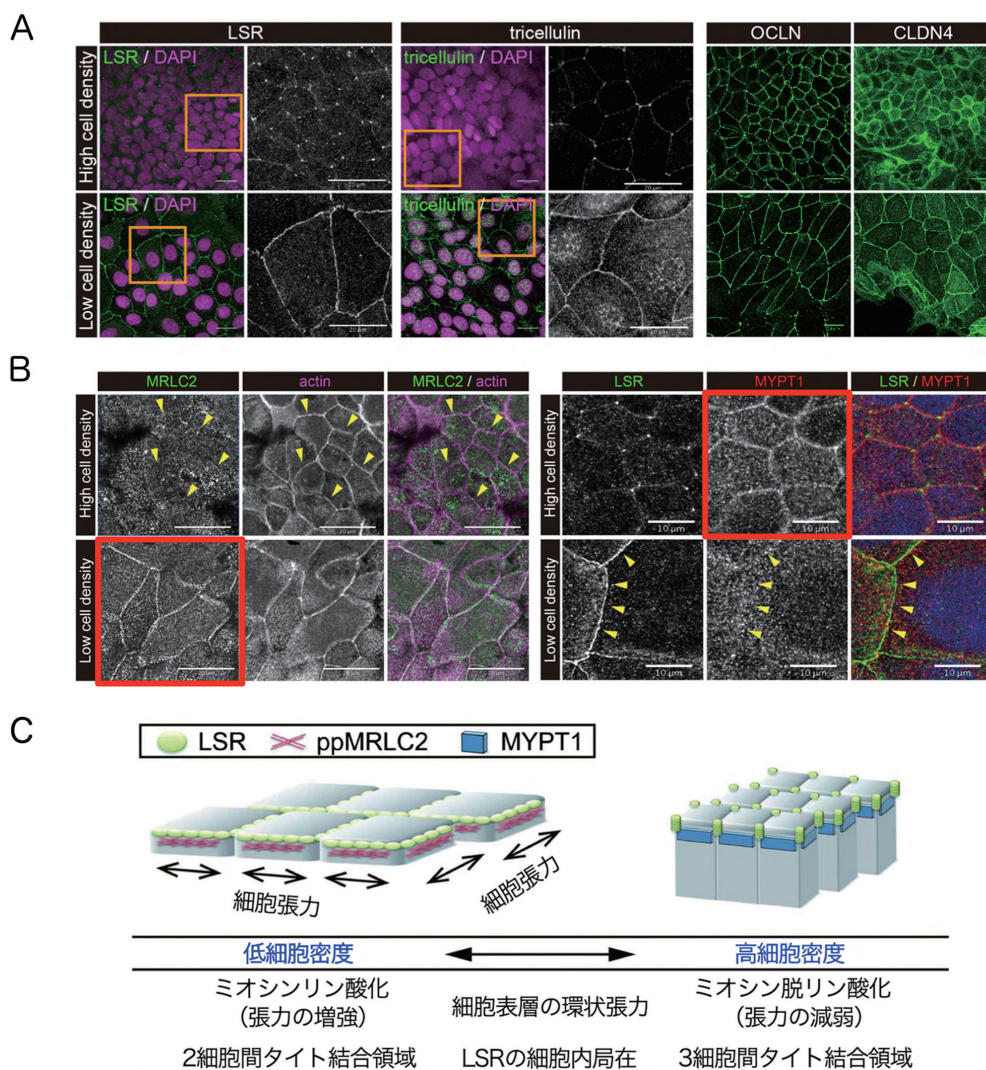
2. 結果

Sawano 細胞を含む多くの培養上皮細胞では、細胞密度の低下は細胞運動能を亢進させ、それに伴って上皮バリア機能は破綻しない程度に低下する。従って、細胞密度の変化は TJ タンパク質の機能変化を誘導すると考えられる。そこで、Sawano 細胞において、細胞密度を変化させたときの TJ タンパク質の細胞内局在を観察した。その結果、LSR と Tricellulin は、高細胞密度では3細胞間領域に局在し、低細胞密度では2細胞間領域に局在した (図 A)。この局在変化は可逆的だった。一方、Occludin と Claudin4 の局在は、細胞密度変化の影響を受けなかった。これらの局在変化は、十分な上皮バリア機能の存在下で観察された。

細胞密度の変化や細胞運動能の変化は細胞骨格の制御と密接に関連する。とくに、アクチンを介する細胞張力の変化は形態や運動能の制御に中心的に寄与する。そこで、細胞密度の変化が及ぼすアクチンへの影響の有無、及び LSR の細胞内局在を観察した。その結果、高細胞密度ではミオシン脱リン酸化酵素 MYPT1 がアピカル側2細胞間領域に局在し、ミオシンはそこから排除された (図 B)。低細胞密度では、MYPT1 が2細胞間領域から排除され、ミオシンがそこに局在した。このことは高細胞密度では細胞表層の細胞張力が減弱していることを示唆する。このような細胞張力の減弱は、LSR が3細胞間領域に局在するために必要だった。

3. 考察

LSR は静的な上皮細胞では3細胞間領域に集積する。本論文では、その細胞内局在が細胞密度の変化に伴って機能的に変化することを初めて明らかにした (図 C)。ところで、2細胞間結合の形成過程では、AJ の形成が先行する。AJ もまたアクチン細胞骨格と相



- A. Sawano 細胞における内在 3 細胞間 TJ タンパク質 LSR 及び Tricellulin と、2 細胞間 TJ タンパク質 Occludin 及び Claudin4 の局在を共焦点顕微鏡にて観察した。LSR 及び Tricellulin は細胞密度に依存的に 3 細胞間領域と 2 細胞間領域との間で変化した。一方、Occludin 及び Claudin4 は常に 2 細胞間に局在した。
- B. MRLC2 は低細胞密度では 2 細胞間に局在し、高細胞密度では 2 細胞間から排除された (左)。MYPT1 は高細胞密度では 2 細胞間に局在し、低細胞密度では 2 細胞間から排除された (右)。
- C. 低細胞密度では、細胞表面の環状張力が増強している。このとき LSR は 2 細胞間領域に局在した。高細胞密度では、細胞表面の環状張力が減弱している。このとき LSR は 3 細胞間領域に局在した。このように、LSR の細胞間領域での局在は細胞表面の環状張力の変化と相関した。

相互作用し、TJ の形成にも関連する。これら接着装置と細胞張力を制御する因子との相互作用を介して LSR の局在が制御されていることが示唆されるが、詳細は不明である。本論文で構築した細胞モデルを用いることで、上皮バリアの維持や破綻を制御する因子としての 3 細胞間 TJ タンパク質の役割を明らかにできると思われる。

4. 参考文献

- Shimada, H., S. Satohisa, T. Kohno, et al. The roles of tricellular tight junction protein lipolysis-stimulated lipoprotein receptor in malignancy of human endometrial cancer cells. 2016; *Oncotarget* 7: 27735-27752.
- Shimada, H., S. Abe, T. Kohno, et al. Loss of tricellular tight junction protein LSR promotes cell invasion and migration via upregulation of TEAD1/AREG in human endometrial cancer. *Sci Rep* 2017; 7: 37049. doi: 10.1038/srep37049.

幸野 貴之

略歴

- 2003 年 北海道大学大学院薬学研究所 修士
 2005 年 札幌医科大学 医学部附属がん研究所 生化学部門 助教
 2008 年 同 講師
 2013 年 札幌医科大学 医学部附属フロンティア医学研究所 細胞科学部門 講師