

細胞間接着装置タイト結合はホメオスタシスを維持し治療の標的となる



札幌医科大学 医学部 病理学第二講座

澤田 典均

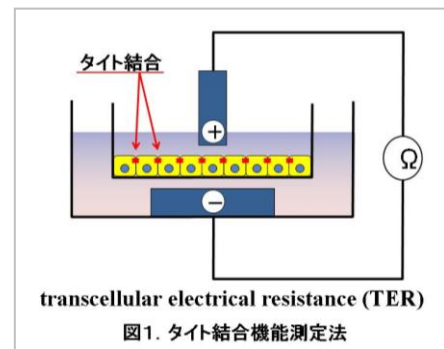
タイト結合は、細胞と細胞の“すきま”をシールし、そのすきまを通る分子の通過を調節して生体の恒常性（ホメオスタシス）を維持します。また血管の内側を覆っている内皮細胞のタイト結合は、脳や網膜などを守っています。タイト結合機能の破綻は、下痢、黄疸、糖尿病網膜症で認められています。私たちは、タイト結合機能の調節機構を解明し、治療に応用することを目的としています。例として糖尿病網膜症を中心に紹介します。

● はじめに

全国に「糖尿病が強く疑われる人」は900万人、加えて「糖尿病の可能性を否定できない人」は1,300万人と推定されています。糖尿病の合併症として重要なものの一つが糖尿病網膜症です。糖尿病網膜症は、我が国における後天性失明原因の第一位です。糖尿病網膜症は、網膜内毛細血管の進行性変化で、初期から起こる変化として、毛細血管の透過性亢進があります。この毛細血管の透過性は、タイト結合によって調節されています。網膜毛細血管のタイト結合の制御機構を明らかにすると糖尿病網膜症の予防、治療につながります。

● タイト結合機能は電気抵抗で測ることができます

図1のような、二重になった培養皿の上の皿全面を細胞が覆う状態では、細胞と細胞のすきまを通して電気が流れます。電気抵抗は、タイト結合が発達するにつれ上昇します。これは、タイト結合がイオンや分子の自由な通過を制限していることを意味しています。この電気抵抗は、transcellular electrical resistance (TER)と呼ばれ、タイト結合のバリア機能の簡便な測定法です。



● ブタ大脳皮質毛細血管は網膜毛細血管のモデルです

血液網膜関門 (blood-retinal barrier:BRB) は、血液脳関門(BBB)と同様に毛細血管がアストロサイトに覆われた構造で、その本体は血管内皮細胞タイト結合です。アストロサイトは、さまざまな因子を分泌し、BBB やBRB の血管透過性を調節しています。そこでブタ大脳皮質毛細血管内皮細胞とヒト脳アストロサイトを用いて研究を進めました。

ブタ脳血管内皮細胞にcAMP を作用させると、タイト結合バリア機能の指標であるTER が3-4倍上昇しました。また、グリア細胞（アストロサイトを含む）から分泌される神経細胞に対し生存維持作用を持つグリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)が、BBB を構成する脳血管内皮細胞のタイト結合のバリア機能を亢進させること、さらにBBB の成熟に伴って大脳皮質の毛細血管にGDNFレセプターが発現すること、網膜血管内皮細胞にもGDNFレセプターがあることを明らかにしました。したがってGDNFが網膜血管内皮細胞のタイト結合機能を亢進させる可能性が示されました。

● アストロサイトは血管内皮細胞より鋭敏に糖化蛋白 (AGE) に反応します

糖尿病では高い濃度のグルコースと蛋白が反応し、ヘモグロビン a1c のような糖化蛋白ができます。そこで種々の AGE を合成しアストロサイトとブタ脳血管内皮細胞に作用させました。ブタ脳血管内皮細胞のタイト結合機能に影響がありませんでした。アストロサイトでは、AGE に反応して血管透過性を増す作用がある血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の産生が亢進し、GDNF の産生が低下しました。一方レチノイン酸レセプターの種類 RAR・・に結合する薬剤 (Am580) を作用させると、GDNF の産生が上昇しました。

● アストロサイトと血管内皮細胞の共培養で BRB を再構成する

図 1 に示した二重の培養皿の上に血管内皮細胞を、下の皿にアストロサイトを培養して、TER を測定しました。Am580 を作用させたアストロサイトは GDNF を産生し、それにより血管内皮細胞の TER が有意に上昇しました。GDNF により血管内皮細胞のタイト結合機能が亢進し、透過性が低下した事を意味しています。そこで糖尿病モデルマウスの網膜毛細血管の透過性を観察したところ、Am580 を投与した糖尿病マウスでは、網膜の血管透過性が低下し正常に戻りました。

糖尿病では、初期から BRB の透過性が亢進しています。実験結果から、糖尿病で生じる糖化蛋白 (AGE) がアストロサイトに作用し、血管透過性を上げる作用を持つ VEGF が産生され、透過性を下げる作用をもつ GDNF の産生が減少するため、BRB の透過性が亢進したと考えられました。糖尿病網膜症の予防、治療には、アストロサイトが有望な治療標的であること、RAR・に結合する薬剤が予防薬として有望であることを示しています。

● タイト結合機能はさまざまな疾患で低下する

前述したように VEGF により血管透過性が亢進するので、炎症局所やがん組織の新生血管ではタイト結合機能が低下しています。表 1 に示すような疾患でタイト結合の機能低下が知られています。タイト結合蛋白の変異による疾患には、難聴や低マグネシウム血症などがあります。タイト結合には細胞極性を維持する働きもあり、多くのがん細胞では、タイト結合が未熟です。

● タイト結合は薬物治療の障壁となっている

BBB 血管内皮細胞ではタイト結合が非常に発達しているので、脳腫瘍の有効な薬物治療が制限されています。BBB に限らず、消化管、気道、皮膚の上皮細胞タイト結合は非常に発達しており、生体防御の重要な要素である一方、薬剤吸収の障壁となっています。もしこれらの上皮細胞のタイト結合機能を可逆的に低下させることができれば、より効率的に薬物を投与できると期待されています。

● これから

分子生物学的手法の驚異的な進歩から、ヒト組織を網羅的に解析できるようになりました。病気の組織ではサイトカインの嵐であり、核の中は転写因子の嵐でしょう。しかも転写因子の嵐は、個々の細胞で風向きが大きく異なります。病理学は経時的变化を含めた病気のあらゆる側面をあきらにすることが、病理診断学は病気のある局面から、自然史を含めその病態を的確に診断・理

表1. タイト結合バリア機能に関連したヒト疾患

1. 血管系: 浮腫, サイトカイン血症, 糖尿病性網膜症, 多発性硬化症, 血行性転移
2. 消化管系: 細菌性胃炎, 偽膜性腸炎, クローン病, 潰瘍性大腸炎, カルシウム吸収障害(ビタミンD欠乏性)
3. 肝: 黄疸, 原発性胆汁性肝硬変, 原発性硬化性胆管炎
4. 呼吸器系: 喘息, アレルギー性鼻炎, 呼吸窮迫症候群
5. ウイルス感染: レオウイルス, アデノウイルス, コクサッキーウイルス, ロタウイルス, HIVウイルス
6. 皮膚: アトピー性皮膚炎
7. 遺伝性疾患: 家族性低マグネシウム血症, 難聴, 嚢胞性線維症
8. その他: 卵巣過剰刺激症候群(OHSS)

解することが目標です。組織標本（病気の今）を形態と機能から考える手法は、病因、診断から治療、予後まで、病気を俯瞰的に理解するうえで、とても重要です。このような思考法の涵養には、病理学研究が必要です。

第 101 回日本病理学会 宿題報告（平成 24 年日本病理学賞）

「生体バリアを担うタイト結合の機能病理学」