

〔原著〕

唾液腺炎発症マウスにおける顎下腺のタイト結合構成タンパクの発現・局在

坂巻 秀敏, 賀来 亨

北海道医療大学生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

Expression and localization of tight junction proteins of submandibular glands in mouse sialoadenitis

Hidetoshi SAKAMAKI, Tohru KAKU

Division of Clinical Oral Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

[Background] Tight junctions (TJs) play an essential role in the functions of barrier membranes and fluid-secreting epithelial cells. Expression profiles of TJ proteins including the claudin family and occludin in healthy salivary glands differ among species. The expression pattern of TJ proteins in mice salivary glands as well as how the pattern of expression of TJ proteins alters in salivary epithelial cells during the progression of sialoadenitis are both unclear. [Purpose] The present study investigated expression profiles of the claudin family and occludin in healthy salivary glands and spontaneously induced sialoadenitis in MRL/lpr mice. [Materials and Methods] The submandibular glands of 4 to 16-week-old MRL/lpr mice were dissected. Immunohistochemical staining was performed using antibodies against claudin-1, -2, -3, -4 and -5, as well as against occludin. Real-time RT-PCR and RT-PCR assays were carried out to observe the expression level of these TJ proteins. [Results and Discussion] No inflammatory cell infiltration was observed in the submandibular glands of 4-week-old mice. An early form of sialadenitis was present in the glands of mice aged 8-weeks and the inflammatory cell infiltration increased with age up to 16-weeks. In 4-week-old mice, immunohistochemical staining for claudin-1 was observed at the intercellular membrane of acinar cells. Claudin-3 was present at the intercellular membrane and in a part of the cytoplasm of acinar cells and in the luminal surface of ductal cells. Occludin was present at the intercellular membrane and in a part of the cytoplasm of the intercalated and striated ducts. No immunohistochemical staining for claudin-2, -4 or -5 was observed in the glands. During the progress of sialoadenitis, the immunohistochemical staining for claudin-1 was maintained in acinar cells being destroyed by the inflammatory cell infiltration even after the age of 10 weeks. Expression of claudin -3 and occludin, however, disappeared in acinar and ductal cells as the inflammatory infiltration increased with age. Real-time RT-PCR assays showed no statistically significant difference in the claudin-1 mRNA of the 4-week-old mice in the control group and the experimental mice groups. The expression level of claudin-3 mRNA was significantly lower in 14-week-old mice than in the control. The expression level of occludin mRNAs was significantly lower in more than 8-week-old mice than in the control. These findings indicate that claudin and occludin may play a role in the maintenance of tight junctions in mouse salivary glands. The expression profiles in mouse salivary glands may be different from those in humans and rats. Sialoadenitis may alter the expression of these tight junction proteins in mice.

Key words : 唾液腺炎, タイト結合構成タンパク, Claudin, Occludin, MRL/lprマウス

受付: 平成22年 9 月30日

緒 言

唾液が口腔内に分泌される際には、腺房で原唾液が産生され、導管で電解質の分泌・再吸収が行われる。唾液腺を構成する細胞の接着には、タイト結合、接着結合、デスモゾーム結合ギャップ結合があるが、特にタイト結合は、細胞同士の緊密結合をつくり、腺、管の管腔側と組織との交通を防ぐ強固なバリアとしての働きをするのみならず、シグナル伝達の役割を担うことが明らかとなっている (Baker, 2010)。タイト結合は、形態的にジッパーのように隣り合った細胞の細胞膜を連続的につなぎあわせる構造からなっており、このジッパーに相当する部分には様々なタイト結合タンパクが存在している。タイト結合は、claudinやoccludin, junctional adhesion moleculeなどのタンパクから構成されており、タンパク質及び膜脂質の移動を制限することにより、頂端領域と基底領域の領域を区分し、細胞の極性を維持すると考えられている (Melvin et al., 2005)。Claudinは24種類の遺伝子ファミリーからなっており、1個の細胞には通常、複数種のclaudinの発現がみられ、細胞や臓器の特異性に関与していると考えられている (Morita et al., 1999; Rahner et al., 2001)。Occludinはタイト結合に最も普遍的に存在するタンパク質であると言われている (Furuse et al., 1993; Tsukita et al., 2001)。最近、ヒトとラットで正常唾液組織におけるClaudin-1～5までの局在様式について報告され (Kriegs et al., 2007; Luorenço et al., 2007; Maria et al., 2008)、動物種により局在部に違いのある事が示されたが、マウスでのその詳細は不明である。また、炎症の程度に伴いタイト結合の破壊がみられる唾液腺炎でのこれらの分子の発現、局在様式の変化は明らかになっていない。本研究では、唾液腺炎が加齢とともに自然発症するMRL/lprマウス (Hasegawa, 2008) を用い、正常状態でのClaudin-1～5およびOccludinの局在を観察し、炎症の進行過程でのこれらの発現変化について比較検討した。

材料および方法

1. 動物

動物には、唾液腺炎が加齢とともに自然発症するMRL/lpr雌マウス (三協ラボサービス) の4週齢で購入し、本学動物実験センターにて16週齢まで飼育した。MRL/lprマウスはリンパ球のアポトーシスに関連したFas遺伝子に変異がみられ、リンパ球のアポトーシスが抑制されることから、唾液腺をはじめとして全身諸臓器にリンパ球浸潤がみられるマウスである (Shlomchik et al.,

2003)。動物の処置および管理はすべて本学動物実験センター取り扱い規約に基づき、人道的に行われた。

2. 組織標本の作製・染色および免疫組織化学的染色

1) 組織標本作製

摘出物は直ちに中性緩衝20%ホルマリン溶液にて固定を行い、通法に従い、パラフィンに包埋し、5 μ mパラフィン切片を作製した。一部は、脱パラフィンの後、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施し、他は免疫組織染色用とした。

2) 組織学的検索

ヘマトキシリン・エオジン重染色を施し、組織学的検索を行った。すなわち、唾液腺では、生後8週齢以降リンパ球浸潤がみられることから、4週齢を正常、すなわちコントロールとして、8週齢以降、8, 10, 14, 16週時にそれぞれ12匹ずつ屠殺し顎下腺組織の摘出を行った。

3) 免疫組織化学的検索

免疫組織染色のために、一次抗体として抗claudin-1, -2, -3, -4抗体 (Invitrogen, Calsbad, CA), claudin-5抗体 (Novus Biologicals, Littleton, CO) および抗occludin抗体 (Invitrogen) を用いた。二次抗体以降、ペルオキシダーゼ標識Avidin-biotin-complex (Zymed, San Francisco, CA) を用いて反応を行い、ジアミノベンチジン4 HClによる発色の後、透過型光学顕微鏡 (Nikon ECLIPSE80i, ニコン, 東京) で観察、撮影した。

3. PCRおよび定量的RT-PCR

Claudin-1～5とoccludinのmRNAの発現変化を観察するために、顎下腺を摘出後直ちにホモジナイズし、RNA抽出薬剤 (TRIzol Reagent, GIBCO/BRL, London, UK) に浸漬をしてtotal RNAの抽出を行った。Oligo (dT)₁₂₋₁₈プライマー (Superscript reverse transcriptase, Invitrogen) によるReverse transcriptionの後、claudin-1～5, occludinに特異的なプライマー (表) を用いたRT-PCR法を行った (Applied Biosystems, Foster City, CA)。また、これらの発現量を定量的に評価するために、TaqMan probeを用いたReal-time RT-PCR法 (AmpliTag-Gold™ Kit, Applied Biosystems) を行った。結果は、One-way ANOVAにより統計的に評価した。

結 果

MRL / lprマウスの顎下腺を摘出し、組織標本作製し観察したところ、4週齢の顎下腺組織には明らかな炎

表 Claudin, Occludinのreal-time PCR primer (Applied Biosystems)

Gene Name	Assay ID	Ref Seq	GenBank mRNA	Amplicon Length
Claudin 1	Mm00516701-m1	NM_016674.3	11 GenBank mRNAs	149
Claudin 2	Mm00516703-s1	NM_016675.3	4 GenBank mRNAs	80
Claudin 3	Mm00515499-s1	NM_009902.3	7 GenBank mRNAs	60
Claudin 4	Mm00515514-s1	NM_009903.2	3 GenBank mRNAs	64
Claudin 5	Mm00727012-s1	NM_013805.3	6 GenBank mRNAs	82
Occludin	Mm00500912-m1	NM_008756.2	8 GenBank mRNAs	134

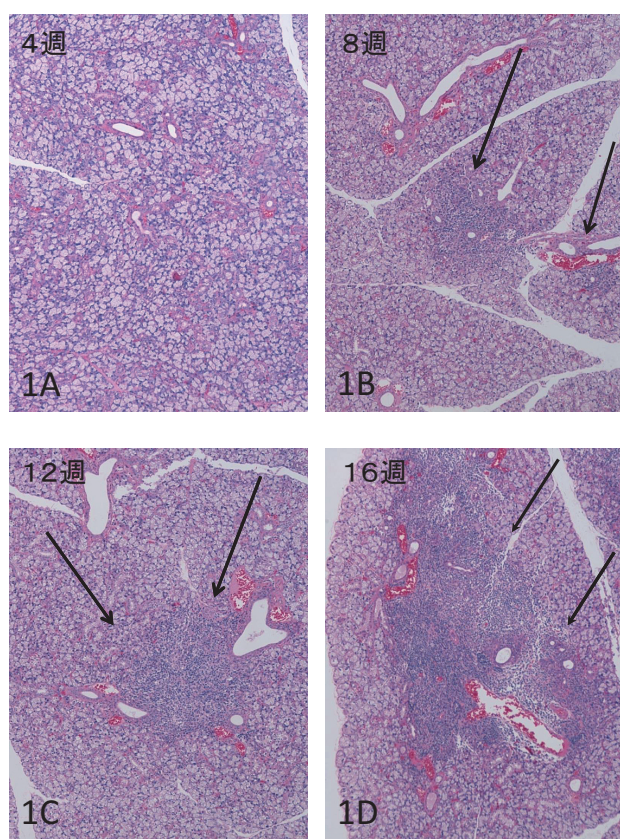


図1. MRL / lprマウスの顎下腺のヘマトキシリン・エオジン染色像

A: 4週齢, B: 8週齢, C: 12週齢, D: 16週齢

4週齢の顎下腺組織には明らかな炎症性変化はみられなかったものの, 8週齢以降, リンパ球の集簇による明らかな炎症巣を形成しながら, 経時的に炎症範囲が拡大していくのが観察された (矢印) (40倍).

炎症変化はみられなかったものの, 8週齢以降, リンパ球の集簇による明らかな炎症巣を形成しながら, 経時的に炎症範囲の拡大していくのが観察された (図1). これらの標本を用いてタイト結合構成タンパクである claudin と occludin の局在を, 抗 claudin-1, -2, -3, -4-5 抗体および抗 occludin 抗体を用いて免疫組織化学的に観察した. マウス正常顎下腺での局在を観察するために, 炎症性変化のみられない4週齢マウスから摘出された顎下腺組織を用いた. その結果, claudin-

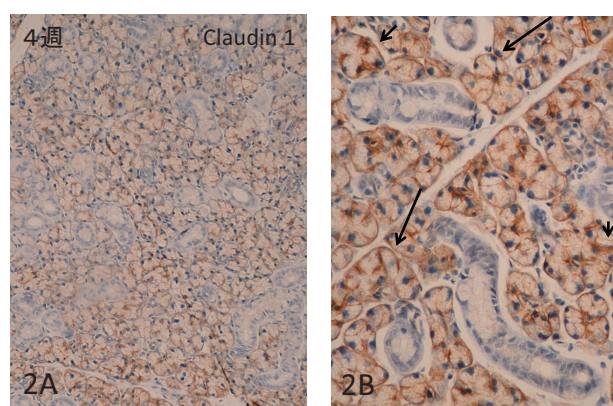


図2. 4週齢マウス(コントロール)のclaudin-1の免疫組織化学染色像 A: 40倍, B: 100倍

Claudin-1の局在は, 腺房細胞の細胞間 (長い矢印) および細胞質 (短い矢印) の一部に認められた.

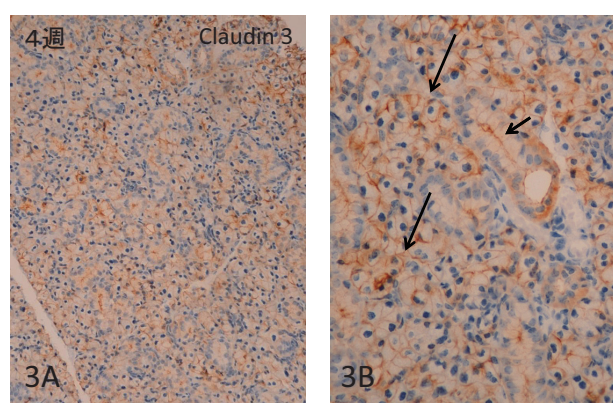


図3. 4週齢マウスのclaudin-3の免疫組織化学染色像

A: 40倍, B: 100倍

Claudin-3の局在は, 腺房細胞の細胞間 (長い矢印) および導管上皮の内腔側 (短い矢印) に認められた.

1, -3 と occludin の局在が確認された (図2, 3, 4). すなわち, claudin-1 は腺房細胞の細胞間および細胞質の一部に局在がみられ, 導管上皮には陽性反応が認めず (図2), claudin-3 は, 腺房細胞の細胞間および導管上皮の内腔側に陽性反応がみられた (図3). また, occludin は腺房から導管に移行する付近の上皮, すなわち線条部~介在部導管付近で細胞間および細胞質の

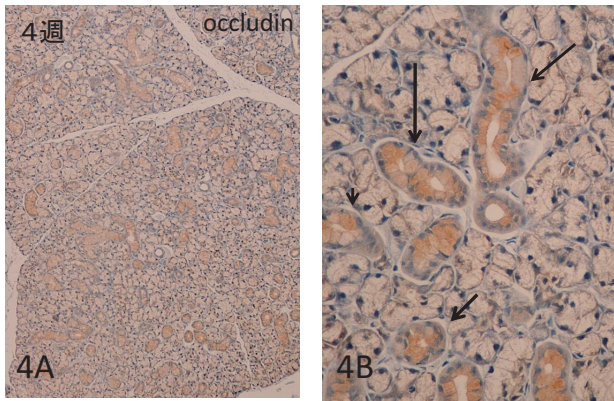


図4. 4週齢マウスのoccludinの免疫組織化学染色像

A: 40倍, B: 100倍

Occludinは腺房から導管に移行する付近の上皮, すなわち線条部(長い矢印)～介在部導管(短い矢印)付近で細胞間および細胞質の一部に局在が認められた。

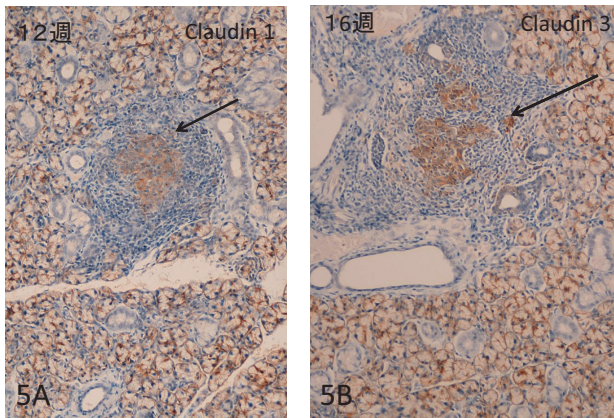


図5. 12週齢と16週齢のマウスのclaudin-1の免疫組織化学染色像

A: 12週齢, B: 16週齢

著明なリンパ球浸潤により炎症巣を形成し, 唾液腺組織が完全に破壊された部分が存在する12週齢, 16週齢でも陽性反応のみられるところがあった(矢印)(40倍)。

一部に陽性反応が認められた(図4)。Claudin-2, -4, -5の局在は今回の免疫染色では確認されなかった。

炎症性細胞浸潤がみられた8週齢以降のマウス顎下腺で, 同様にタイト結合構成タンパクの発現, 局在の観察を行った。Claudin-1は, 炎症性細胞浸潤により唾液腺組織が破壊されたところでも局在が比較的良好に保持されていた。すなわち, 著明なリンパ球浸潤により炎症巣を形成し, 唾液腺組織が完全に破壊された部分が存在する12週齢以降でも陽性反応のみられるところがあった(図5)。Claudin-3は, リンパ球の浸潤部分での局在は消失傾向にあり, 著明なリンパ球浸潤により炎症巣を形成したところでは, 完全に消失していた(図6)。Claudin-3と同様にoccludinでもリンパ球浸潤に伴い発現の消失が認められた(図7)。尚, 炎症性変化のみられない部分での唾液腺の染色性は, いずれの週齢においても変化は認められなかった。

発現の認められたclaudin-1, -3とoccludinの

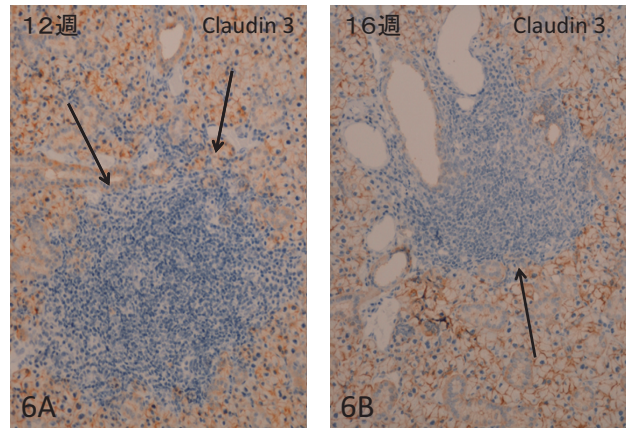


図6. 12週齢と16週齢のマウスのclaudin-3の免疫組織化学染色像

A: 12週齢, B: 16週齢

リンパ球の浸潤部分での局在は消失傾向にあり, 著明なリンパ球浸潤により炎症巣を形成したところでは, 完全に消失していた(矢印)(40倍)。

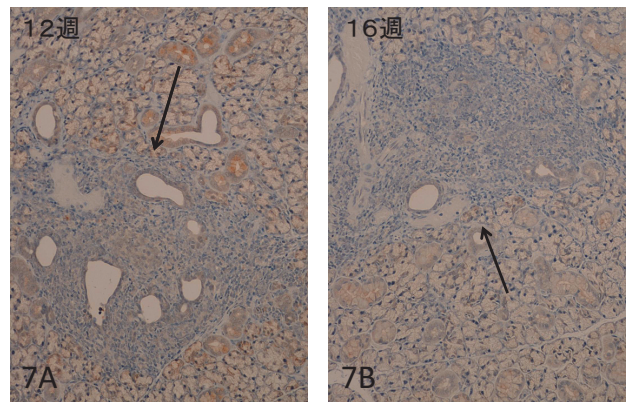


図7. 12週例と16週齢のマウスのoccludinの免疫組織化学染色像

A: 12週齢, B: 16週齢

リンパ球の浸潤部分での局在は消失傾向にあり, 著明なリンパ球浸潤により炎症巣を形成したところでは, 完全に消失していた(矢印)(40倍)。

mRNAの炎症性変化に伴う発現変化を, RT-PCRと定量的RT-PCR法により観察した(図8A, B)。それぞれのmRNAの発現レベルを炎症性変化の存在しない4週齢をコントロールとして他の週齢と比較検討した。Claudin-1はどの週齢のmRNAのレベルもコントロールと有意差がみられなかったのに対し, claudin-3では, コントロールに比べて, 14, 16週齢で有意な発現低下が観察された。また, occludinでは, 10, 12, 14, 16週齢でコントロールに比べて有意な発現低下が認められた。

考 察

本研究では, マウス顎下腺におけるタイト結合タンパクclaudin-1, -2, -3, -4-5とoccludinの発現様式を明らかにし, 唾液腺炎進行中におけるそれらの発現変化について観察した。本研究で用いたMRL/lprマウスは, Fas抗原遺伝子の欠損から, リンパ球のアポトーシスが起らず, 唾液腺や腎臓などの実質臓器でのリンパ球浸潤が経時的に増加するものであり, 自己免疫疾患

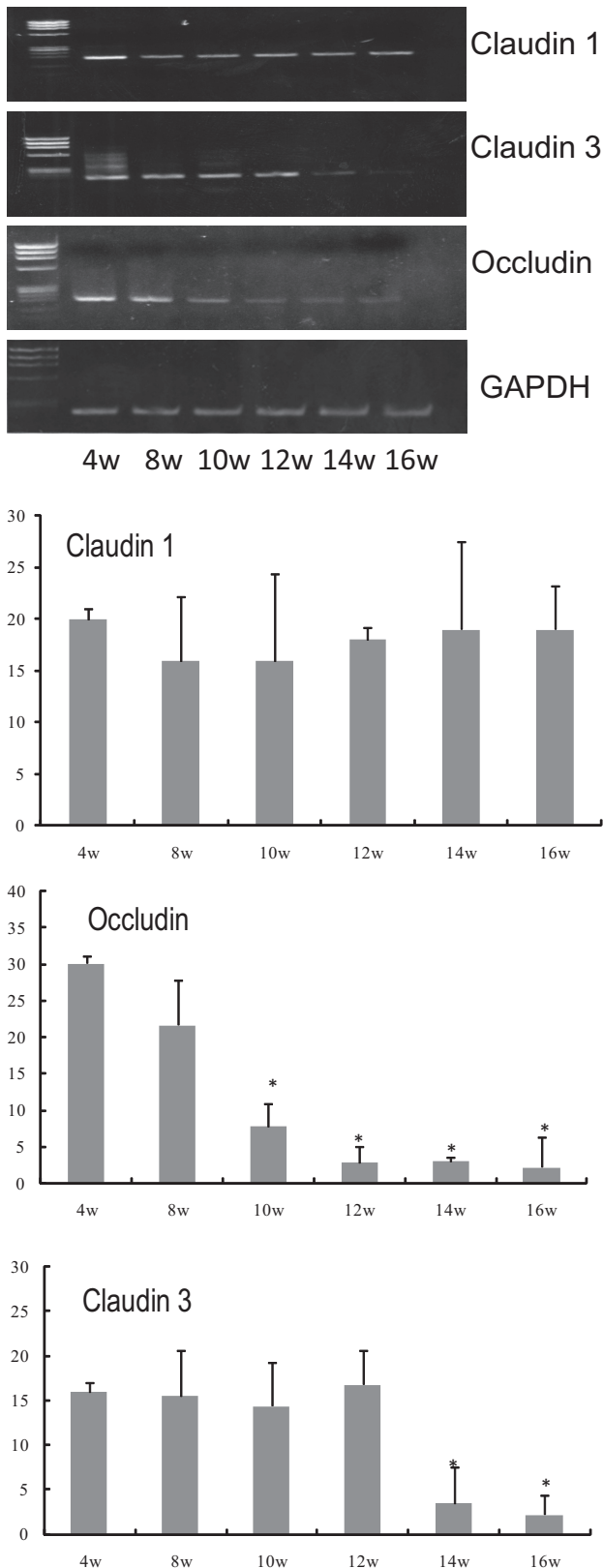


図8. claudin-1, -3とoccludinのmRNAのRT-PCRと定量的RT-PCR
A: mRNAのRT-PCR, B: 定量的RT-PCR (縦軸: Target mRNA/GAPDH ratio, 横軸: 週齢)

それぞれのmRNAの発現レベルを炎症性変化の存在しない4週齢をコントロールとして他の週齢と比較検討した。Claudin-1はどの週齢のmRNAのレベルもコントロールと有意差がみられなかったのに対し、claudin-3では、コントロールに比べて、14, 16週齢で有意な発現低下が観察された。また、occludinでは、10, 12, 14, 16週齢でコントロールに比べて有意な発現低下が認められた。

のモデルマウスとして広く用いられてきている (Chan et al., 1997; Nose et al., 2000; Hasegawa et al., 2008). Fas抗原遺伝子の欠損がない同種のマウスであるC3 H/HeJとC57BL/6 Jと比較した研究では、C3 H/HeJとC57BL/6 Jは20週例以降でも唾液腺炎にリンパ球浸潤がみられないことが報告されており、MRL/lprマウスは自己免疫性唾液腺炎のモデル動物となると結論づけられている (Nose et al., 2000). 本研究でも、4週例ではリンパ球浸潤はみられなかったものの、8週例以降で明らかなリンパ球浸潤がみられその後、経時的な増加が認められた。タイト結合タンパクの経時的な発現変化は、加齢による発現変化も完全には否定できないが、リンパ球浸潤のみられない部分での唾液腺の染色性は、いずれの週例においても変化は認められなかった。このことより、タイト結合タンパクの経時的な発現変化はリンパ球浸潤によるものと考えられた。

Claudin-1～5やoccludinの唾液腺での局在については、ヒトやラットでの観察が多く (Kriegs et al., 2007; Lourenço et al., 2007; Maria et al., 2008; Baker, 2010), マウスでの局在を観察したものは僅かである。それぞれにより発現や局在が異なっており、これらは種特異的であると考えられている。すなわち、ヒトの大唾液腺組織でclaudin-1, -2, -3, -4とoccludinが腺房と導管上皮に観察されるものの、claudin-5は認められなく (Kriegs et al., 2007; Maria et al., 2008), ラットでは、腺房ではclaudin-3のみであり、導管にはclaudin-1, -3, -4がみられるとの報告がある (Lourenço et al., 2007). マウスでは、僅かに腺房にclaudin-3, -4の局在を示した報告があるにすぎない。すなわち、claudin-3, -4いずれも腺房部への局在がみられるとしている (Hashizume et al., 2004). 本研究では、claudin-1, -3とoccludinのマウスでの局在様式を明らかにした。すなわち、claudin-1は腺房細胞のみに局在しており、claudin-3は腺房と導管の両方に、occludinは線条部～介在部導管付近に局在が認められたが、claudin-4の局在は確認されなかった。Claudin-3, -4の局在は先行研究の結果 (Hashizume et al., 2004) と一致していなかったが、これは用いた抗体の違いや免疫組織化学的染色の手法の違いによるものと思われた。免疫染色では、陽性は陽性として評価できるが、陰性は陰性として評価できないことから、本研究でのclaudin-3は腺房と導管に局在しているとの結果は先行研究の腺房のみとする結果より信頼性が高いものと考えられた。一方、本研究でのclaudin-4を陰性とする結果は、さらなる検討が必要であると思われる。

Claudin-1の詳細な生理学的役割は未だ明らかになっていない。Claudin-1をノックダウンした新生児マウスでは著明な脱水症状を引き起こし、生後1日以内に死ぬことから、マウスにおけるClaudin-1にはタイト結合の根本的な働きのあることが示唆されている(Furuse et al., 2002)。本研究で示したclaudin-1が顎下腺に局在しているとの結果はこの報告と矛盾しないものと思われた。腎上皮由来細胞であるMDCK細胞を用いた実験で、claudin-1を過剰発現させると、細胞間結合が強固になり物質の透過性が抑制されることから、claudin-1はタイト結合形成に重要な役割を担っていることが示唆されている(Inai et al., 2005)。このことを支持するように、ラットの耳下腺由来の細胞をTNF- α やIFN γ などの炎症性サイトカインで処理すると、claudin-1の発現の減少とともにタイト結合の破壊もみられるとの報告がある(Baker et al., 2008)。本研究では、炎症の進行に伴う腺房の破壊によってもclaudin-1の免疫染色性は他のものと比較してよく保持されており、mRNAの発現レベルも有意な低下がみられず、この報告と矛盾しているものであった。この点に関して、claudin-1の発現がみられるヒトの唾液腺で、唾液腺炎のみられるシェーグレン症候群と正常唾液腺では、シェーグレン症候群でのclaudin-1の発現が上昇しているとの報告がある(Ewert et al., 2010)。Claudin-1の発現上昇した理由について、この発現上昇に一致して他のタイト結合構成タンパクであるZO-1やoccludinの発現が減少したことから、タイト結合を維持させ細胞を生存のための生体の防衛反応としてそのような現象がみられたものと推測している。本研究での結果は、この考えを支持するものと思われた。

Claudin-3は、ヒトとラットの腺房と導管の両者への局在が確認されていたが、マウスでは腺房での局在が示されているのみであった。本研究では、マウスでも腺房と導管の両者へ局在していることが明らかとなった。今回初めて導管への局在も確認された理由として、過去の報告と用いた抗体の違いや免疫組織化学的手法の違いなどが考えられる。Claudin-3は種を超えて唾液腺の腺房、導管両方に広く存在しているものと思われる。Claudin-3をclaudin-1と同様にMDCK細胞に遺伝子導入した実験では、claudin-1では細胞間結合が密になり透過性が抑制されたのにも関わらず、claudin-3ではその過剰発現がそれらに影響を及ぼさなかったとしている(Amashes et al., 2002)。一方、胃がん由来細胞株であるMKN28のclaudin-3をノックダウンすると、有意に細胞透過性が上昇するとの報告がある(Hashimoto et

al., 2008)。これらのことから、claudin-3の機能は細胞の種類によって異なっていることが示唆されている。腺房、導管の両者に局在しているclaudin-3の唾液腺で機能については未だ不明であるが、最近の研究で、細胞間水トランスポーターの主なものであるアクアポクリン5が欠損しているマウスでは、claudin-3の発現が低下していると報告している(Kawedia et al., 2007)。このことから、claudin-3は唾液腺の傍細胞水分分泌に関与していることが示唆されている。本研究でのclaudin-3の導管での局在が内腔側にみられたとの結果は、この考えと矛盾しないものと思われた。また、炎症性変化に伴いclaudin-3の発現が低下したことについて、in vitroの実験で炎症性サイトカインによって上皮のバリアが破壊されるとの報告(Brewer et al., 2003)や、炎症性サイトカインの量が少ない時点ではclaudin-3の発現は変化しないとの報告がある(Patrick et al., 2006)。いずれin vitroの結果であることから、本研究での結果とは一概に照らし合わせることはできないが、本研究のように組織切片上で腺房の破壊がみられるような状態では、claudin-1に比べてclaudin-3は比較的早い時期から発現が減少するものと考えられた。

Occludinはタイト結合のバリア機能を担う膜貫通型構成タンパクの一つである。Occludinを欠損させた幹細胞はタイト結合を形成しながら、上皮細胞へ分化しうることや(Saitou et al., 1998)、occludinの発現を誘発した線維芽細胞でも細胞間の接着を形成しないことから(Furuse et al., 1998)、occludinはタイト結合の形成に必要なことが示唆されている。一方、MDCK細胞にoccludinを過剰発現させると細胞間結合が密になり、一部の低分子物質の透過性が抑制されることから、occludinは選択的な透過性閥門を形成することが示唆されている(Balda et al., 1996)。Occludinのマウス唾液腺での局在はこれまで確認されていないが、ヒトでは導管と腺房の両者への局在が報告されている(Maria et al., 2008)。本研究では、マウスの顎下腺でoccludinが線条部～介在部導管に局在していることを明らかにした。Occludinをノックダウンしたマウスでは、理由は不明であるが、線条部導管の細胞質内の顆粒が欠損しているとの報告がある(Saitou et al., 2000)。これらのことから、マウス唾液腺でのoccludinは線条部導管付近の低分子物質の一部の透過性閥門の形成に関与していることが推測される。このことを明らかにするためには更なる研究が必要であると思われた。また、炎症性変化に伴いoccludinの発現が低下したことについて、in vitroの実験で炎症性サイトカインによって上皮のバリアが破壊されるとの報告

(Bruewer et al., 2003) や、炎症性サイトカインの量が少ない時点ではclaudin-3と同様にoccludinの発現は変化しないとの報告がある (Patrick et al., 2006). Occludinもcaludin-3と同様にclaudin-1に比べては比較的早い時期から発現が減少するものと考えられた.

結 論

タイト結合構成タンパクの中には、唾液腺炎が発症した際に破壊されやすいものとされにくいものがあることが示唆され、タイト結合の維持にclaudinとoccludinが重要な役割を担っていることが示唆された.

参 考 文 献

- Amasheh S, Meiri N, Gitter AH, Schöneberg T, Mankertz J, Schulzke JD & Fromm M. Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of epithelial cells. *J Cell Biol* 115 : 4969–4976, 2002.
- Baker OJ, Camden JM, Redman RS, Jones JE, Seye CI, Erb L & Weisman GA. Proinflammatory cytokines tumor necrosis factor- α and interferon- γ alter tight junction structure and function in rat parotid gland Par-C10 cell line. *Am J Physiol Cell Physiol* 295 : C1191–C1201, 2008.
- Baker OJ. Tight junction in salivary epithelium. *J Biomed Biotech* 2010 : 1–13, 2010.
- Balda MS, Whitney JA, Flores C, Gonzalez S, Cereijido M & Matter K. Functional dissociation of paracellular permeability and transepithelial electrical resistance and disruption of the apical-basolateral intramembrane diffusion barrier by expression of a mutant tight junction membrane protein. *J Cell Biol* 134 : 1031–1049, 1996.
- Bruewer M, Luegering A, Kucharzik T, Parkos CA, Madara JL, Hopkins AM & Nusrat A. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. *J Immunol* 171 : 6164–6172, 2003.
- Chan O, Madaio MP & Shlomchik. The role of B cells in MRL/lpr murine lupus. *Ann NY Acad Sci* 815 : 75–87, 1997.
- Ewert P, Aguilera S, Allende C, Kwon Y-J, Albornoz A, Molina C, Urzúa U, Quest AF, Olea N, Pérez P, Castro I, Barrera MJ, Romo R, Hermoso M, Leyton C & Gonzalez MJ. Disruption of tight junction structure in salivary glands from Sjögren's syndrome patients is linked to proinflammatory cytokine exposure. *Arthr Rheumat* 62 : 1280–1289, 2010.
- Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, & Tsukita S. Occludin : a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* 123 : 1777–1788, 1993.
- Furuse M, Sasaki H, Fujimoto K & Tsukita S. A single gene product, claudin-1 or -2, reconstitutes tight junction strands and recruits occludin in fibroblasts. *J Cell Biol* 143 : 391–401, 1998.
- Furuse M, Hata K, Furuse K, Yoshida Y, Haratake A, Sugitani Y, Noda T, Kubo A, & Tsukita S. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier : a lesson from claudin-1-deficient mice. *J Cell Biol* 156 : 1099–1111, 2002.
- Hasegawa H. Chemokine blockade for lupus model mice. *Front Biosci* 13 : 2900–2908, 2008.
- Hashimoto K, Oshima T, Tomita T, Kim Y, Matsumoto T, Joh T & Miwa H. Oxidative stress induces gastric epithelial permeability through claudin-3. *Biochem Biophys Res Comm* 376 : 154–157, 2008.
- Hashizume A, Ueno T, Furuse M, Tsukita S, Nakanishi Y & Hieda Y. Expression patterns of claudin family of tight junction membrane proteins in developing mouse submandibular gland. *Develop Dynam* 231 : 425–431, 2004.
- Inai T, Sengoku A, Guan X, Hiriose E, Iida H & Shibata Y. Heterogeneity in expression and subcellular localization of tight junction proteins, claudin-10 and -15, examined by RT-PCR and immunofluorescence microscopy. *Arch Histol Cytol* 68 : 349–360, 2005.
- Kawedia JD, Nieman ML, Boivin GP, Melvin JE, Kikuchi K, Hand AR, Lorenz JN & Menon AG. Interaction between transcellular and paracellular water transport pathways through Aquaporin5 and the tight junction complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 3621–3626, 2007.
- Kriegs JO, Homann V, Kinne-Saffran E & Kinne PKH. Identification and subcellular localization of paracellin-1 (claudin-16) in human salivary glands. *Histochem Cell Biol* 128 : 45–53, 2007.
- Lourenço SV, C-Camillo CM, Buim MEC, Uyekita SH & Soares FA. Human salivary gland branching morphogenesis : morphological localization of claudins and its parallel relation with developmental stages revealed by expression of cytoskeleton and secretion markers. *Histochem Cell Biol* 128 : 361–369, 2007.
- Maria OM, Kim J-WM, Gerstenhaber JA, & Baum BJ. Distribution of tight junction proteins in adult human salivary glands. *J Histochem Cytochem* 56 : 1093–1098, 2008.
- Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T & Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Ann Rev Physiol* 67 : 445–469, 2005.
- Morita K, Furuse M, Fujimoto K & Tsukita S. Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 511–516, 1999.
- Nose M, Nishihara M, Kamogawa J, Terada M & Makatsuru S. Genetic basis of autoimmune disease in MRL/lpr mice : dissection of the complex pathological manifestations and their susceptibility loci. *Rev Immunogenet* 2 : 154–164, 2000.
- Rahner C, Mitic LL & Anderson JM. Heterogeneity in expression and subcellular localization of claudin 2, 3, 4 and 5 in the rat liver, pancreas, and gut. *Gastroenterology* 120 : 411–422, 2001.
- Patrick DM, Leon AK, Shellenberger JJ, Dudowicz KA & King JM. Proinflammatory cytokines tumor necrosis factor- α and interferon- γ modulate epithelial barrier function in Madin-Darby canine kidney cells through mitogen activated protein kinase signaling. *BMC Physiol* 6 : 1–18, 2006.
- Saitou M, Fujimoto K, Doi Y, Itoh M, Fujimoto T, Furuse M, Takano H, Noda T & Tsukita S. Occludin-deficient embryonic stem cells can differentiate into polarized epithelial cells bearing tight junction membrane protein. *J Cell Biol* 141 : 397–408, 1998.
- Saitou M, Furuse M, Sasaki H, Schulzke JD, Fromm M, Takano H, Noda T & Tsukita S. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell* 11 : 4131–4142, 2000.
- Shlomchik MJ, Euler CW, Christensen SC, & William J. Activation of rheumatoid factor (RF) B cells and somatic hypermutation outside of germinal centers in autoimmune-prone MRL/lpr mice. *Ann*

N Y Acad Sci 987 : 38–50, 2003

Tsukita S, Furuse M & Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2 : 285–293, 2001.



坂巻 秀敏

平成元年 3 月 東北歯科大学（現：奥羽大学歯学部歯学科）卒業

平成 6 年 7 月 坂巻歯科医院開業

平成12年 4 月 北海道医療大学歯学部口腔病理学講座研究生（現：生体機能・病態学系
臨床口腔病理学分野）

現在に至る