

Title	Expression of Occludin, Tight-Junction-Associated Protein, in Human Digestive Tract
Author(s)	木村, 豊
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40766">https://hdl.handle.net/11094/40766</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	木村 豊 <sup>ゆたか</sup>
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13753 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Expression of Occludin, Tight-Junction-Associated Protein, in Human Digestive Tract (ヒト消化管におけるタイトジャンクション関連タンパク質オクルディンの発現)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人  (副査) 教授 高井 義美 教授 青笹 克之

### 論文内容の要旨

【目的】細胞間接着装置にはタイトジャンクション、アドヘレンスジャンクション、デスモゾームが存在する。そのうちタイトジャンクションは上皮細胞でよく発達している細胞間接着装置で、そこでは隣り合う細胞が密着している。タイトジャンクションには細胞層をはさんだ管腔側と基底膜側との間の分子の透過を調整するバリアとしての機能と、細胞膜を管腔側と basolateral 側に仕切り細胞の極性を維持するフェンスとしての機能がある。タイトジャンクションを構成する分子として ZO-1 などの裏打ちタンパク質の他に、膜貫通型タンパク質としてオクルディンが同定された。一方、癌では分化度の低下とともに細胞層の極性が失われ、タイトジャンクションは変化するといわれている。本研究では抗ヒトオクルディン抗体を用いた免疫組織学的手法により、ヒト消化管とその癌組織におけるオクルディンの発現を、ZO-1とともに調べ、癌化におけるオクルディンの変化と役割について検討した。

#### 【対象と方法】

- 1) 当科にて外科的切除を行った胃癌19例、大腸癌12例、食道癌3例を対象とした。
- 2) 免疫組織染色は、新鮮凍結標本より 4  $\mu$ m の連続切片を作製し、95%エタノール、アセトン固定、内因性ペルオキシダーゼブロックの後、抗ヒトオクルディン抗体、抗ZO-1抗体(京都大学月田先生より供与)を一次抗体としてABC法に準じDABで発色反応を行い、顕微鏡にてそれらの発現性を評価した。また、両者の局在を比較するため、蛍光二重染色を行った。免疫染色の評価は正常上皮と同様に細胞間に染色される細胞の割合によって、次のように分類した。90%以上:+++, 90~50%:++, 50~10%:+, 10%未満:-。
- 3) 抗ヒトオクルディン抗体の特異性を確かめるために抗原 peptide による吸収試験を行った。また、オクルディン、ZO-1の抗原性と免疫組織染色の判定が一致していることを調べるために代表例に対して Western blotting を行った。
- 4) TNM 分類に従い、組織学的因子とオクルディン、ZO-1の発現性の関係を検討した。また、統計学的検定は Spearman rank correlation test で検討した。

#### 【結果】

- 1) 単層円柱上皮を持つ胃、小腸、大腸の正常上皮では管腔側の細胞間にオクルディンの発現がみられ、発現性は

(+++ )であった。また、過剰なオクルディンの抗原 peptide で抗ヒトオクルディン抗体を吸収させると、オクルディンの発現は消失した。一方、重層扁平上皮を持つ食道の正常上皮ではオクルディンは同定できなかった。

2) 胃、小腸、大腸の正常上皮では、ZO-1はオクルディンと同様に管腔側の細胞間に発現がみられ、発現性は(+++)であった。また、オクルディンとZO-1の局在は、完全に一致していた。食道の正常上皮では、ZO-1は有棘層でのみ発現がみられ、発現性は(++)であった。

3) 胃癌、大腸癌では、腺腔を形成する管腔側の細胞間にオクルディン、ZO-1の発現がみられた。胃癌では両者の発現性は一致しており、(++) 7例、(+) 10例、(-) 2例であった。大腸癌では、1例(オクルディン(-)、ZO-1(++))を除いて両者の発現性は一致しており、(++) 8例、(+) 3例であった。食道癌では、オクルディンの発現はみられず、ZO-1の発現性は(+) 2例、(-) 1例であった。

4) オクルディン、ZO-1の発現性と Western blotting の結果は一致していた。

5) オクルディン、ZO-1の発現性と臨床病理学的因子との関係では、胃癌、大腸癌において、組織学的分化度の低下と両者の発現の低下に有意な相関がみられた。

#### 【総括】

ヒト消化管組織においてオクルディンは、ZO-1とともに、腺腔を形成する管腔側の細胞間に発現していた。また、胃、大腸の癌組織では両者の発現低下があり、その程度と分化度の間には関連性が認められた。以上のことから、オクルディンは、ZO-1とともに、腺腔の形成に関わり、ヒト消化管の腺癌組織の分化に関与している可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、タイトジャンクションの膜貫通型タンパク質であるオクルディンの発現を、ヒト消化管およびその癌組織において、その裏打ちタンパク質であるZO-1とともに、免疫組織学的手法を用いて解析したものである。単層円柱上皮を持つ胃、小腸、大腸の正常上皮では、オクルディンは管腔側の細胞間に発現がみられ、その局在はZO-1と一致していた。重層扁平上皮を持つ食道の正常上皮では、オクルディンの発現はみられず、ZO-1のみ発現がみられた。胃癌、大腸癌では、腺腔を形成する管腔側の細胞間にオクルディン、ZO-1の発現がみられたが、発現は正常上皮と比べて低下していて、組織学的分化度の低下と両者の発現の低下に有意な相関がみられた。オクルディンとZO-1の発現性の比較では、多くの症例で一致していた。以上より、オクルディンは、ZO-1とともに、腺腔の形成に関わり、ヒト腺癌組織の分化に関与している可能性が示唆された。この研究によって、オクルディンの発現性がヒト消化管の腺癌組織の分化度を表わす指標となる可能性が示され、学位に値する業績と考える。