

Title	Expression of Neuropsin in the Keratinizing Epithelial Tissue-Immunohistochemical Analysis of Wild-Type and Nude Mice
Author(s)	井上, 直子
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42666
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	井 上 直 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 1 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学 位 論 文 名	Expression of Neuropilin in the Keratinizing Epithelial Tissue—Immunohistochemical Analysis of Wild-Type and Nude Mice (角質化上皮組織におけるニューロピリンの発現—野生型とヌードマウスを用いた免疫組織化学的検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 弥 (副査) 教 授 米 田 悦 啓 教 授 三 木 直 正

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

ニューロピリンはChenらによりマウス脳からクローニングされた新規セリンプロテアーゼである(Chenら、J Neurosci, 1995)。その後、全身のin situ ハイブリダイゼーション法を用いた解析により、ニューロピリンmRNAは脳のみではなく皮膚及び粘膜においても高発現していることが明らかとなり、皮膚及び粘膜におけるニューロピリンの重要性が示唆されていた(Chenら、J Histochem Cytochem, 1998)。そこで私は皮膚及び粘膜におけるニューロピリンの役割を知るために、ニューロピリン蛋白質の発現について抗ニューロピリンモノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。

【方法ならびに成績】

ddY マウス(胎生14日—成熟マウス)或いはBALB/c系ヌードマウスの皮膚及び粘膜の7 μ m厚の凍結切片を作成し、アセトン及び0.2%パラホルムアルデヒド液で固定した。0.7 μ g/mlの抗ニューロピリンモノクローナル抗体を24時間反応させ、間接蛍光抗体法にて検出した。

皮膚においてニューロピリン免疫反応性は有棘細胞層と顆粒細胞層に観察された。免疫陽性反応を詳細に観察すると有棘細胞層では主に細胞質が陽性であった。顆粒細胞層では細胞質は弱く染まるのに対し細胞膜領域がラメラ状に強く染色された。表皮に加えて毛器官においてもニューロピリン免疫反応性が観察された。陽性反応は毛器官の中でもエオジン好性として観察される角質化が進行している領域の毛皮質及びハックスレー層に見られた。このような表皮と毛器官におけるニューロピリン免疫陽性部位は、ニューロピリンが角質化に関与していることを示唆している。

次に胎生期の角質細胞層形成期における表皮ニューロピリン免疫反応性の変化について検討した。背部表皮個体発生時においてニューロピリン免疫反応が最も早く観察されるのは胎生15.5日目であった。この時期の表皮では基底細胞層、有棘細胞層及び顆粒細胞層の3層構造ができているが角質細胞層はまだ未発達である。その後反応性は増加し、角質細胞層が形成される胎生17.5日目に免疫反応性は最大となった。この結果はやはりニューロピリンが角質細胞層形成過程に関与していることを示唆している。

そこで角質化異常が報告されているヌードマウスにおけるニューロピリン免疫反応性を観察した。ヌードマウスは免疫不全であると同時に表皮における角質化異常と毛器官における角質化不全が報告されている(Kopf—Maier *et al*, 1990)。ヌードマウスの表皮におけるニューロピリン免疫反応性は有棘細胞層と顆粒細胞層に観察された。有棘細

胞層における陽性反応は野生型の場合と同じく主に細胞質に局在した。しかしながら顆粒細胞層における反応性は野生型では細胞膜或いは細胞間隙のラメラ状の染色パターンが強く観察されるのに対し、ヌードマウスではそれに代わって細胞質が強く染まった。このことはヌードマウスの表皮角質化異常と顆粒細胞層におけるニューロブシンの細胞内蓄積の関連性を示唆している。ヌードマウスの毛は角質化不全のため発育が悪く、脆弱であることが報告されている (Kopf-Maier *et al*, 1990)。ヌードマウス毛器官におけるニューロブシン免疫反応性はほとんど観察されなかった。陽性反応の低下は角質化不全によるもの、或いは角質化不全を引き起こしているものと考えられた。それ故この結果はニューロブシンが角質化過程に関与することをさらに強く支持するものである。

ニューロブシン免疫反応性は皮膚のみではなく重層扁平上皮性の粘膜においても観察された。マウスの場合口腔から forestomach までの上部消化器官粘膜は重層扁平上皮性であり、それらの有棘細胞層と顆粒細胞層にニューロブシン免疫反応性が観察された。各サブレイヤーにおける陽性反応の局在は表皮の場合と同じであった。単層上皮性粘膜ではニューロブシン免疫反応性は認められなかった。この結果はニューロブシンが重層扁平上皮特異的に生理機能を有していることを示唆している。

【総括】

以上を総括すると、ニューロブシンは重層扁平上皮である表皮と粘膜、及び毛器官において観察された。個体発生、形態形成及び角質化疾患モデルマウスを用いた検討により、ニューロブシンは重層扁平上皮の表皮と粘膜、及び毛器官における角質化過程に関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ニューロブシンは、マウスにおいて脳、及び皮膚と粘膜に高発現するセリンプロテアーゼである。皮膚と粘膜に発現するセリンプロテアーゼはいくつか知られているが、ニューロブシンも含め、その生理機能が詳しく解明されているものはほとんどなかった。この研究は、皮膚と粘膜におけるニューロブシン蛋白質の局在を免疫組織化学的に検討し、ニューロブシンが重層扁平上皮性の皮膚及び粘膜特異的に発現し、角質化過程に関与することを強く示唆した。つまり、本研究は、角質化疾患の発症機序解明へ向けた重要な研究の一つとして、十分に学位に値すると思われる。

また皮膚角質化疾患が報告されているモデルマウス (ヌードマウス) において免疫組織化学的検討によりニューロブシンの細胞外分泌不全を示した。ヌードマウスの角質化異常を分子レベルで説明した報告はかつてなされていない。そのような中、ニューロブシンという分子レベルで示した点でも非常に斬新である。この点でも学位の授与に値すると思われる。