

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	吉 田 和 恵
主 論 文 題 名				
Functional tight junction barrier localizes in the second layer of the stratum granulosum of human epidermis (ヒト皮膚表皮における機能的なタイトジャンクションバリアは表皮顆粒層第2層に存在する)				
(内容の要旨)				
<p>哺乳類の皮膚バリア構造は、角質細胞、細胞間脂質よりなる角質層の他、表皮顆粒層 (Stratum granulosum; SG) に存在するタイトジャンクション (Tight junction; TJ) が担っている。マウス耳皮膚では表皮顆粒層の外側から2層目の細胞層に機能的なTJが存在することが示されている。しかし、ヒト表皮はマウス表皮と比較して遥かに多層で複雑な構造をしているため、ヒト表皮におけるTJの正確な局在についてはいまだ明らかになっていない。本研究ではヒト表皮におけるTJの局在の詳細と機能について検討した。</p> <p>ヒト皮膚凍結切片を用いて、TJ, アドヘレンスジャンクションやデスモゾームなどの構成タンパク質の免疫組織染色を行った。デスモプラキン, クローディン1, オクルディンの染色態度から、ヒト顆粒層でもマウス顆粒層と同様に、顆粒層外側から1層目(SG1), 2層目 (SG2), 3層目 (SG3) の細胞を識別できることを示した。TJの構成タンパク質であるオクルディン陽性ジャンクション (occludin-positive junction; OJ) は SG2, SG3の細胞間に存在した。ヒト顆粒層では、SG2のOJを境に頂端側と基底側で膜タンパク質の局在が異なり、SG2の細胞のみが細胞膜極性を示した。SG2, SG3のOJのバリア機能を調べるために、ヒト皮膚検体に細胞膜非透過性のタンパク質ビオチン化試薬 (分子量; 556Da) を皮内注射すると、ビオチン化試薬はSG3層のOJは通過したが、SG2層のOJにて拡散がとどめられた。デスモグレイン1 に対するモノクローナル抗体より作成したsingle-chain variable fragment(scFv) (分子量~32kDa) およびデスモグレイン1を切断する表皮剥脱毒素 (Exfoliative toxin; ET) (分子量~31kDa) を皮内注射した場合もscFvおよびETはSG3層のOJを通過し、SG2層のOJで拡散がとどめられた。すなわちヒトではOJがSG2, SG3の細胞間に存在するが、SG2層のOJを境にSG2のみが細胞膜極性を示し、SG3層のOJは小分子、大分子いずれに対するバリア機能も有さず、SG2層のOJのみがバリア機能を持つ機能的なTJと考えられた。さらに、ヒト皮膚に<i>ex vivo</i> でETを皮内注射して作製した表皮シートを共焦点顕微鏡で立体的に観察すると、表皮シートは角層、SG1, SG2までの細胞層からなり、SG2層においてTJの網目構造が観察された。</p> <p>以上より、マウスより遥かに多層で複雑な構造を持つヒト皮膚においても、機能的なTJバリアはSG2ただ1層のみに存在することが明らかとなった。TJは免疫グロブリンや細菌毒素の拡散を妨げるバリアとなっている可能性も示唆され、本研究は、今後各種皮膚疾患における表皮バリアの役割を解明する上で有用である。</p>				