

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
鳥井 康弘 印	総括的指導
山本 敏男 印	研究指導
印	

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 総合歯科学分野	身分 大学院生	氏名 塩津 範子
論 文 題 名 口蓋粘膜上皮におけるタイトジャンクションの細胞生物学的研究		
論文内容の要旨（2000字程度）		
<p>【緒言】</p> <p>タイトジャンクション (TJ)は一般に単層上皮細胞, 血管内皮細胞に存在し, 隣接する上皮細胞を密着させる細胞間接着装置の一つであり, 機能としてはバリア機能とフェンス機能の二つが知られている。TJを構成している主な膜タンパクにはオクルディン (OCD), クローディン (CLD)がある。また, 重層扁平上皮である皮膚においても TJの存在が報告され, 水分蒸散に対するバリア機能が明らかになっている。</p> <p>近年, 重層扁平上皮である口腔粘膜上皮においても TJの存在が報告されるようになり, 歯肉や頬粘膜において微細構造学的に TJの分布や分子生物学的, 免疫組織化学的に CLD組成などの構成タンパクの存在が報告されている。しかしながら, TJのバリア機能について観察したものはなく, 特に咀嚼粘膜に分類される口蓋粘膜上皮における TJの存在や構成タンパクについての報告はない。そこで本研究では, 口蓋粘膜を用いて TJの分布およびその構成タンパクである OCD, CLDの発現ならびに局在とバリア機能について調べた。</p> <p>【方法】</p> <p>8週齢マウスの口蓋粘膜上皮を用い, 微細構造学的, 免疫組織化学的および分子生物学的に検索した。微細構造学的観察では, 通法による観察, ランタン浸漬法による観察, フリーズフラクチャー法による観察を行った。免疫組織化学的観察及びウエスタンブロット解析は OCD, CLD-1, -2, -3, -4, -5について行った。また, ビオチンを用いたトレーサー浸透実験を行った。免疫組織化学的観察には未固定未脱灰凍結切片を使用した。</p>		

論文内容の要旨（2000字程度）

【結果】

微細構造学的観察では、通法で細胞膜の癒合、ランタン浸漬法で硝酸ランタンの浸透が中断された部位である TJ が顆粒層上層の細胞間において、頻度は低い認められた。フリーズフラクチャー法では、顆粒層で TJ ストランドが認められ、数条のネットワークを構成していたが、直線的かつ断続的に走行し、長さには長短があった。

免疫組織化学的観察では、OCD、CLD-1、-4 は顆粒層上層の細胞間に、点状または線状の陽性反応が認められた。さらに CLD-1 は顆粒層の中間層から有棘層全層で、CLD-4 は顆粒層の中間層から有棘層上層で、細胞の輪郭に沿って網目状の陽性反応が認められた。OCD と CLD-1 または CLD-4 について蛍光二重染色を施して観察すると、いずれも顆粒層上層の細胞間に認められた点状の反応部位は一致していた。CLD-2、-3、-5 は粘膜上皮では陽性反応が認められなかった。粘膜固有層において CLD-2 は唾液腺、CLD-5 は血管で陽性反応が認められた。

ウエスタンブロット解析では、OCD、CLD-1、-2、-4、-5 は陽性、CLD-3 は陰性であった。

トレーサー浸透実験では、ビオチンは OCD 陽性反応部位を越えて浸透している部位と OCD 陽性反応部位で停止している部位の両方が観察された。

【考察】

微細構造学的観察により、口蓋粘膜上皮においても顆粒層上層の細胞間に TJ が存在することが示された。

免疫組織化学的観察では、口蓋粘膜上皮の TJ の構成分子として OCD、CLD-1、-4 が存在することが明らかとなった。今回得られた免疫組織化学的な OCD と CLD 種の局在性ならびに発現パターンは角化重層扁平上皮である表皮における TJ の構成分子の種類とその分布に一致していた。ウエスタンブロット解析では陽性であり、免疫組織化学的観察では陰性であった CLD-2、-5 については組織採集の際に含まれていた唾液腺や血管によるものと考えられた。

バリア機能については、トレーサー浸透実験およびフリーズフラクチャー法での所見より、形態学的所見では口蓋粘膜上皮における TJ のバリア機能は強固ではないと考えられた。口蓋は皮膚と比べて水やタンパク高分子を透過させやすいという生理学的な報告もあり、本研究の結果はこれらを裏付けるものと考えられる。

TJ が形成されていない細胞層において CLD が発現している意義については判然としないが、細胞分化に伴って顆粒層上層で形成される TJ のために予め顆粒層の下層で発現するのではないかと推察された。

【結論】

口蓋粘膜上皮では、顆粒層上層に TJ が存在し、その構成タンパクとして OCD、CLD-1、-4 が存在することが明らかとなった。口蓋粘膜上皮における TJ のバリア機能は形態およびトレーサーの浸透性より強固なものではないと考えられた。