

Title	Expression of p75 <sup>N</sup> NGFR, a Proliferative and Basal Cell Marker, in the Buccal Mucosa Epithelium during Re-epithelialization
Author(s)	石井, 啓裕
Journal	歯科学報, 115(2): 174-175
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3579">http://hdl.handle.net/10130/3579</a>
Right	

氏名(本籍)	いし い あき ひろ 石 井 啓 裕 (栃木県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1859号(甲第1125号)
学位授与の日付	平成22年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Expression of p75 <sup>NGFR</sup> , a Proliferative and Basal Cell Marker, in the Buccal Mucosa Epithelium during Re-epithelialization doi : 10.1267/ahc.14011
掲載雑誌名	Acta Histochemica et Cytochemica 第47巻 4号 145-153頁 2014年
論文審査委員	(主査) 柴原 孝彦教授 (副査) 山根 源之教授 井上 孝教授 下野 正基教授

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

口腔粘膜の上皮再生過程において、創傷治癒は創傷辺縁部の角化細胞の移動によって創の閉鎖を得る。しかし、この過程において角化細胞の移動と増殖また関与されると言われる上皮幹細胞の存在など不明な点が多い。そこで我々は、マウス口腔粘膜の創傷治癒過程において基底角化細胞と上皮未分化細胞がどのような役割を果たすのかを検討した。

#### 2. 研究方法

実験試料として生後6週齢のICRマウスを用い、頬粘膜にレーザー照射で創傷を与えた。また、照射後すぐにBrdUの投与を行った。創傷側の上顎肉肉頬移行部(Area 1)、創傷部境界から伸展上皮(Area 2)と対称群(Control)として正常マウス頬粘膜を治癒経過1, 3, 7, 14日で採取し観察した。組織は、上皮分化マーカー(CK13/14)、増殖細胞マーカー(PCNA, BrdU)、上皮幹細胞マーカー(p63, p75<sup>NGFR</sup>)を用いて免疫組織化学的染色にて各発現を観察し、各マーカー陽性率の統計学的解析を行った。全ての実験は、東京歯科大学動物実験指針に基づき倫理的に行った。

#### 3. 研究成績および考察

レーザー照射による創傷は、Area 2で創傷境界部より上皮欠損部へ向かって伸展が認められ、創傷後14日には両側から伸展した上皮により創の閉鎖を認めた。創傷後3日からArea 2で基底層から2~3層においてCK14の発現が認められ、同部位で創傷後1日からp63(+)とp75<sup>NGFR</sup>(+)細胞を認めた。陽性率は、創傷後1~7日で有意差を認めるが創傷後14日では認めなかった。これらの結果から再生上皮内でCK14が重層発現する部位は、創傷部位へ細胞を供給する重要な役割を担っている可能性が示唆された。次にPCNA陽性率は、創傷後1~14日において常に創傷側とで有意差を認めた。また細胞分裂時に取り込まれたBrdUは、創傷後3日のArea 2で有意差を認め、創傷後7日には消失した。これらから、創傷側で常に増殖傾向の強いことが分かった。創傷後3日の伸展上皮先端部にBrdU(+)細胞を認めた。これは創傷辺縁部から移動したものと思われる。

さらにp75<sup>NGFR</sup>とPCNAの多重染色を行いそれぞれ陽性率を解析したところ、PCNA(+)/p75<sup>NGFR</sup>(+)細胞

は常に創傷側と健常側で有意差を認めたが、創傷後7日のArea 1とArea 2との間でも有意差を認めた。またPCNA(-)/p75<sup>NGFR</sup>(+)細胞は創傷後3日まで有意差を認めないが、創傷後14日にArea 2とControlで有意差を認めた。PCNA(-)/p75<sup>NGFR</sup>(+)細胞とBrdU(+)/p75<sup>NGFR</sup>(+)細胞が上皮内でまばらに存在することから、上皮再生過程では3つの要因が考えられた。すなわち「高増殖細胞には増殖許容量がある」、「局所の細胞は増殖許容量を超えた場合、全体の各細胞が補助する反応を示す」、そして「前駆細胞様の増殖源となる細胞が、口腔粘膜基底細胞層にまばらに存在する」ことである。

#### 4. 結 論

口腔粘膜内のp75<sup>NGFR</sup>(+)基底細胞は、上皮再生に関与する増殖能と移動能を有していることが示唆された。また、p75<sup>NGFR</sup>と増殖細胞マーカーとの組み合わせによる発現の違いを観察することにより、口腔粘膜の上皮幹細胞・前駆細胞の局在化ができるのではないかと考えられた。

### 論 文 審 査 の 要 旨

口腔粘膜基底層に存在している3つの細胞集団が、上皮再生過程においてそれぞれ役割や特徴は異なるが存在し、その集団の一つであり上皮再生に関与すると考えられる上皮幹細胞の存在など不明な点が多い。

本研究では、上皮幹細胞マーカーと言われているp75<sup>NGFR</sup>陽性細胞が、上皮再生過程において増殖と移動に関与すると考え、炭酸ガスレーザー照射後の創傷治癒過程において上皮細胞を増殖細胞マーカーとの免疫染色の発現パターンによって基底層内上皮細胞の増殖能・未分化能の違いを評価し、検討した。結果として、創傷部境界からの伸展上皮ではCK14は他部位とは異なる発現が認められ、同部位においてp63陽性細胞の増殖も創傷治癒の早い段階から認められた。これらの陽性細胞は、上皮再生過程の準備段階に発現するもので有効な源であると考えられた。本研究の上皮再生過程において3つの要因として「増殖細胞の許容量」、「増殖細胞の許容量を超えた場合、全体の各細胞が補助をする反応を示す」、「前駆細胞様の源となる細胞の基底層内でのまばらな存在」が考えられた。口腔粘膜内のp75<sup>NGFR</sup>陽性細胞は、増殖細胞マーカーとの発現の違いから、上皮再生過程において増殖能と移動能を持つことが示唆された。この発現の違いから上皮幹細胞・前駆細胞の局在化ができるのではないかと考えられた。

本審査委員会では、1) 創傷モデルに関してレーザー照射を選択した根拠とレーザー照射による生体反応について、2) レーザー照射の利点と問題点、3) “Cell Migration” に関しての記載について、4) 緒言で述べられている2つのモデルで“sliding model”に近いと示した根拠について、など質疑が行われ、概ね妥当な回答が得られた。また、論文の記述内容、図表に関する指摘をいただいた。今後は、レーザー照射に関して口腔粘膜に及ぼす影響を考慮に入れること、口腔内における観察部位の設定やp75<sup>NGFR</sup>に焦点を絞ること等を検討するよう要望がなされた。本研究で得られた結果は、歯学(口腔外科学)の進歩、発展に寄与するところ大であり学位授与に値するものと判定した。