

口腔粘膜上皮における角質化細胞エンベロープの形成への トランスグルタミナーゼと基質タンパク質の寄与

リタ ラニ ロイ

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座
(主指導教員：長谷川 博雅 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

Contribution of transglutaminases and their substrate proteins to the
formation of cornified cell envelope in oral mucosal epithelium

RITA RANI ROY

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University
(Chief Academic Advisor : Professor Hiromasa Hasegawa)*

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

【緒言】

周辺帯 (CE) は、架橋結合により形成された難溶性のタンパク質複合体であり、角化上皮の最終的な分化に不可欠である。これらのタンパク質はトランスグルタミナーゼと呼ばれる酵素によって架橋結合され、表皮における CE の形成に寄与する。しかしながら、口腔上皮の CE 形成の詳細は不明である。この研究の目的は、角化を示す口腔粘膜上皮と非角化を示す口腔粘膜上皮における CE 関連タンパク質の分布および遺伝子の発現の異同を明らかにすることである。

【実験材料及び方法】

我々は、口腔の角化上皮19例と非角化上皮14例のパラフィン包埋標本を用いて、トランスグルタミナーゼ1 (TG1)、トランスグルタミナーゼ3 (TG3) および基質タンパク質であるインボルクリン (IVL)、ロリクリン (LOR)、およびスモー

ルプロリンリッチプロテイン (SPR) の分布を免疫組織学的に検索した。さらに、パラフィン包埋標本から RNA を抽出し、角化および非角化口腔上皮間で TG1 および TG3 mRNA レベルをリアルタイム RT-PCR を用いて検索した。その後、すべてのデータを統計的に分析し、CE 形成に関与する因子の特定を試みた。

【結果】

TG1：角化口腔上皮の TG1 に対する陽性所見は、主に有棘層上部の細胞膜にみられた。一方、非角化口腔上皮の TG1 は表層の細胞質のみならず、有棘層上部の細胞膜と細胞質に種々の程度で認められた。

TG3：角化口腔上皮では、ほとんどの検体で TG3 の陽性所見が有棘層上部の細胞質と細胞膜の双方で観察された。対照的に、非角化口腔上皮では有棘層上部および表層の細胞質にのみ陽性像

が認められた。

IVL：角化口腔上皮では、IVLは有棘層上部および下部の細胞膜と細胞質の両方に分布していたが、表層にはみられなかった。非角化口腔上皮では、細胞陽性所見のみが表層と有棘層の全体でみられた。

LOR：角化口腔上皮では、LORは有棘層上部の細胞質に陽性所見を示したが、非角化上皮では全く陽性反応を示さなかった。

SPR1a：角化および非角化口腔上皮のいずれでも、基底層より上層の細胞質および核に非常に弱いSPR1aの陽性反応が認められた。

SPR1b：角化口腔上皮では、SPR1bが有棘層上部の細胞質にみられたが、表層には認められなかった。対照的に、非角化口腔上皮ではSPR1bの細胞質の陽性所見が表層および有棘層下部でみられた。

SPR3：角化口腔上皮では、SPR3の陽性所見が有棘層上部の細胞質で認められたが、表層では認められなかった。対照的に、非角化口腔上皮では、SPR3の細胞質陽性所見が、表層および有棘層上部で観察された。

角化口腔上皮と非角化口腔上皮との間で、統計的に有意な差を示したCE関連タンパク質の分布パターン11種を以下に列挙する。

- ・TG1, TG3およびIVLの表層の細胞質および有棘層上部の細胞膜分布
- ・IVLの有棘層の細胞膜分布
- ・LORの有棘層の細胞質分布
- ・SRR1bの有棘層下部の細胞質分布
- ・SPR3の表層および有棘層下部の細胞質分布

これらの分布パターンに基づいてクラスター解析を行ったところ、33例の検体は完全に角化と非角化の2つのグループに大別された。また、角化上皮のTG1mRNAレベルは、非角化上皮のTG1mRNAレベルよりも有意に高値を示した。

【考察】

我々は、口腔の角化上皮のTG1遺伝子発現が非角化上皮と比べて高値を示すことを明らかにした。非角化を示す上皮組織が角化を示す際に、TG1が高値になることや、不完全な分化状態の上皮組織がTG1低値を示すことが文献的に知られている。したがって、口腔の角化上皮では、高レベルのTG1mRNAによってCE形成が誘導されると考えられる。

次に、TG1とIVLが口腔の角化上皮の細胞膜に共に分布することが示された。表皮の培養細胞系の研究で、TG1とIVLの細胞膜分布は、IVLの架橋を招いて周辺帯形成を促進することが示されている。以上のことから、TG1とIVLの共局在は、口腔のCE形成にも寄与すると考えられる。

本研究は、TG3が口腔の角化上皮の細胞質だけでなく細胞膜にも分布することを初めて示した。TG3は非角化口腔上皮の細胞質に存在し、表皮においても細胞質に限局している。従って、口腔の角化上皮におけるTG3の細胞膜への移行像は表皮とは異なるCE形成過程に関与している可能性がある。

さらに、口腔の角化上皮においてTG3とSPRがLORとともに分布することを明らかにした。SPR3は角化と非角化上皮の各々の口腔粘膜にも分布するが、LORは角化上皮にのみ存在する。これらから、LORがSPRとともにTG3によって架橋され、CEの補強に役立っていると考えられる。

【結論】

TG1とIVLの細胞膜分布、LORとSPRsの細胞質分布および高レベルのTG1mRNAの発現は、口腔の角化上皮におけるCE形成の調節に重要な役割を担うと考えられる。さらに、TG3の特徴的な細胞膜分布は口腔の角化上皮特有の現象である可能性がある。