



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	重層扁平上皮におけるタイトジャンクション関連タンパク (Zonula occludens-1) の分布は上皮ターンオーバー速度に依存する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	今福, 恵輔
Description	配架番号 : 2678
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14934号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85743
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	IMAFUKU_Keisuke_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 今 福 恵 輔

主査 教授 大 場 雄 介
審査担当者 副査 准教授 野 田 航 介
副査 准教授 岩 永 ひ ろ み

学 位 論 文 題 名

重層扁平上皮におけるタイトジャンクション関連タンパク (Zonula occludens-1)
の分布は上皮ターンオーバー速度に依存する
(The distributions of zonula occludens-1 in stratified squamous
epithelium depend on the turnover interval)

本学位論文は細胞接着機構、特に水分の拡散を防止するバリア機構を有する密着結合について観察したものである。研究手法としては免疫蛍光法を中心に、ホールマウントサンプルや水平断切片を用いた蛍光顕微鏡観察、構造化照明顕微鏡、電子顕微鏡による観察を行った。またマウスを用いた実験ではマイトマイシンC投与マウスとイミキモドクリームを用いたマウスを用いた比較を行っていた。最後にZO-1の分布と組織のターンオーバー期間を関連付けた。

審査にあたり、まず副査の野田航介准教授からは皮膚と頬粘膜を比較することに意義についての質問があり、申請者はこれまで非角化粘膜である頬粘膜については全く観察されておらず未知であること、皮膚科では口腔扁平苔癬などの疾患で頬粘膜を採取する機会が多いため、観察する価値がある旨を述べた。また頬粘膜のZO-1の連続性についてのコメントがあり、申請者は、ZO-1は連続してはいるが、ターンオーバー期間が速いため、一つのスライスではZO-1の連続していないように見えているだけである、と回答した。細胞増殖スピードとZO-1の分布を直接結びつけて良いのかというコメントがあり、申請者はその点は理解しており、スピードとZO-1の分布の間の何らかの分子やシグナル伝達、転写因子などタイトジャンクションを形成するメカニズムの解明が必要だろうと回答した。またin vitroの実験ではCLDN1及びTJPIをノックダウンした時のtransepithelial resistanceの測定とparacellular fluxの結果に乖離があるのではないかと指摘したところ、申請者はタイトジャンクションを形成するファミリーが多岐にわたるため、CLDN1やTJPIだけでなく、ほかの分子が補完している可能性があるが、今回の研究ではほかの分子については解析できていないと回答した。

また副査の岩永ひろみ准教授からは、頬粘膜のタイトジャンクションの分布が特徴的であるのに対し、その理由まで実験的に一定の根拠を示すことができたことと理解を示しつつも、深く頬粘膜のZO-1を立体的に観察し、機序を推定することができればよりよい研究になったのではないかとのことであった。また電子顕微鏡では頬粘膜しか観察していないが、皮膚においても観察すべきである。またN-SIMと電子顕微鏡のスケールが異なるため、本当に蛍光抗体法の写真がタイトジャンクションを反映しているのか疑問が残るとコメントした。申請者は共焦点顕微鏡で一つの線になっていたものが、N-SIMを用いることで解像度が上がり、ドット状に観察でき、同部位に1個以上のタイトジャンクションがあるのではないかと回答した。

主査の大場からは、未知であった頬粘膜のタイトジャンクションに対して新しい知見を示し、それに対する一定の根拠を示したことは素晴らしい結果であるが、実験一つ一つの結果に対してもっと考察が可能であり、そこから次にどのような実験、観察をすべきかを選択していくことが望ましい。また、副査の先生方のご指摘の通り、ZO-1の分布の変化が、細胞の増殖だけで説明できるものなのか、という点については甚だ疑問が残るとコメントした。申請者はターンオーバーではなく上皮の厚さなどが影響しているのではないかと回答した。

全ての質問及びコメントに対して概ね適切に回答したと思われたが、実験の一つ一つに対するさらなる考察が必要であろうと思われた。皮膚と頬粘膜のZO-1の分布の違いについて申請者は実験結果をもって根拠を示した点は十分評価に値すると思われた。また本研究で解明した研究成果の意義、今後解明すべき点を審査員一同のコメントをもって理解し、次段階の研究指針や応用の方向性も十分把握した。審査員一同は、これらの成果を高く評価し大学院過程における研鑽や取得単位なども併せて申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。