



ラット皮膚創傷治癒課程におけるオートファジーマーカーLC3の免疫組織学的解析

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-07-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 浅井, 笑子 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000097

論文内容要旨

しめい 氏名	あさい えみこ 浅井 笑子
学位論文題名	ラット皮膚創傷治癒過程におけるオートファジーマーカー LC3 の免疫組織学的解析
<p>【諸言】創傷治癒は組織・細胞レベルの極めて変化に富む再生・再建過程であり、一方、オートファジーは飢餓ストレス等で誘導される細胞内分解システムの一つで、細胞の恒常性維持に必須である。近年、オートファジーは様々な病態に関与することが明らかとなってきたが、創傷治癒に関する知見は乏しい。MAP1LC3 (microtubule-associated protein light chain 3; 以後 LC3 と表記) タンパク質は、オートファジーが惹起されると細胞質局在型の LC3-I からフォスファチジルエタノールアミン結合型の LC3-II に変換され、オートファジー隔離膜およびオートファゴソームへ局在化する。そのため、オートファジーマーカーとして良く用いられる。本研究では創傷治癒とオートファジーとの関連性を探るため、ラット創傷治癒モデルにおける LC3 の局在様式およびその変化を解析した。</p> <p>【方法】7 週令の雄ウイスターラットにおいて皮膚全層欠損創を作製した。6 時間、2、5、7、9、14 日後に創縁を含めた創組織をウエスタンブロット法のため採取、あるいはラットを 4% パラホルムアルデヒド固定液で灌流固定し、免疫組織学的手法により解析した。電子顕微鏡解析用に一部は 2% パラホルムアルデヒド-2% グルタルアルデヒド固定液で固定した。また、臨床応用されている塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) の影響を調べるために、潰瘍面に bFGF を 2 回/day 噴霧し、7 日後に同様の処理を行った。</p> <p>【結果】ウエスタンブロット法では、LC3-II シグナルは創作製後 2~9 日後に正常皮膚あるいは 14 日後の上皮化完了時点より高かった。免疫組織学的解析では、顆粒状の LC3 シグナルが主に線維芽細胞と筋線維芽細胞で認められ、それらの一部は隔離膜マーカーである Atg16L と共局在を示した。また、電子顕微鏡レベルで線維芽細胞に典型的なオートファゴソーム構造を認めた。細胞あたりの顆粒状 LC3 数を定量した結果、(1) 創作製後 5-9 日では創中央部より創縁部の線維芽細胞に多いこと、(2) 7-9 日後にピークを示すこと、(3) 創周辺の正常部位においても、9 日後には創傷部細胞以上の多さでピークを示すこと、が分かった。さらに、bFGF 処理をすると、7 日後において創中央部の線維芽細胞が創縁部細胞と同程度に高い値を示した。</p> <p>【考察】以上の結果より、皮膚創傷治癒過程においてオートファジー現象が重要な役割を担うことが示唆された。特に創傷治癒過程における LC3 顆粒数の変化、および bFGF の効果を考慮すると、オートファジーが線維芽細胞の増殖・筋線維芽細胞への分化過程に関与する可能性が推測された。今後は、LC3 シグナルの上昇の意義、およびオートファジー阻害剤や促進剤の創傷治癒過程に与える影響を解析する必要がある。</p>	

※日本語で記載すること。1200字以内にまとめること。

学位論文審査結果報告書

平成 26 年 1 月 31 日

大学院医学研究科長様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告します。

【審査結果要旨】

氏名 浅井 笑子

学位論文題名

ラット皮膚創傷治癒過程におけるオートファジーマーカーLC3の免疫組織学的解析

オートファジーは神経変性疾患、がん、感染症、代謝性疾患、炎症性疾患など、様々な病態に関与し、その制御機構に関する研究が進んでいる。しかし皮膚の全層欠損創の治癒過程に関する報告はない。そこで、本研究では、ラット創傷治癒モデルを用いてオートファジーマーカーであるLC3の局在動態を解析し、創傷治癒過程におけるオートファジーの関与を検討した。

LC3を定量化した結果、創作成後5-9日では創中央部より創縁部の線維芽細胞に多いこと、7-9日にピークを示すこと、創周辺の正常部においても、9日後には創傷部細胞以上の多さでピークを示すこと、さらに、bFGF処理をすると、7日後において創中央部の線維芽細胞は創縁部細胞と同程度に高い値を示すことが明らかとなった。

本研究の結果から、皮膚創傷治癒過程においてオートファジー現象が重要な役割を担うことが示唆された。創傷治癒過程におけるLC3顆粒数の変化とbFGFの効果を検討すると、オートファジーが線維芽細胞の増殖、筋線維芽細胞への分化過程に関与する可能性が推測された。本論文の内容には、新知見があり、学問的に正当であり学位論文に値するといえる。

論文審査委員 主査 紺野慎一

副査 和田郁夫

副査 大塚幹夫