【270】

氏　名（本籍）	池　部　　大（福 岡 県）
学 位 の 種 類	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	博　甲　第　4410　号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科
学 位 論 文 題 目	**Suppression of keratinocyte stratification by a dominant negative JunB mutant without blocking cell proliferation** （優勢抑制型 JunB 変異体は細胞増殖を阻害せずに角化細胞の重層化を抑制する）

主　査	筑波大学教授	医学博士	山　田　信　博
副　査	筑波大学教授	医学博士	高　橋　　智
副　査	筑波大学助教授	博士（医学）	森　下　由紀雄
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	市　川　栄　子

論 文 の 内 容 の 要 旨

（目的）

真皮上に培養した角化細胞の表面を空気に曝すと重層扁平上皮を再構築するという Bell らによって発見された実験事実は，培養細胞が組織構造を形成する誘導実験系として傑出したものであるが，その機序はいまだに解明されていない。一方，AP-1 は広範な細胞群で発現しており，分化・増殖・アポトーシスに重要な役割を担っているが，その標的遺伝子や生理機能については不明な点が多い。本研究は，AP-1 活性が，角化細胞の重層化に必要であるという独自の発見に基づき，細胞が組織構造を形成するメカニズムの解明を目的とする。

（対象と方法）

AP-1 活性を調節することで，AP-1 の角化細胞の重層化への関与を検討した。AP-1 系転写因子の発現ベクターを作成し，AP-1 活性に対する影響を検討するとともに，これらの安定発現細胞株を樹立し，2 次元及び 3 次元培養条件下で増殖能や重層化を検討した。また siRNA 法で c-Jun 及び JunB をノックダウンして，重層化への影響を調べた。さらに，角化細胞の表面を空気に曝した前後で発現レベルが変化する遺伝子を，DNA チップを用いて網羅的に検索した。

（結果）

AP-1 活性に反応して転写が亢進する pAP1-Luc をレポーターとして，c-Jun，JunB，c-Fos，c-JunΔN，JunBΔN の活性を luciferase assay で調べた。c-Jun と c-Fos は，AP-1 活性を亢進し，JunBΔN 及び c-JunΔN は，AP-1 活性に優勢抑制効果を持つことが分かった。次にヒト角化細胞株 HaCaT で JunBΔN の安定発現細胞株を作製した。HaCaT-JunBΔN の増殖能は抑制されないが，3 次元培養での重層化は著明に抑制された c-Jun 及び JunB をノックダウンした細胞では重層化の抑制は軽度であった。マイクロアレイの結果から，空気曝露後，mock 細胞では Aldo-keto reductase，family1，memberB10（AKR1B10）や，

Selenoprotein P（SeP），SOD1 などの抗酸化遺伝子の発現が上昇するが，HaCaT-JunBΔN ではこれら遺伝子の発現は上昇しなかった。

（考察）

AP-1 が角化細胞において，増殖や分化に重要な役割を担っているという報告は多数ある。本研究において，AP-1 活性を抑えた HaCaT-JunBΔN の増殖能は抑制されないが，3 次元培養による重層化は著明に抑制された。また Mock 細胞を空気に曝すと AKR1B10 や SeP, SOD1 などの抗酸化遺伝子の発現が上昇するが，HaCaT-JunBΔN では, これらの遺伝子の発現が誘導されなかった。さらにこれらの遺伝子の 5' エンハンサー領域には AP-1 結合領域があり，AP-1 の直接のターゲットと考えられた。以上より，AP-1 活性は，細胞増殖促進作用以外に上記のような抗酸化遺伝子の発現誘導を介し，角化細胞の空気曝露後，初期の細胞死を抑制することで，重層化に関与している可能性が考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

遺伝子の活性を調節し，細胞の phenotype の違いを実際に顕微鏡下で確認できる実験系として興味深い。通常の 2 次元培養条件下ではみられない細胞動態の違いを，3 次元培養条件下で示しており，3 次元培養の有用性を実証している。また角化細胞の重層化における AP-1 の新たな役割にも言及している。しかしながら，もう少し phenotype の解析（アポトーシスへの寄与など）を進めるべきであったし，また分化への寄与も検討の余地があったのではないか。

角化細胞における AP-1 のアポトーシスへの関与について。抗酸化作用だけで重層化が進むのか？今後この実験をどのように展開，応用していくのか。

Phenotype の解析が十分とはいえないが，3 次元培養の実験系を確立し，AP-1 活性が角化細胞の重層化において抗酸化遺伝子の誘導という新たな役割を担っていることを発見している。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。