

## 創傷を負った表皮組織に特異的な遺伝子の組み替えを用いた、 創傷治癒過程の追跡と表皮再生メカニズムの決定

高橋 健造

京都大学大学院医学研究科

表皮に代表される重層偏平上皮の創傷治癒機転のモデルとして、従来より2つのモデルが提唱されている。1つは重層上皮の再上皮化においても単層上皮と同様に、基底細胞の増殖と遊走のみが重要な役割を担い、基底層より上に位置する有棘細胞は補助的な役割のみを持つか、あるいは積極的な関与がないとする考えである。一方、別のモデルであるローリング仮説によると、表皮組織においては創傷外縁の有棘細胞が、基底層へと転がり落ちキャタピラのように次々と欠損した上皮を覆っていくというものである。この考えによると基底層上層の有棘細胞も表皮の再生に積極的な役割を果たしていることになる。重層上皮の創傷治癒機転を考える上で、創傷治癒後に再上皮化した新生表皮組織が創傷部近傍の基底細胞にのみ由来するのか、あるいは基底層上層の有棘細胞にも由来するのかは、皮膚の創傷治癒研究における長年の解決すべき大きな命題である。今回我々は、近年の遺伝子導入マウスの技術を応用し、創傷治癒にかかわる表皮角化細胞、とくに有棘層の細胞にマーキングすることで、創傷部位近傍の有棘細胞が実際の治癒過程においてどう遊走し、表皮の再生にどのような役割を担っているのかを決定したいと考えた。

### 【結果および考察】

ヒトケラチン 6a 遺伝子の5'側非翻訳領域の(約5kbp)をプロモーターとして利用した発現ベクターを開発し、レポーターとなるガラクトシダーゼ蛋白質を繋げた遺伝子を構築し、この導入遺伝子を持つトランスジェニックマウスを用いて創傷治癒実験を行なったところ、ヒトのケラチン6蛋白質は健常な皮膚においては表皮角化細胞にはいかなる細胞にも発現していない。しかし、創傷やフォルボールエステルなどによる刺激を表皮に加えるとケラチン6の蛋白質は急速、かつ大量に基底層より上層の有棘層・顆粒層の細胞に誘導される。

緑色蛍光蛋白(GFP)とガラクトシダーゼ遺伝子の連結したレポーター遺伝子のみの形質転換では、第一のレポーターであるGFPの発現のみ観察され、ガラクトシダーゼ遺伝子の発現は全く認められなかった。しかし、Creリコンビネースの遺伝子と共発現させた際にはGFPの発現は消失しガラクトシダーゼ遺伝子の発現が確認された。

体幹部の皮膚に直径2~3cm程の皮膚全層の切除を加え、経時的な生検により様々な段階でのマーカー遺伝子の発現を検討したところ、創傷初期においては第二のレポーターであるガラクトシダーゼ遺伝子の発現が観察されたが、治癒反応の終了した後の再上皮化した表皮においては、ガラクトシダーゼ遺伝子を発現する細胞は僅かしか観察されない。

これらの事実を考えると重層上皮においても、ローリング仮説の予想するような有棘層の細胞が再び基底層の細胞へと脱分化し、再生・分裂能を回復するとする考えは証明されなかった。