

京都大学	博士（医学）	氏 名	江川 形平
論文題目	Transient expression of ephrinB2 in perinatal skin is required for maintenance of keratinocyte homeostasis (周産期の皮膚における ephrinB2 の一過性発現は表皮細胞の恒常性維持に必須である)		
(論文内容の要旨)			
正常な皮膚および皮膚付属器の形成にはWingless-related proteins (WNTs) や Sonic hedgehog (SHH)、Fibroblast growth factor(FGF)等の因子が関与する。これらの因子は皮膚以外の器官形成においても様々に関わり合って働く事が知られる。チロシンキナーゼ型受容体であるEph受容体およびそのリガンドEphrinもまた血管の形成や神経軸索延長、神経冠細胞遊走の制御等、種々の器官の形成期において重要な働きを担う事が知られ詳しい研究が行われているが、皮膚における機能はほとんど解析されていない。今回の研究では、マウスの周産期皮膚においてEphrinB2が空間的、時間的に特徴的な発現パターンをとることが見出された。すなわち胎生14.5日の皮膚では毛芽にその発現を認めるのみだが、胎生16.5日には真皮浅層に幅広く発現を認めた。この真皮での発現は次第に減弱し、第一毛周期の終わりに一致して生後3－4週で完全に消失した。第二毛周期以降の成体マウスでは真皮におけるEphrinB2発現は全く認めず、毛包脂腺部に限局して発現するのみであった。表皮におけるEphrinB2の役割を検討するために、表皮特異的なEphrinB2ノックアウトマウス(K14-Cre;EphrinB2^{LoxP/LoxP})を作成した。しかしこのマウスでは皮膚の表現型に何ら異常が出ず、表皮内におけるEphrinB2の発現は必要不可欠なものではないことが示唆された。次に真皮におけるEphrinB2の役割の検討を考えたが、真皮特異的なプロモーターは知られていないことから、タモキシフェン投与により特定の時期に全身でターゲティングすることが可能なマウス(MerCreMre;EphrinB2^{LoxP/LoxP})を用いた。出生直後にEphrinB2を全身でターゲティングしたところ、成長障害とともに皮膚に多数の鱗屑が出現する表現型が出現した。組織学的な検討により、角層、表皮の著明な肥厚、真皮の血管拡張を認めたものの、炎症細胞の浸潤はわずかであった。分化マーカーによる検討からはケラチノサイトに分化の異常はないことが判明した。また、BrdU取り込み実験により表皮の肥厚がケラチノサイトの細胞分裂亢進によることが明らかとなった。これらの結果から周産期における一過性の真皮側のEphrinB2の発現がケラチノサイトの増殖に抑制的に働いていると考えられた。次に皮膚内でEph受容体を発現している細胞を免疫組織学的に検討した。表皮、真皮双方にEph受容体発現細胞を認めたが、真皮内細胞においてEphrinB2により親和性の高いEph受容体の発現を認めた。また、マイクロアレイ、qPCRを用いた解析によりEphrinB2のターゲティングにより皮膚におけるIL-1ファミリータンパクの発現が著明に上昇していることが見いだされた。これらの結果から、真皮内にEphrinB2発現細胞、Eph受容体発現細胞の双方が混在、相互作用し、IL-1ファミリータンパク等を介して間接的に表皮ケラチノサイトの増殖を制御していることが示唆された。今回のこれらの実験結果は皮膚の形成に Ephrin／Eph ファミリーが関わることを初めて示したものであり、周産期の真皮における一過性の EphrinB2 の発現が、機能的な皮膚の形成メカニズムの一端を担うことが明らかとなった。			

（論文審査の結果の要旨） チロシンキナーゼ型受容体であるEph受容体およびそのリガンドEphrinは種々の器官形成期において重要な働きを担う事が知られるが、皮膚における役割はほとんど解明されていない。本研究ではまず、マウスの周産期皮膚におけるEphrinB2の発現パターンを検討した。胎生後期の毛芽および真皮浅層の発現にはじまり、出生後は真皮での発現が3・4週で消失、脂腺周囲に限局発現することが明らかとなった。次にタモキシフェン投与により遺伝子ターゲティング誘導可能なマウス(CAG-MerCreMer;EphrinB2^{LoxP/LoxP})を用いて皮膚におけるEphrinB2の役割が検討された。出生直後のタモキシフェン投与により、皮膚に多数の鱗屑が形成され、免疫組織学的な検討から、角層、表皮の著明な肥厚、ケラチノサイトの細胞分裂充進を認めた。また、皮膚内でEph受容体を発現している細胞を検討し、表皮、真皮双方にEph受容体発現細胞が存在することを明らかにした。マイクロアレイ、qPCRを用いた解析によりEphrinB2のターゲティングにより皮膚におけるIL-1ファミリータンパクの発現が著明に上昇していることが見出された。これらの結果から、真皮内にEphrinB2発現細胞、Eph受容体発現細胞の双方が混在、相互作用し、IL-1ファミリータンパク等を介して間接的に表皮ケラチノサイトの増殖を制御していることが示唆された。 以上の研究は、皮膚におけるEphrin/Ephファミリーの役割の解明に貢献し、機能的な皮膚の形成メカニズムの理解に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成21年10月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			