

論 文 要 旨

Identification of stem cells that maintain and regenerate lingual
keratinized epithelial cells.

(舌糸状乳頭角化上皮細胞の維持・再生を担う舌上皮幹細胞の同定)

関西医科大学 内科学第三講座
(指導：岡崎 和一 教授)

田中 敏宏

【はじめに】

舌上皮細胞は舌扁平上皮癌の発生起源と考えられ、その細胞代謝機序は極めて重要であるが、不明な部分は未だ多い。これまで Keratin-5 (Krt5) 強陽性細胞が *in vitro* で自己複製能を持ち幹細胞の候補とされ、また lineage tracing にて Keratin-14 (Krt14) 陽性細胞に糸状乳頭及び味蕾細胞の長期幹細胞を含む事が示された。しかし、Krt14・Krt5 は上皮細胞底部 1/3 に発現が高く、特異性が低いと考えられた。他臓器にて真の長期幹細胞は極めて少数であり、真の舌上皮幹細胞の存在が示唆され、解析の重要性は高いと考えられた。

【方法】

舌上皮長期幹細胞を調べる為に、多色細胞系譜追跡法を用いて舌上皮細胞の clonality 解析を試みた。さらに真の長期幹細胞を同定する為に *in situ* hybridization や種々の幹細胞マーカー遺伝子の CreERT2 ノックインマウスによる解析を行った。

【結果】

すべての細胞をタモキシフェン誘導的に青・オレンジ・赤の3色で標識する多色細胞系譜追跡法(レポーターマウスにレインボーマウス:Rosa26^{rbw/+}を使用)を行い、day14 までは細胞クローンが基底層から上層への増殖が観察され、1ヶ月後以降には乳頭間の区画毎に単色となり、事実上1個の長期幹細胞がその区画の全上皮細胞を維持している事を示していた。さらに真の長期幹細胞を同定するために、villin, shh, Lgr5, Lgr6 遺伝子に CreERT2 をノックインしたマウスを用いた遺伝子特異的な解析を行ったが標識は認められなかった。しかし Bmi1^{CreER/+}マウスにて舌上皮細胞の標識が認められた。

Bmi1^{CreER/+}/Rosa26^{rbw/+} mice において、Tamoxifen 投与後2日目に単一の標識細胞が確認され、約2週間までにBmi1陽性細胞から供給された細胞が角化層まで到達し、4週間で供給範囲の細胞は単一色となった。その後1年以上にわたり蛍光標識細胞は維持されており、長期幹細胞である事が証明された。Bmi1陽性細胞は *in situ* hybridization にて乳頭間の一つのくぼみの中に基本的に最高1個のBmi1陽性細胞が認められた。Bmi1陽性細胞は最も下層ではなく、約50%が基底膜から2個~3個目の位置であった。また増殖細胞を示す投与後2hrのEdu陽性細胞には含まれず、Bmi1陽性幹細胞は細胞周期が遅い、ないし細胞周期が止まっていると考えられた。また幹細胞マーカーとされたKrt5・Krt14とBmi1陽性細胞は共発現する事も確認した。

次に10Gy・20Gyの放射線傷害後修復過程におけるBmi1陽性幹細胞動態について解析し、通常状態ではBmi陽性細胞の分化細胞が最上層の糸状乳頭角化細胞に達するのに14日程かかったが、10Gy照射では7日目に最上層まで達した。また20Gy照射後も同様に再生することを確認した。これよりBmi1陽性細胞は放射線抵抗性であり、正常時ではslow cyclingだが、傷害時には直ちに細胞周期に入り組織の修復再生に機能する事が明らかとなった。さらに傷害後の再生過程にBmi1^{CreER/+}/Rosa26^{loxP-stop-loxP-dta/+} miceを用いてBmi1陽性細胞を壊す事で、放射線傷害後5日目の増殖細胞が有意に減少し、再生を抑制する事がわかった。以上より

Bmi1 陽性幹細胞が舌糸状乳頭の上皮の維持・再生に重要な役割を果たすと考えられた。

【考察】

我々は初めて舌上皮細胞を維持し傷害時の修復に関わる Bmi1 陽性幹細胞を同定した。Bmi1 陽性舌上皮幹細胞は slow cycling であるが、放射線傷害時には速やかに細胞周期に入り再生を始める。他臓器においても（造血幹細胞、皮膚幹細胞、腸幹細胞など）slow cycling な長期幹細胞と長期の寿命を持たずさかんに分裂する短期幹細胞が併存しそれらの役割分担が明らかとなりつつある。今回の研究にてそのメカニズムの一端が初めて明らかとなったといえる。今後正常幹細胞と癌幹細胞との細胞系譜関連も重要な研究課題となると考える。