

図1. K5-Cre マウスのCre活性を、ROSA26-EGFPレポーターマウスを用いて可視化した。腭上皮全体でCreによる遺伝子組換えによるGFPの発現が検出できる(A)。点線は基底膜を示している。GFPは抗GFP抗体による抗体染色で検出している。(B)はヘキスト染色による対比染色の像である。

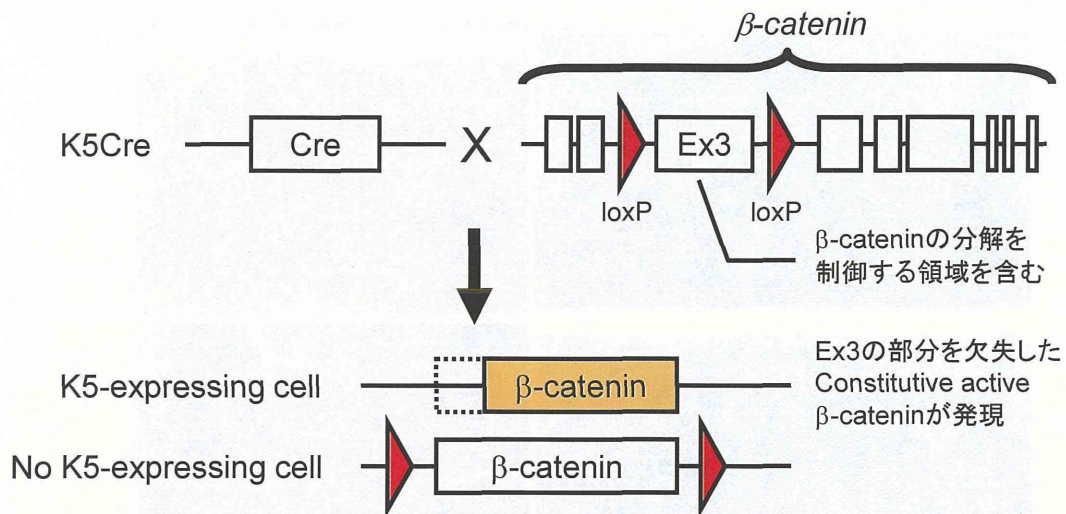


図2. Wnt/β-カテニンシグナルを構成的に活性化させた遺伝子改変マウスの原理。Cre発現細胞(すなわち腔上皮細胞)においてのみ、分解シグナルを欠いた安定なβ-カテニンタンパクが発現し、Wntリガンドが無い状態でも、常にWnt/β-カテニンシグナルが活性化された状態を作ることができる。

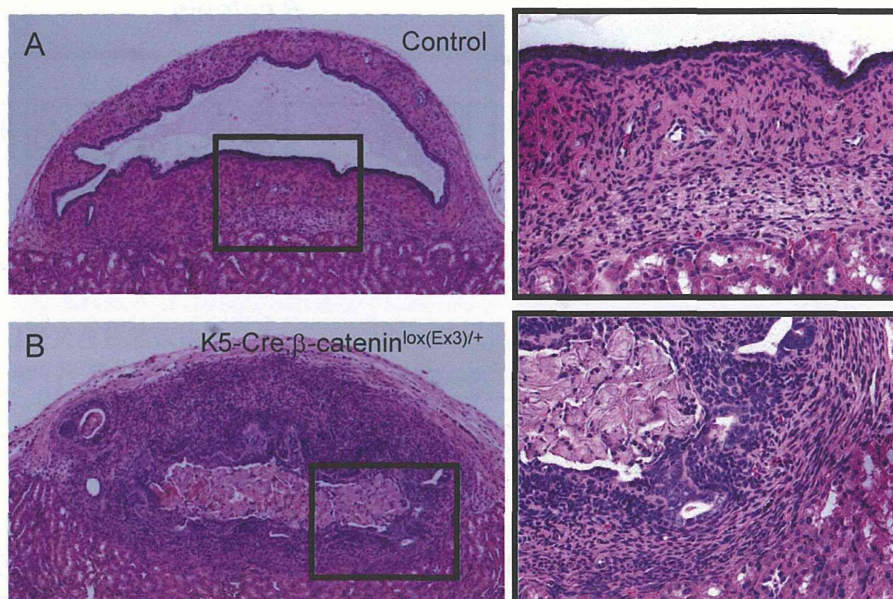


図3. 女性ホルモンがない状態では膣上皮は2-3層の薄い状態である(A)。一方、膣上皮特異的に構成的活性化β-カテニンを発現させた膣では、女性ホルモン非存在下においても細胞増殖や分化が起きる(B)。内腔はケラチンなどがつまっている。右のパネルは、黒枠内の拡大図である。

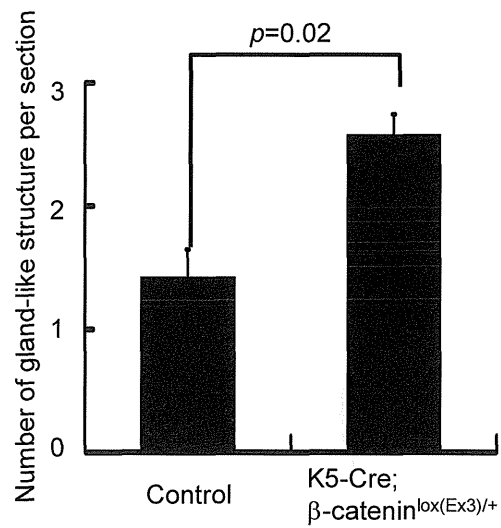


図4. 構成的活性化 β -カテニンを発現させた腺では、腺様の構造がコントロール群より多い。

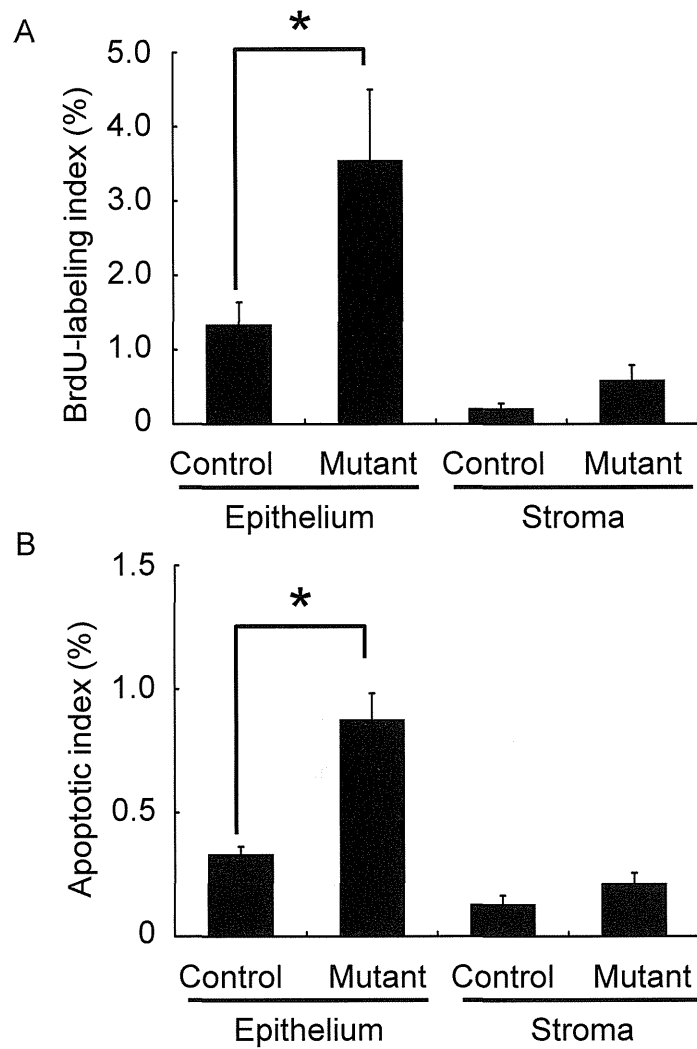


図5. 細胞増殖(A)や細胞死(B)をBrdU免疫組織化学染色およびTUNEL法を指標に解析した。細胞増殖・細胞死ともに β -カテニン活性化マウスの腫組織で亢進していた。

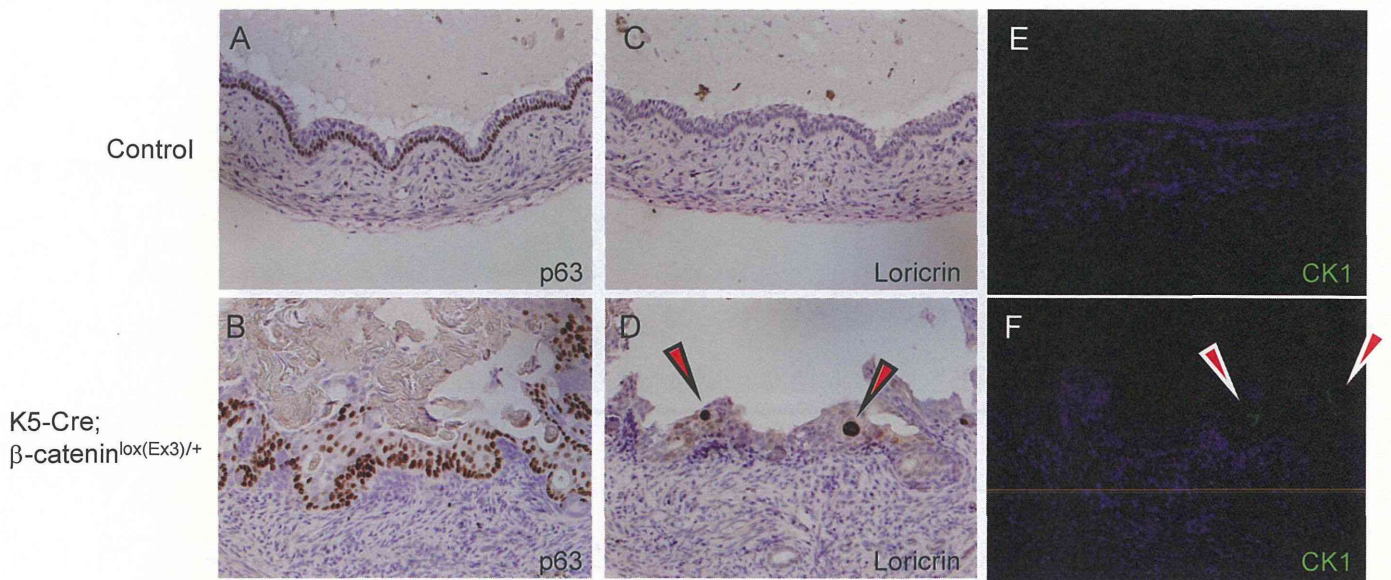
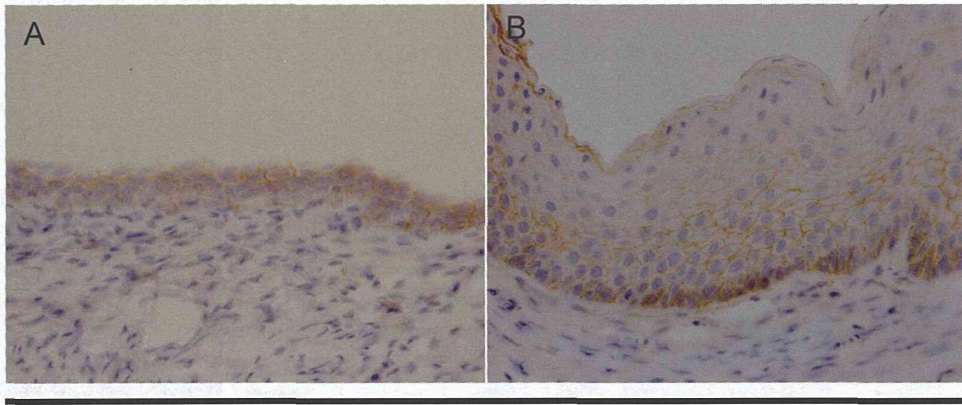
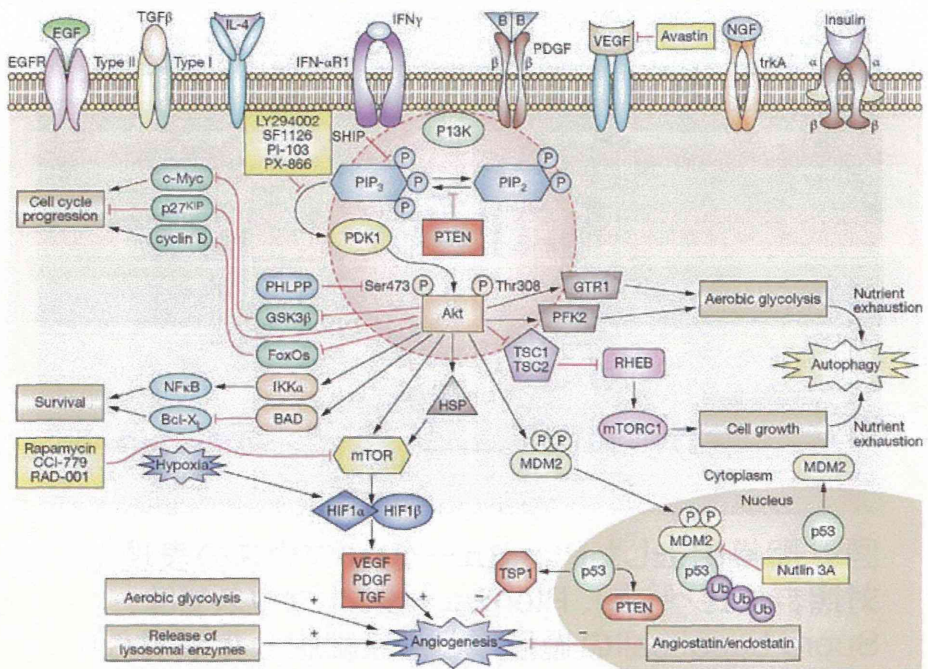


図6. p63 (A, B)、ロリクリン (C, D)、CK1 (E, F) の免疫組織化学。p63はコントロールに比べ (A)、 β -カテニン活性化マウス (B) の隆上皮では、p63陽性細胞の領域が上方に広がっている。また、CK1やロリクリンは、コントロールでは発現は見られないが、 β -catenin活性化マウスでは、ごくわずかに発現が見られる (赤矢頭)。



β -catenin

図7. コントロール(A)及び新生児期DES投与マウス(B)の膺組織における、 β -カテニンタンパク質を免疫組織学的に解析した。新生児期DES投与マウスの一部の基底細胞において、 β -カテニンタンパク質が蓄積しているのが分かる。



Nature Clinical Practice Neurology (2007) 3:682-693より引用

図8. 種々の細胞成長因子、サイトカイン、インスリンなどの刺激によって、PI3K (phosphoinositide-3-kinase)が活性化される。活性化されたPI3KはPIP₂ (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)の3位をリン酸化してPIP₃ (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate)を産生する。PIP₃存在下においてAktは活性化し、その下流の様々な分子をリン酸化することにより、細胞の増殖(癌化)、成長、生存などに関与する。Pten (phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10)は数多くの悪性腫瘍においてDNA変異が認められるがん抑制遺伝子であり、PIP₃を主な基質として働くホスファターゼとして、PI3Kの働きを負に制御する。したがってPtenノックアウトマウスでは、PI3K及びAktが構成的に活性化されることになる。

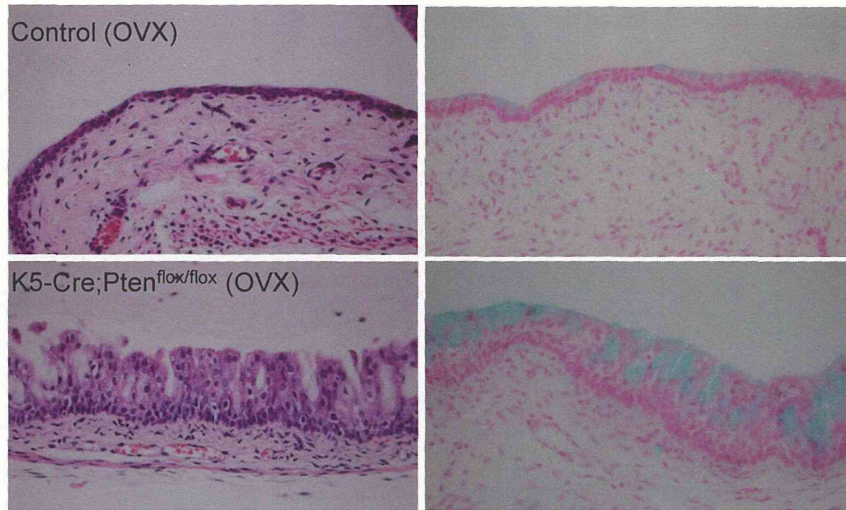


図9. 卵巣除去したPtenミュータントマウスの表現型。対照群に比べ(上)、Ptenミュータントマウスでは、Supra basal cellの過形成と粘液細胞分化が見られる(下)。右はAlcian blue染色。

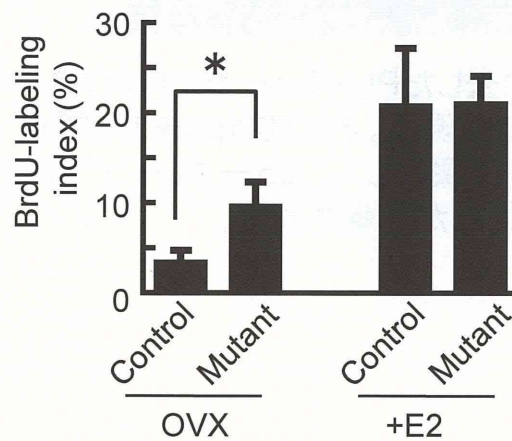
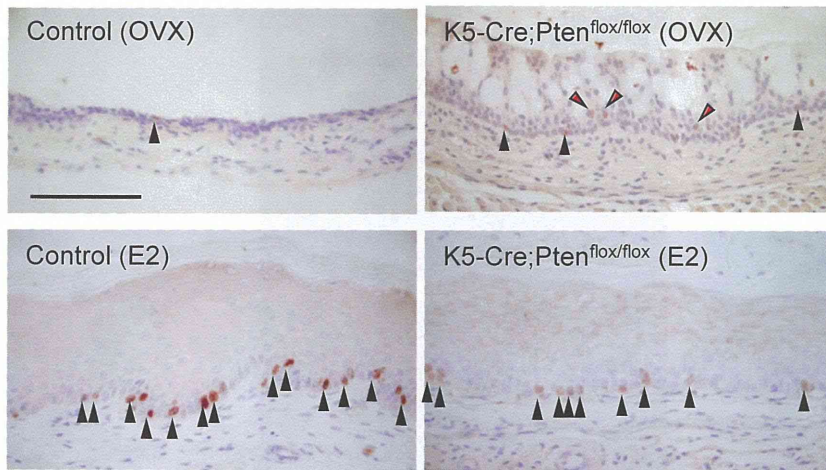


図10. 卵巣を除去したミュータントマウスでは、対照群に比べ、細胞増殖率(BrdUの取り込み=黒矢頭、を指標とした)が亢進していた。なお、通常腺上皮の細胞増殖は、基底膜に接した細胞しかしないが、ミュータントマウスでは基底膜を離れた細胞もBrdUを取り込んでいた(赤矢頭)。E2投与ではこの増殖には有意差はない(E2投与後の表現型に関しては図3参照)。

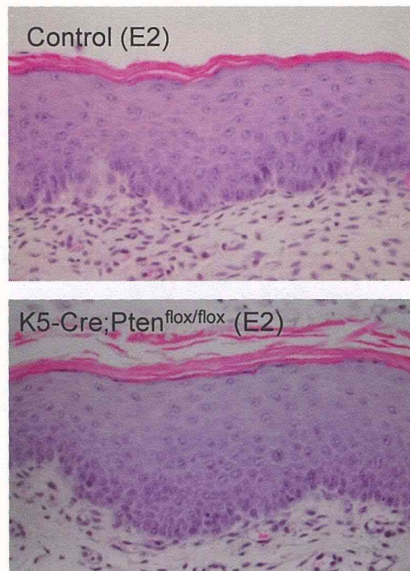


図11. 卵巣除去したPtenミュータントマウスにE2を投与した後の表現型。E2は0.1 μ gを3日間皮下投与し、24時間後に採材した。ミュータントマウスでも多層化及び角質化が誘導される。

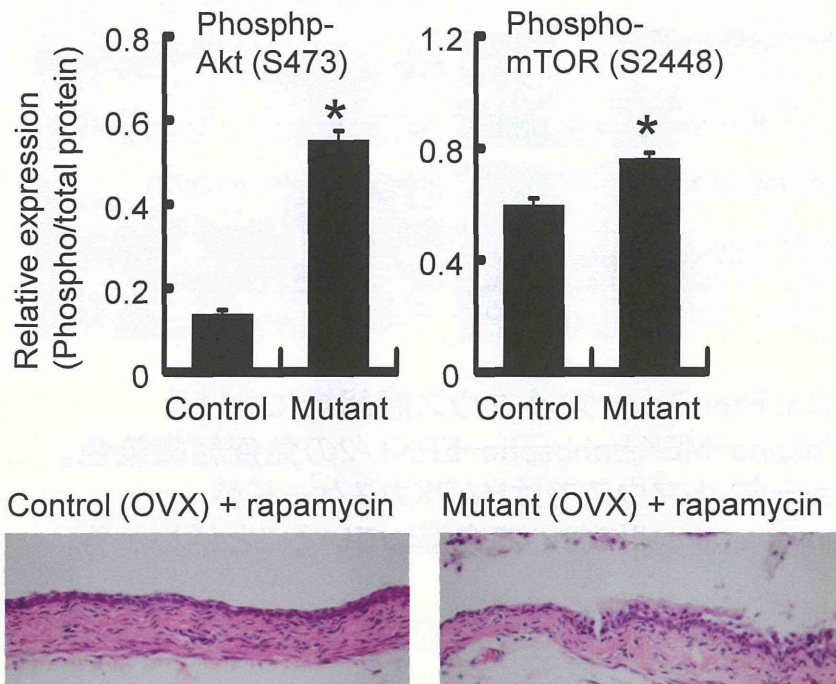


図12. Ptenミュータントマウスでは、Aktに加え、mTORのリン酸化も亢進していた。グラフはウェスタンブロッティングのバンドを定量化したものである。またmTORのインヒビターであるラパマイシンを卵巣を除去したミュータントマウスにとうよすると、形成を示す腺上皮細胞の一部が退縮した。

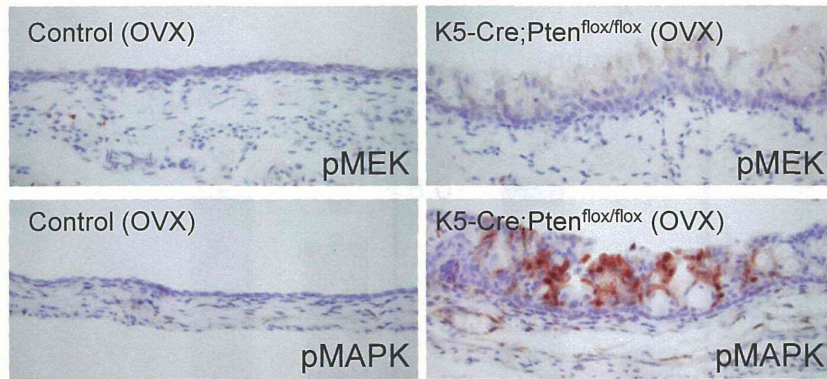


図13. Ptenミュータントマウス腺組織における
 phospho-MEKとphospho-ERK1/2の免疫組織染色。
 ミュータントマウスではMAPKカスケードが
 suprabasal cellにおいて亢進していることがわかる。

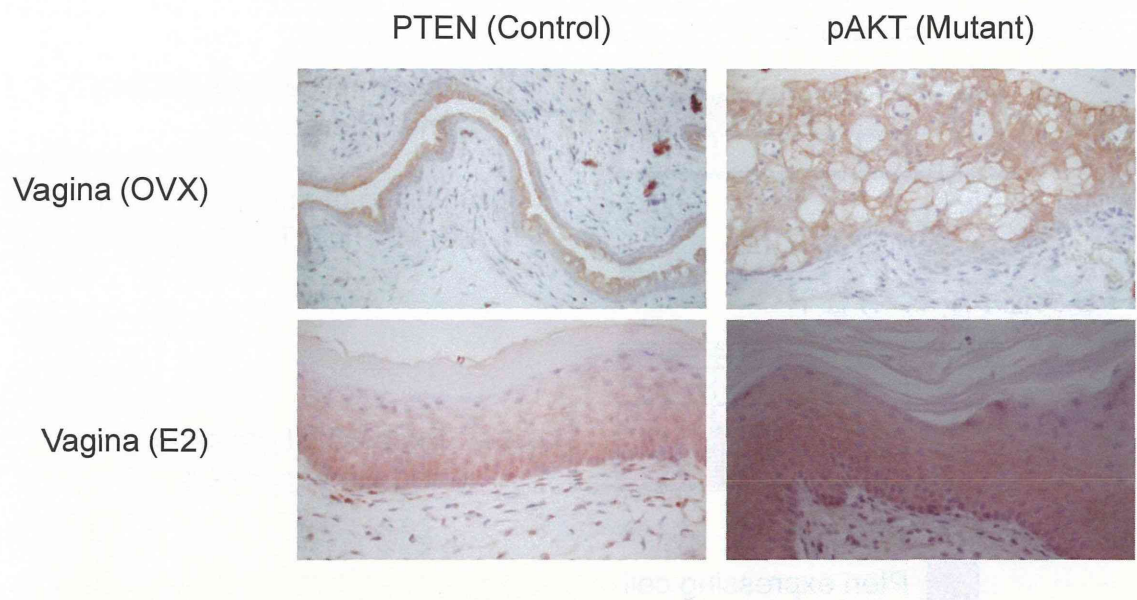
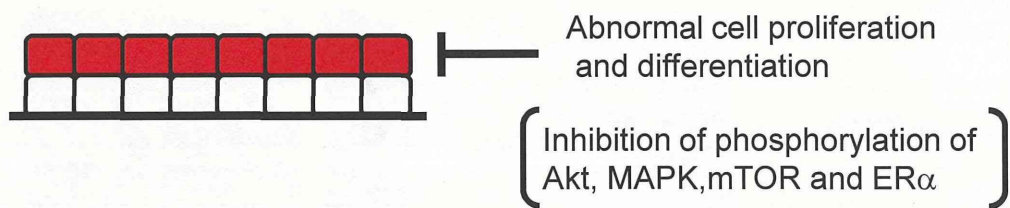
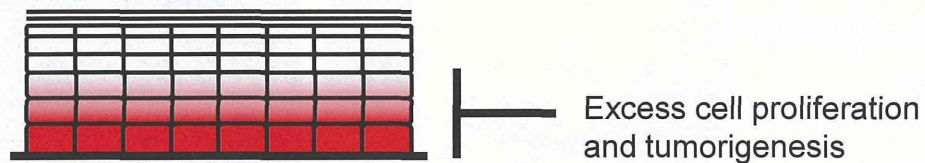


図14. 卵巣を除去した野生型マウスの膣では、Ptenは基底細胞ではなく、suprabasal cellに発現していた(左上)。一方で女性ホルモンを投与すると、基底細胞からその上層にかけて発現するようになる(左下)。ミュータントマウスのリン酸化Aktは、それぞれ、Pten発現部位で活性化するようになる(右上および右下)。

A. 女性ホルモン非存在下



B. 女性ホルモン存在下



 Pten expressing cell

図15. マウス膺上皮細胞における女性ホルモン非存在化及び存在下におけるPtenの発現とその機能

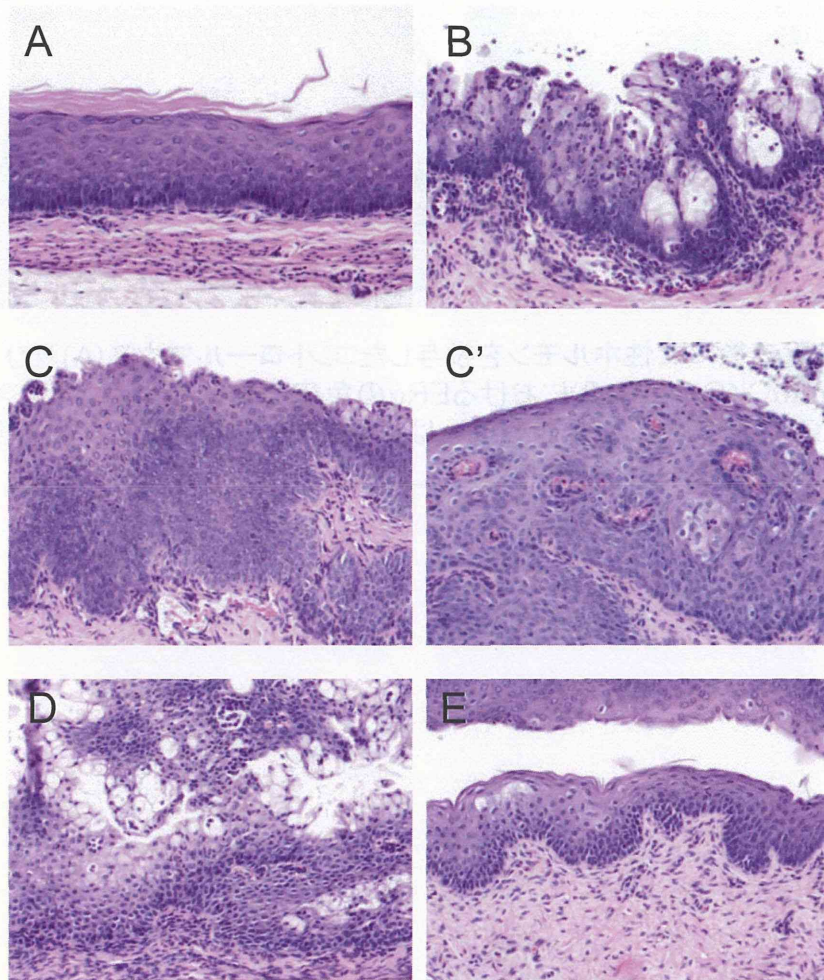


図16. 新生仔にDES投与マウスしたPten CKOマウス膺の組織図。重層角質化上皮(A)、環状粘液分泌を伴うsuprabasal cellの過形成(B)、さまざまな細胞タイプが混在する上皮の過形成(C, C')、症状が重篤な組織像(D)が見られる。Eは新生仔にDES投与マウスしたコントロールマウスの表現型。

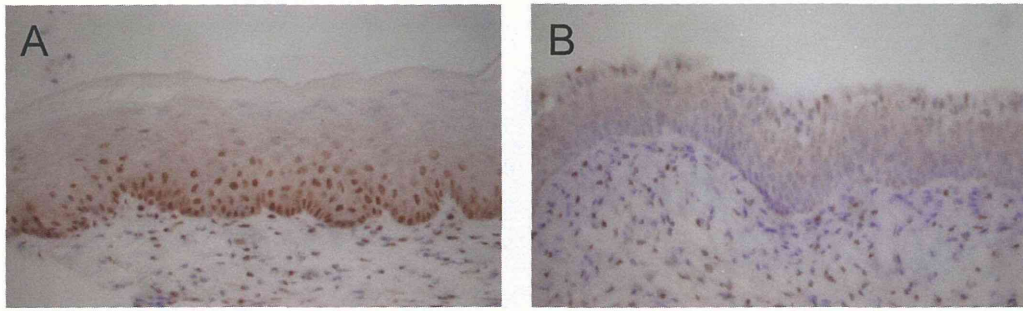


図17. 卵巣除去後に女性ホルモンを投与したコントロールマウス(A)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B)におけるER α の免疫組織化学染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、間質ではER α は発現しているが、上皮では発現していない。

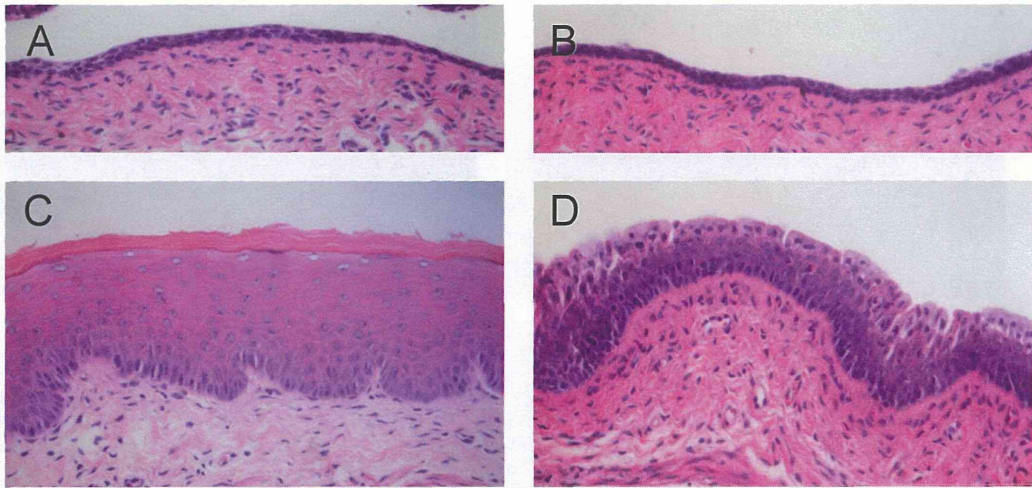


図18. 卵巣除去 (A, B)、または女性ホルモンを投与 (C, D)したコントロールマウス(A, C)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B, D)膣におけるHE染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、女性ホルモンを投与しても、上層が角質化していない。

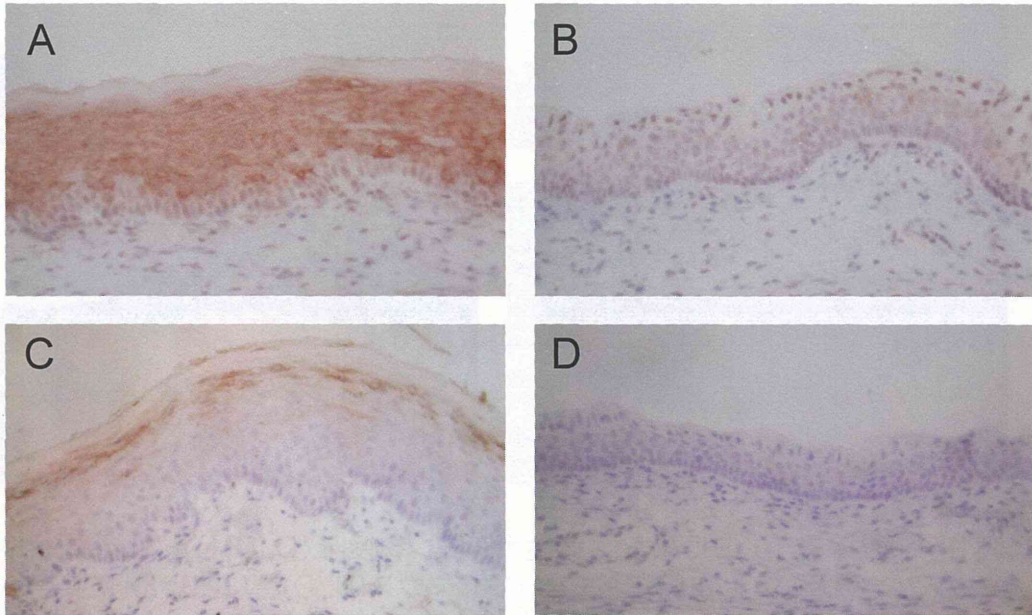


図19. 女性ホルモンを投与したコントロールマウス(A, C)及び、上皮特異的ER α CKOマウス(B, D)の膣におけるCK1 (A, B)、フィラゲリンの免疫組織化学染色。上皮特異的ER α CKOマウスでは、何れの分化マーカーも発現していない。

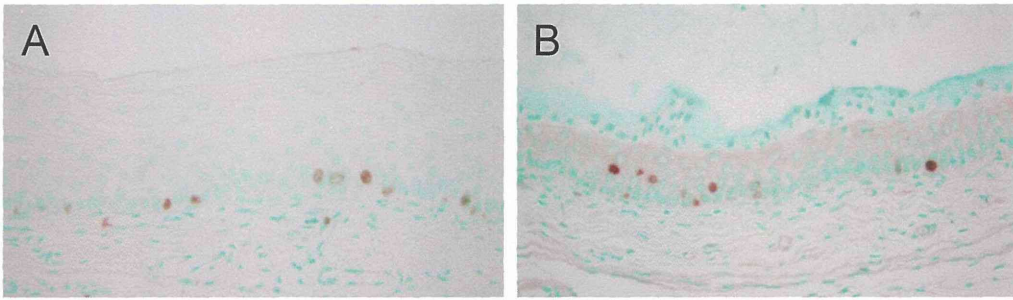


図20. 女性ホルモンを投与したコントロールマウス(A)及び、上皮特異的 ER α CKOマウス(B)の膣におけるBrdUの免疫組織化学染色。上皮特異的 ER α CKOマウスでは、基底細胞よりも上層の細胞で、BrdUの取り込み細胞がみられる。