

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	感覚統合科学領域 皮膚科学分野 氏名 古川 和仁
<p>(論文題目)</p> <p>Ultraviolet B irradiation leads to the development of experimental bullous pemphigoid targeting BPAG1e (中波長紫外線 (UVB) 照射は BPAG1e を標的とする実験的水疱性類天疱瘡の発症に誘導する)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>水疱性類天疱瘡 (bullous pemphigoid; BP) は最も頻度の高い自己免疫性水疱症であり、真皮表皮境界部 (dermal-epidermal junction; DEJ) に対する自己抗体が原因で表皮下水疱が形成される。BP 患者に生じる自己抗体は、DEJ のヘミデスモソームを構成する BP180 と BP230 (bullous pemphigoid antigen 1e; BPAG1e) を認識する。多くの BP 患者では、膜貫通型タンパクである BP180 の細胞外領域に結合する自己抗体を有している。一方、BPAG1e タンパクは細胞内に局在しているため自己抗体に認識されづらく、抗 BPAG1e 抗体は病原性の低い自己抗体と考えられていた。しかし近年、BP を発症した患者には抗 BP180 抗体と抗 BPAG1e 抗体の両方を有する患者だけでなく、抗 BPAG1e 抗体のみを有する BP 患者の存在も明らかになった。また、抗 BPAG1e 抗体のみを有する BP 患者では、自己抗体は主に BPAG1e の C 末端ドメイン (BPAG1e-C) に結合することも判明した。我々はこれまでの研究で、BPAG1e タンパクを欠損させたコンディショナルノックアウトマウスを作製し、マウス BPAG1e-C リコンビナントタンパクで免疫を付けた後、その脾臓細胞を免疫不全マウスである Rag2^{-/-}マウスに移植することで、BP 様症状を誘導することに成功した (Makita et al, J Invest Dermatol, 2021)。このことにより、BPAG1e を標的とする BP が存在することを疾患モデルマウスで証明した。</p> <p>一方 BP は、経過中に様々なサイトカインが上昇することが知られている。そこで、BPAG1e を標的とする BP モデルマウスにおけるサイトカイン発現について解析した。BP 様症状を呈するマウスは BP 様症状を呈さないマウスに比べ、血清 IL-6 濃度が有意に高かった。一方、IL-4、IL-17、IFN-γ には有意差がなかった。さらに、重度の皮膚症状を呈するマウスでは、血清 IL-6 レベルが有意に高く、また重度の皮膚症状を呈したマウスは早期に BP 様症状を発症した。以上のことから、IL-6 は BP 様症状の重症化と早期発症の両方に必須な役割を担っている可能性が示唆された。</p> <p>さらに、脾臓細胞移植 3、6、12 日後の血清 IL-6 濃度を測定したところ、後に BP 様症状を呈したマウスでは皮膚症状が出現する前から血清 IL-6 濃度が増加し、症状の発現に至るまで徐々に増加した。このことにより、IL-6 は BP 発症を誘導するトリガーとなるサイトカインであることが証明された。</p> <p>次に、抗 BPAG1e 抗体の病原性を評価するために、BP モデルマウスのリンパ球を用いてハイブリドーマ細胞を作製した。ハイブリドーマ細胞由来 IgG はマウス皮膚切片の DEJ に結合したが、ハイブリドーマ細胞を移植した BALB/c マウスでは、BP 様の皮膚変化も DEJ への IgG 沈着も見られなかった。そこで、ハイブリドーマ細胞を投与された BALB/c マウスにおいて、BP 発症トリガーである IL-6 の誘導を試みた。まず、BALB/c マウスの剃毛した背部に 300 mJ/cm² の UVB を照射し、血清 IL-6 が UVB 照射後直ちに上昇し、24 時間でピークに達することを確認した。次に、ハイブリドーマ細胞または</p>	

SP2/0-Ag14 コントロール細胞のいずれかを投与した 3 日後に、背部皮膚に 300 mJ/cm² の UVB を照射、経時的に観察した。UVB 照射 6 日後には、ハイブリドーマ細胞投与群のマウスは、痂皮を伴う広範囲の紅斑を有していた。SP2/0-Ag14 細胞投与群である対照マウスは、軽度の紅斑と鱗屑のみを認めた。UVB 照射後 9 日目には、対照マウスはほぼ正常な外観になったが、ハイブリドーマ細胞投与群では遅延性紅斑とびらんが見られた。

ハイブリドーマ細胞投与後 UVB 照射したマウスでは、組織学的な表皮下水疱と DEJ の IgG 沈着が認められたが、UVB 非照射部位である腹部皮膚では同様の所見は見られなかった。免疫組織化学染色では、UVB 照射されたハイブリドーマ細胞投与マウスの表皮細胞やリンパ球で IL-6 の発現が誘導されたことが明らかになり、UVB は IL-6 の発現上昇を介して BPAG1e を標的とした BP のトリガーとなりうることが示唆された。さらに、UVB 照射によりハイブリドーマ細胞投与群マウスの抗 BPAG1e 抗体価が上昇した。非照射腹部皮膚では DEJ に IgG の沈着が見られなかったことから、抗 BPAG1e 抗体が DEJ に結合するためには UVB による BPAG1e タンパクの露呈が必要である可能性が示唆された。

本研究は、抗 BPAG1e 抗体の存在下で UVB による表皮下水疱の形成を実証した最初の報告である。これらの結果は、紫外線など外的要因による BP 発症の機序の解明に寄与すると考える。