The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Induction of T-cell-mediated skin disease specific for antigen transgenically expressed in keratinocytes
Author(s)	小豆澤, 宏明
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45335
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【12】

氏　　名	小豆澤　宏　明（あずさわ　ひろあき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８０９７　号
学位授与年月日	平成 15 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学　位　論　文　名	Induction of T-cell-mediated skin disease specific for antigen transgenically expressed in keratinocytes **（トランスジェニックマウスを用いた皮膚特異的自己免疫疾患モデルの樹立）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　細川　　亙 （副査） 教　授　竹田　潤二　　教　授　平野　俊夫

論　文　内　容　の　要　旨

【目　的】自己免疫疾患は、内因性抗原である自己抗原に対し自己反応性リンパ球が反応することで発症すると考えられている。外来抗原と異なり、内因性抗原がどのように自己反応性 T 細胞に認識されるかは、自己免疫疾患の発症メカニズムを研究する上で重要である。自己抗原は MHC class I 分子とともに大多数の細胞膜表面に提示されると考えられている。表皮角化細胞は、リンパ組織と隔絶されており、表皮角化細胞表面上に MHC class I 分子とともに提示された自己抗原が、直接自己反応性 $CD8^+$ T 細胞を感作するとは考えにくく、介在する抗原提示機構の存在が示唆される。本研究では皮膚特異的にモデル抗原を発現するトランスジェニックマウスを作製し、T 細胞を介する自己免疫皮膚疾患や薬疹、ウイルス性発疹などのモデル動物を樹立することで、表皮自己抗原の抗原提示機構の解析を試みた。

【方法ならびに成績】C57BL/6(B6)系統でケラチン５プロモータ下にニワトリの卵白アルブミン（OVA）を発現するトランスジェニックマウス（K5-mOVA）を作製した。自己反応性 $CD8^+$ T 細胞のモデルとして K^b 拘束性 OVA 特異的 T 細胞受容体トランスジェニックマウス（OT-I）を用いた。

1．K5-mOVA の皮膚を野生型マウスおよび OT-I マウスに植皮し、拒絶反応を検討したところ、野生型マウスは 24 日前後で拒絶し、OT-I マウスでは８日で拒絶がみられた。K5-mOVA の皮膚を拒絶した野生型マウスのリンパ節細胞を用いて cytotoxic assay を行ったところ、OVA 抗原を発現する細胞株に対する細胞傷害性が検出された。2．OT-I リンパ節細胞を K5-mOVA マウスに移入したところ、7 日目には OT-I 細胞は皮膚へ浸潤し、表皮角化細胞の apoptosis がみられた。移入前に K5-mOVA マウスに 5Gy の放射線照射を行うと、照射しない場合に比べ、皮膚症状は顕著になり、臨床的に重症型 GVHD や中毒性表皮壊死（TEN）などでみられる全層性表皮壊死を呈した。皮膚所属リンパ節では移入後 24 時間から OT-I 細胞の分裂がみられ、それらは $CD44^{high}$、$CD45RB^{low}$ の活性化リンパ球の表面マーカーを発現していた。K5-mOVA マウスに移入された OT-I 細胞は、腸管膜リンパ節ではほとんど検出されず、皮膚所属リンパ節に特異的に集積（homing）し、分裂増殖していた。3．MHC class I 分子 K^b の変異体で、OT-I 細胞に OVA 抗原を抗原提示できないことが知られている B6.C-H-2^{bm1}(bm1)マウスを用いて、K5-mOVA マウスの骨髄キ

メラマウスを作製し、それらに OT-I 細胞を移入した。bm1 マウスの骨髄を移入した K5-mOVA(B6)マウスでは皮膚所属リンパ節で OT-I 細胞は分裂しなかった。逆に、B6 マウスの骨髄を移入した K5-mOVA(bm1)マウスでは OT-I 細胞の分裂を認めた。

【総　括】K5-mOVA マウスの表皮に発現する OVA 抗原は、野生型マウスの免疫系に認識され、細胞傷害性 T 細胞を誘導することで、拒絶されることがわかった。K5-mOVA マウスに移入された OT-I 細胞は皮膚所属リンパ節で分裂、活性化した後、表皮へ浸潤し、表皮角化細胞の apoptosis を引き起こした。この皮膚特異的自己免疫疾患モデルにおいて、皮膚所属リンパ節での OT-I 細胞の分裂は、表皮角化細胞の MHC class I 分子には非依存性で、骨髄由来細胞の MHC class I 分子依存性であった。これらの結果より、表皮自己抗原が骨髄由来抗原提示細胞により自己反応性 T 細胞に提示される、いわゆる cross-presentation が病態形成に重要であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では皮膚自己抗原のモデルとしてケラチン５プロモータ下にニワトリの卵白アルブミン（OVA）を発現するトランスジェニックマウス（K5-mOVA）を作製した。自己反応性 $CD8^+$ T 細胞のモデルとして K^b 拘束性 OVA 特異的 T 細胞受容体トランスジェニックマウス（OT-I）を用いて、自己免疫皮膚疾患や薬疹、ウイルス性発疹などのモデル動物の樹立を試みた。K5-mOVA マウスの表皮に発現する OVA 抗原は、野生型マウスの免疫系に認識され、細胞傷害性 T 細胞を誘導することで、拒絶された。K5-mOVA マウスに移入された OT-I 細胞は皮膚所属リンパ節で分裂、活性化した後、表皮へ浸潤し、表皮角化細胞の apoptosis を引き起こした。このモデルでは表皮自己抗原が骨髄由来抗原提示細胞により自己反応性 T 細胞に提示される、いわゆる cross-presentation が病態形成に重要であることが示唆された。以上の結果は皮膚特異的自己免疫疾患の発症機序を研究する上で重要な知見であり、学位に値すると考える。