The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Increased anti-oxidative action compensates for collagen tissue degeneration in vitiligo dermis
Author(s)	横井, 一範
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/93037
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	横井 一範
論文題名 Title	Increased anti-oxidative action compensates for collagen tissue degeneration in vitiligo dermis （白斑真皮では酸化ストレス応答が亢進し膠原線維が維持される）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

尋常性白斑は表皮真皮境界部に存在し、メラニン色素を産生するメラノサイトが自己免疫的な機序で消失し、後天性に境界明瞭な脱色素斑を呈する慢性難治性の疾患である。我々は白斑の日常診療において、病変部の皮膚は色素が残存している正常部と比較して皺が少なく張りが保たれていることに気がついた。通常健常人の皮膚においては、紫外線に暴露されるとReactive Oxygen Species（ROS）などが発生して真皮浅層のコラーゲンが分解され、いわゆる光老化をきたす。メラニンによる防御機構のない白斑病変部の表皮は健常部よりさらに強い酸化ストレス状態となっていることが知られており、光老化がより促進されることが予想されるが、日常診療で感じる印象はそれとは矛盾したものであった。そこで白斑の真皮では表皮に生じた酸化ストレス状態に対して代償性に酸化ストレス応答が亢進しており、コラーゲンの恒常性が維持されているではないかという仮説を立てそれを証明することを目的に研究を遂行した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

正常部と病変部より分離培養した真皮線維芽細胞を用いてsingle-cellおよびbulkのRNAシークエンス解析を実施し、病変部では抗酸化酵素の発現およびコラーゲン関連の遺伝子の発現が上昇していることを見出した。白斑病変部とその近傍の色素が残存している健常皮膚の生検組織を電子顕微鏡で観察すると、健常部と比較して白斑病変部で表皮直下の真皮においてより緻密にコラーゲン線維が増生していた。次に、真皮のコラーゲンを分解する主要な酵素であるマトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)1,3および9の培養線維芽細胞における分泌を培養上清中で定量し健常部と病変部で比較した。いずれのタイプのMMPも白斑部の培養線維芽細胞の上清中で著明に減少していることが確認できた。白斑真皮の酸化ストレス状態を評価するために、白斑病変部とその近傍の健常皮膚の生検組織において、皮膚に沈着する代表的な酸化ストレス物質であるアクロレイン付加体タンパクを免疫組織化学で染色し、ImageJを用いて定量を行ったところ、特に露光部の白斑皮膚でアクロレインの沈着が有意に低下していた。また、露光部皮膚を解析した白斑患者の罹病期間とアクロレイン沈着の低下には相関関係が認められた。さらに、*in vitro*の実験として、健常部及び白斑病変部の培養線維芽細胞に過酸化水素を添加し、蛍光抗体試薬で細胞内に蓄積されたアクロレインを標識し定量したところ、30μMで健常部由来の線維芽細胞ではアクロレインの沈着が増加したのに対して、病変部由来の線維芽細胞ではその沈着が抑制されていた。また、定量的PCRで複数の主要な抗酸化酵素の発現を解析すると、白斑線維芽細胞でスーパーオキシドディスムターゼ3やグルタチオンペルオキシダーゼ3などの発現増加が確認された。これらの変化が起こるメカニズムとして、酸化ストレス応答において非常に重要な役割を果たしているNRF2シグナル伝達経路が活性化していることを予想し、線維芽細胞を用いてウエスタンブロットを施行した。その結果、NRF2シグナル伝達経路に関連するp62, リン酸化p62およびNRF2のタンパク発現が白斑病変部の線維芽細胞で有意に亢進していることが確認された。またリン酸化した活性型NF-κBの発現は白斑線維芽細胞で低下している傾向を認め、MMPの上流に位置するNF-κB経路の活性化は抑制されていることが示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

白斑病変部の真皮由来の線維芽細胞では近傍の色素の残存した健常部由来の線維芽細胞と比較して、抗酸化酵素の発現が亢進しており、コラーゲンを分解するMMPの発現が低下する一方、コラーゲンの産生に関与する遺伝子の発現が亢進していることを見出した。また、白斑真皮では表皮直下に緻密なコラーゲン線維が存在し、酸化ストレス物質の沈着が有意に低下していることを実証した。さらに抗酸化酵素発現が亢進する機序として、NRF2シグナル伝達経路が活性化していることを確認した。露光部の白斑病変部において真皮の酸化ストレス物質の沈着低下が罹病期間と相関することから、これらの変化は病変部の酸化ストレス状態に対して代償性に生じているものと考えられた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　横井　一範

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	藤本　孝
	副　査	大阪大学寄附講座教授	玉井　克人
	副　査	大阪大学教授	保仙　直毅

論文審査の結果の要旨

本論文は、白斑の臨床経験に基づいて生じた、「白斑の病変部は光老化が進行しそうな露光部位であっても若々しく保たれているのではないか」という疑問に対して、科学的に病変部真皮で起こっている現象を明らかにしたものである。白斑真皮上層では、コラーゲン線維が密に維持されており、コラーゲン産生の亢進、及びマトリックスメタロプロテイナーゼによるコラーゲン分解の抑制の両方が起こっていることを実証した。さらに酸化ストレス物質アクロレインの病変部真皮への沈着が低下していることを証明し、抗酸化酵素の発現が病変部の真皮線維芽細胞で亢進していることを明らかにした。その機序としてNRF2シグナル伝達経路の活性化が起こっていることを確認した。臨床経験に基づいたユニークな着眼点から、白斑病変部の真皮における特徴的な変化を新たに見出し、ヒト由来の検体のみを用いて論理的に証明した研究であり、博士（医学）の学位授与に値する。