

京都大学	博士（医学）	氏名	中川 雄 仁
論文題目	A Phenotypic Analysis of Involucrin-Membrane-Bound Ovalbumin Mice after Adoptive Transfer of Ovalbumin-Specific CD8 <sup>+</sup> T Cells （ OVA 特異的 CD8 陽性 T 細胞の移入による involucrin-mOVA マウスの表現型解析 ）		
（論文内容の要旨） 皮膚における自己免疫反応あるいは末梢性免疫寛容の機序を研究するため、これまでにいくつかのトランスジェニックマウスが作製・使用されてきた。ケラチン 5 (K5) あるいはケラチン 14 (K14) は表皮角化細胞の基底層で発現するが、これらのプロモーター下に膜結合型卵白アルブミン (mOVA) を組み込んだ K5-mOVA および K14-mOVA マウスなどである。これらのマウスでは表皮特異的に mOVA が発現し、OVA 特異的 CD8 陽性 T 細胞 (OT-I 細胞) の移入により様々な表現型を呈する。しかし、これまでのマウスは皮膚炎を誘導すると進行性の体重減少が生じたり、皮膚炎を誘導するためにガンマ線照射やテープストリッピングといった追加処置が必要であったりと、皮膚炎への二次的な影響が懸念された。 こうした背景から、表皮有棘層特異的に発現するインボルクリン (Ivl) のプロモーターを用いて、その下流に mOVA を組み込んだトランスジェニックマウス (Ivl-mOVA マウス) を新規に作製し、OT-I 細胞の移入後に生じる皮膚を標的とした自己免疫・末梢性寛容についての表現型解析を行った。 まず、Ivl-mOVA マウスが表皮特異的に mOVA を発現していることを、免疫組織化学および定量的逆転写 PCR により確認した。そして、OT-I 細胞を移入したところ、皮膚所属リンパ節において OT-I 細胞は抗原特異的に増殖していた。移入後の経過を観察すると、マウスは約 1 週間で追加処置を必要とせず皮膚炎を自然発症し、その後の体重減少もみられないことが半明した。病理組織学的には苔癬様反応に類似した所見を呈し、CD8 陽性 T 細胞による表皮角化細胞の壊死を示していた。皮膚には多くの OT-I 細胞が浸潤しており、インターフェロンをはじめとする種々の炎症性サイトカインを産生していた。 これまで、移植片対宿主病 (GVHD) に代表される苔癬様反応を呈する皮膚疾患において、表皮角化細胞死がいつどこで始まるのかは十分に解明されていなかった。そこで次に、OT-I 細胞の皮膚への浸潤過程に注目して解析を行った。赤で蛍光標識した OT-I 細胞を Ivl-mOVA マウスに移入し、皮膚炎発症前後の耳介皮膚を採取して透明化処理後、ライトシート蛍光顕微鏡で観察した。複数のタイムポイントで解析したところ、移入された OT-I 細胞は真皮に出現した後、毛包周囲に集積し、毛包部の表皮からやがて表皮全体へと広がっていた。そして、毛包周囲では OT-I 細胞が真皮樹状細胞とクラスターを形成していることも観察できた。これらの所見から、毛包が真皮の CD8 陽性 T 細胞を引き寄せて、表皮へと浸潤するための入口となっている可能性が示唆された。 OT-I 細胞移入後 2 週間程度で約半数のマウスは死亡したが、生き残ったマウスの皮膚炎はやがて自然治癒した。治癒後も皮膚に浸潤した OT-I 細胞は残っており、制御性 T 細胞の浸潤が増加していた。一方、制御性 T 細胞を除去すると、本来は皮膚炎を発症しないはずの少ない細胞数の OT-I 細胞移入でも皮膚炎を発症したことから、制御性 T 細胞の病態形成および治癒過程への関与が示唆された。 このように本マウスは、薬疹や GVHD といった細胞性免疫が主体となる皮膚疾患の病態モデルとして有用と考えられた。			

（論文審査の結果の要旨）

本研究は、表皮有棘層特異的に発現するインボルクリン (Ivl) のプロモーターの下流に膜結合型卵白アルブミン (mOVA) を組み込んだトランスジェニックマウスを新規に作製し、OVA 特異的 CD8 陽性 T 細胞 (OT-I 細胞) の移入後に生じる皮膚炎の解析を行ったものである。Ivl-mOVA マウスは表皮特異的に mOVA を発現し、OT-I 細胞の移入により皮膚炎を発症した。赤で蛍光標識した OT-I 細胞を移入し、皮膚炎発症前後の耳介皮膚を観察したところ、OT-I 細胞は真皮に出現した後、毛包周囲に集積し、毛包部の表皮からやがて表皮全体へと広がっていた。そして、毛包周囲にて真皮樹状細胞とクラスターを形成していた。これらの所見から、毛包が真皮の CD8 陽性 T 細胞を引き寄せて、表皮へ浸潤するための入口となっている可能性が示唆された。移入後 2 週間程度で約半数のマウスは死亡したが、生き残ったマウスの皮膚炎はやがて自然治癒した。治癒後も皮膚に浸潤した OT-I 細胞は残っており、制御性 T 細胞の浸潤が増加していた。一方、制御性 T 細胞を除去すると、本来は皮膚炎を発症しないはずの少ない細胞数の移入でも発症したことから、制御性 T 細胞の病態形成および治癒過程への関与が示唆された。

以上の研究は表皮に対する細胞傷害性の免疫反応の機序解明に貢献し、今後の皮膚における自己免疫反応あるいは末梢性免疫寛容の研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 11 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降