

## 論文の内容の要旨

論文題目 接触皮膚炎における  $\beta_7$  integrin の関与

指導教員 玉置邦彦教授

東京大学大学院医学系研究科

平成16年4月進学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 大松華子

リンパ球の体内循環は生体内での免疫応答に極めて重要である。すなわち、骨髄や胸腺等の一次リンパ組織で産生されたナイーブなリンパ球は血中に移行し、脾臓や末梢リンパ節などの二次リンパ組織を循環する。その後ナイーブなリンパ球の一部は脾臓や末梢リンパ節などにおいて抗原提示を受けて主としてエフェクター細胞となり、皮膚、肺、腸管などの末梢組織へと移行し、免疫を司る。このようにリンパ球が体内を移動することにより、免疫の最前線である末梢組織が、その所属リンパ組織と協奏して免疫応答が成立する。また、生体内においてある特定の抗原に対する抗原特異的リンパ球はごく少数しか存在しないが、このリンパ球の循環により抗原との反応が能率よく行われる。このようにリンパ球が生体内を移動するために重要な働きを担っているものとして細胞接着分子が知られている。例えば、リンパ球が血液中から血管内皮細胞を通り抜けリンパ組織に移行するためには、リンパ組織に存在する高内皮細静脈

(high endothelial venule: HEV)を通過する必要があるが、その際、リンパ球表面上に発現している接着分子と、血管内皮細胞上に発現しているリガンドとの相互作用が重要な役割を担っている。

細胞接着分子とは細胞表面に存在して細胞同士、あるいは細胞と細胞外基質との接着に関与する分子群の総称であり、これらのリガンドは限られた組織のみに発現している場合が多い。その結果、特定の接着分子を発現する細胞は、自分の相手となるリガンドを発現している特定のリンパ組織に移動する傾向を示す。細胞接着分子は構造上の特徴からいくつかのファミリーに分類されている。その中の一つであるインテグリンファミリーは、 $\alpha$ サブユニットと $\beta$ サブユニットからなるヘテロ二量体構造をもつ膜蛋白質である。これらの $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖は特定の組み合わせからなり、 $\beta_7$  integrin は $\alpha_4$ 鎖もしくは $\alpha_E$ 鎖とのみヘテロダイマーを形成する。 $\alpha_4\beta_7$  integrin は大部分のリンパ球、好酸球、肥満細胞等、幅広く血球細胞に発現する。リガンドとしては mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1)、vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)、fibronectin が知られている。 $\alpha_4\beta_7$  integrin の主たるリガンドである MAdCAM-1 は免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、腸管のパイエル板や腸管膜リンパ節の高内皮細胞静脈および腸管粘膜固有層の血管内皮細胞に発現している。VCAM-1 は炎症などにより活性化した血管内皮細胞に発現している。fibronectin は細胞外マトリックスの構成成分の一つであり、血液、血漿中にも可溶性分子として存在している。

$\alpha_4\beta_7$  integrin は MAdCAM-1 と結合することにより、主にリンパ球のパイエル板や腸管膜リンパ節への移行を司る。このため  $\beta_7$  integrin が欠損すると、欠損リンパ球はパイエル板に移行できず、その結果  $\beta_7$  integrin 欠損マウスのパイエル板は有意に小さい。一方、 $\alpha_E\beta_7$  integrin は皮膚や腸管などにおける上皮細胞間リンパ球 (intraepithelial lymphocyte: IEL) など一部のリンパ球や樹状細胞に発現している。 $\alpha_E\beta_7$  integrin のリガンドとしてはカドヘリンファミリーに属する E-カドヘリンが知られ、

種々の臓器の上皮細胞に発現している。その結果、 $\alpha_E\beta_7$  integrin は IEL や上皮に存在する樹状細胞の retention に関与すると考えられており、 $\alpha_E\beta_7$  integrin が欠損すると、マウス皮膚に存在する dendritic epidermal T-cell が減少する。

接触皮膚炎は大別して、一時刺激性接触皮膚炎とアレルギー性接触皮膚炎とに分けられる。一時刺激性接触皮膚炎とは非特異的な刺激物の塗布により塗布部に炎症が惹起される反応を指し、浸潤細胞の大部分は好中球である。一方、アレルギー性接触皮膚炎とは個体がある抗原に感作されたのちに、再び同一抗原を投与された際におこる反応であり、感作相と惹起相からなる。感作相では皮膚の樹状細胞が抗原を取り込み成熟化し、皮膚から輸入リンパ管を経て所属リンパ節まで移動する。所属リンパ節においては抗原提示を受けたナイーブな T 細胞が活性化して増殖し、エフェクター T 細胞やメモリー T 細胞に分化する。惹起相では抗原塗布部の皮膚に、抗原特異的なエフェクター T 細胞が遊走し、サイトカイン産生といった炎症反応が生じ、臨床的に“かぶれ”として観察される。

$\beta_7$  integrin の腸管免疫への関与に関しては様々な検討が行われている。例えば GVHD の腸症状は  $\alpha_4\beta_7$  integrin を発現するリンパ球の浸潤に依存し、これらの細胞の移行を制御することが治療のターゲットになると考えられる。一方、皮膚における  $\beta_7$  integrin の関与についてはほとんど知られていない。しかし近年、皮膚に感作物質である oxazolone を塗布すると、一時的に所属リンパ節の HEV で  $\alpha_4\beta_7$  integrin の主たるリガンドである MAdCAM-1 の発現が亢進するという報告や、真皮のリンパ管で VCAM-1 の発現が亢進するという報告がみられた。加えて、接触皮膚炎患者の皮膚で惹起後早期に血管内皮細胞に fibronectin が発現するという報告もみられ、 $\beta_7$  integrin が皮膚免疫に関与する可能性が示唆された。そこで今回我々は  $\beta_7$  integrin 欠損マウスを用いて接触皮膚炎反応につき検討し、 $\beta_7$  integrin の皮膚免疫における機能を解析することにした。

croton oil による一次刺激性接触皮膚炎は、野生型マウスと  $\beta_7$  integrin 欠損マウスで差を認めなかった。しかしアレルギー性接触皮膚炎は、感作物質によらず野生型マウスと比較して  $\beta_7$  integrin 欠損マウスでは減弱していた。 $\beta_7$  integrin 欠損マウスで認められたアレルギー性接触皮膚炎の減弱が、 $\alpha_E\beta_7$  integrin と  $\alpha_4\beta_7$  integrin いずれの欠損が原因で生じているのかを調べるために  $\alpha_E$  integrin 欠損マウスを用いたところ、 $\alpha_E$  integrin 欠損マウスと野生型マウスとでアレルギー性接触皮膚炎に差を認めなかった。 $\alpha_E$  integrin 欠損マウスでは  $\alpha_E\beta_7$  integrin のみが欠損しているため、 $\beta_7$  integrin 欠損マウスで認められたアレルギー性接触皮膚炎の減弱は  $\alpha_4\beta_7$  integrin の欠損が原因と考えられた。引き続き  $\beta_7$  integrin 欠損マウスを用いてアレルギー性接触皮膚炎の各段階につき検討したところ、 $\beta_7$  integrin が欠損しても表皮の樹状細胞は減少せず、表皮に存在する樹状細胞の抗原取り込み能、皮膚における移動、皮膚から所属リンパ節への移動に異常はみられなかった。加えて  $\beta_7$  integrin が欠損した樹状細胞は、所属リンパ節に存在する T 細胞に対して正常な抗原提示能を有していた。

所属リンパ節に存在する T 細胞は、 $\beta_7$  integrin が欠損しても抗原感作されたのちに抗原刺激に対して増殖する能力に障害を生じておらず、惹起部位に存在すれば正常に機能した。しかし  $\beta_7$  integrin が欠損すると、惹起相における活性化 T 細胞の皮膚への移動が障害されていた。一方、活性化した T 細胞が皮膚に浸潤したのちの惹起相の反応は、 $\beta_7$  integrin が欠損しても障害されなかった。既にアレルギー性接触皮膚炎の惹起相において皮膚の血管内皮細胞に VCAM-1 や fibronectin が発現することが知られている。以上より  $\beta_7$  integrin が欠損すると、 $\alpha_4\beta_7$  integrin を発現する抗原特異的な活性化 T 細胞と VCAM-1 もしくは fibronectin の相互作用が阻害された結果、皮膚への浸潤が障害され、アレルギー性接触皮膚炎が減弱すると考えられた。 $\beta_7$  integrin を標的とすることで、皮膚への細胞浸潤が病因となる疾患を制御できる可能性が示された。