

Title	Conformational epitope mapping of antibodies against desmoglein 3 in experimental murine pemphigus vulgaris.
Sub Title	天疱瘡モデルマウスにおけるデスモグレイン3抗原の3次元エピトープ解析
Author	安西, 秀美
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.15-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050302-0015

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Conformational epitope mapping of antibodies against desmoglein 3 in experimental murine pemphigus vulgaris.

(天疱瘡モデルマウスにおけるデスモグレイン3抗原の3次元エピトープ解析)

安西 秀美

内容の要旨

尋常性天疱瘡 (PV) は、カドヘリン型細胞接着分子デスモグレイン3 (Dsg3) に対するIgG自己抗体による自己免疫性水疱症である。ヒトPV患者の抗Dsg3 IgG自己抗体の主要エピトープは、細胞間接着機能上重要である細胞外N末領域(1-161)にある事が既に示されている。

Dsg3に対する免疫寛容が成立していないDsg3-/-マウスを、マウスデスモグレイン3 (mDsg3) で免疫すると抗Dsg3 IgG抗体を産生する。このDsg3-/-マウスの脾細胞を、Dsg3を発現する免疫不全マウスRag2-/-マウスに移植すると、持続的に抗mDsg3 IgG抗体が産生され、PVの表現型(水疱・びらん・脱毛等)を呈する。Dsg3-/-マウス由来の非免疫ナイーブ脾細胞を移植した場合も、同様のPVの表現型を呈する。本研究では、免疫脾細胞およびナイーブ脾細胞を用いたPVモデルマウスにおける抗mDsg3抗体のエピトープの局在と病原性を明らかにする事を目的とした。

mDsg3とその類似分子mDsg1間のスワッピング分子を作成、これらに対するPVモデルマウス血清の反応性をCompetition ELISAにより検討した。対象血清は、免疫脾細胞を用いたPVモデルマウス53例、ナイーブ脾細胞を用いたPVモデルマウス56例とした。更に、mDsg3細胞外領域のN末側及びC末側に対する抗体の病原性を比較する為、N末側アミノ酸残基1-162及びC末側アミノ酸残基403-565による免疫脾細胞を用いたモデルマウスの表現型を比較検討した。

その結果、mDsg3細胞外C末領域(195-565)に対する抗体産生が、免疫脾細胞を用いたPVモデルマウス53例中51例(96.2%)、ナイーブ脾細胞を用いたPVモデルマウス56例中45例(80.4%)で認められた。一方、N末領域(1-162)に対しては、免疫脾細胞を用いたPVモデルマウス53例中3例(5.7%)、ナイーブ脾細胞を用いたPVモデルマウス56例中8例(14.3%)で認められた。又、C末側アミノ酸残基による免疫脾細胞を用いたモデルマウスでは、PVの表現型と抗体産生がN末側アミノ酸残基のものと同等に或いは若干顕著に認められた。

本研究により、PVモデルマウスでは、ヒトPV患者とは異なり、mDsg3細胞外C末領域に対し抗体産生が高率に認められ、これらC末領域に対する抗体も水疱形成を誘導し病原性がある可能性が示唆された。

論文審査の要旨

尋常性天疱瘡(以下PV)は、カドヘリン型接着分子であるデスモグレイン(Dsg)3に対するIgG自己抗体を主体とする自己免疫性水疱症であり、そのIgG自己抗体の主要抗原エピトープはDsg3細胞外領域N末側にあることが最近のヒトDsg1/Dsg3間のスワッピング分子を用いたcompetition ELISAによって示されている。本研究では、本教室で自己抗原ノックアウトマウスを用いて作成された2種のPVモデルマウスにおけるDsg3の3次元エピトープの分子上局在とその細胞外領域C末側に対する抗体に病原性があるか否かを検討した。その結果、PVモデルマウスにおいてはヒトPV患者とは異なり主としてDsg3細胞外領域C末側に対するIgG抗体が高率に産生されており、これらC末側に対する抗体にも病原性がある可能性が示唆された。

審査ではまず実験に使用した2種のモデルマウスの特性やデスモグレインを含む細胞接着分子またこれまでの本研究に関連した実験データ更にはヒト天疱瘡の抗体、水疱形成と接着分子などについて基本的な質問があり申請者から明確な回答があった。ついでスワッピング分子において糖鎖修飾の有無と抗原性への影響はないかとの質問についてはDsgの機能は糖鎖independentといわれているが、N末側に糖鎖のサイトがあるので全く独立か否かについての証明はえられてはいないと説明され了解された。また、スワッピング分子がDsgの細胞外ドメインの切れ目と一致していない点に関してはヒトでの検討と条件を合わせたためと説明され了解された。すでにヒトPVの自己抗体の主要抗原エピトープはDsg3のN末側にあるとわかっているのにモデルマウスの抗体を検索した理由については、新たに作成されたモデルマウスの免疫学的な性状を明らかにするためであったと説明された。今回の研究は患者およびモデルマウスの多数例の解析による傾向からの考察であるが、患者においてはC末側と反応する抗体のみを有する症例があるかとの問いに対しては10%以下の症例に認められると回答された。またキメラのコンストラクトが本当に三次元構造を保っているかとの質問には、やはり構造の変化する可能性は否定できないと回答され了解された。Competition ELISAのコントロールの取り方、キメラのコンストラクトで免疫した場合に得られる抗体プロファイルの分析結果などについても質問があった。申請者の観察したモデルマウスの抗原エピトープの病期による変化も興味深い現象であるとの指摘があった。

以上のように、本研究は要検討あるいは改善すべき点をいくつか残しているが、新たな手法を用いて作成された、自己の成分に対する抗体を持続的に産生するPVモデルマウスにおける三次元エピトープを解析しDsg3細胞外領域C末側に対する抗体の病原性の可能性を初めて検討したもので、今後難治性疾患であるPVの解明、さらには自己免疫疾患の詳細な発症機序解明へ向けて、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 皮膚科学 西川 武二
微生物学・免疫学 小安 重夫 微生物学・免疫学 石川 博通
病理学 岡田 保典
学力確認担当者：北島 政樹、小安 重夫
審査委員長：小安 重夫

試問日：平成16年12月13日