慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	IgG Binds to Desmoglein 3 in Desmosomes and Causes a Desmosomal Split Without Keratin Retraction in a Pemphigus Mouse Model.
Sub Title	天疱瘡モデルマウスにおいて、IgG自己抗体はデスモソーム内のデスモグレイン3に直接結合し、ケラチン線維の退縮をともなわずにデスモソームを半割する
Author	清水, 篤(Shimizu, Atsushi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.31-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0031

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.

IgG Binds to Desmoglein 3 in Desmosomes and Causes a Desmosomal Split Without Keratin Retraction in a Pemphigus Mouse Model.

（天疱瘡モデルマウスにおいて、IgG自己抗体はデスモソーム内のデスモグレイン３に直接結合し、ケラチン線維の退縮をともなわずにデスモソームを半割する。）

清　水　　篤

内容の要旨

PV水疱発生機序の免疫電顕的解析

PVの標的抗原はデスモソーム（DM）に存在するカドヘリン型接着蛋白の一つDsg3である。これまでの研究から、PV自己抗体がDM上に特異的に結合することが免疫電顕的に明らかにされてきたが、実際に生体内（*in vivo*）に沈着するIgG自己抗体の微細局在は不明であり、またPV水疱発生機序についても十分に解明されていなかった。

PVモデルマウスは（J Clin Invest 105:625-631, 2000）、PV標的抗原であるDsg3を発現していないDsg3ノックアウト（-/-）マウスが、自己に対する免疫寛容が成立していない事実を利用し、Dsg3-/-マウスをマウス組み替えDsg3（rDsg3）にて免疫し、その脾細胞を、正常にDsg3を発現する免疫不全マウス（Rag2-/-マウス）に移植することで、*in vivo*で持続的に抗Dsg3抗体を産生し、病理組織学的、電顕的にヒトPVに特徴的な表現型を呈する疾患モデルである。本研究では、本疾患モデルを用いて免疫電顕的な解析を行った。方法として、現在、抗原性および形態の保持に最も優れた手法である、急速凍結固定および凍結置換法を用いた後包免疫電顕法を用いた。

その結果、*in vivo*に沈着するIgG自己抗体はDM細胞外領域に特異的に局在し、生体内に存在するDsg3の局在と一致することを突き止めた。さらに、PVの特徴的な所見である基底細胞直上での棘融解部の上面において、半割したDMの細胞外領域にIgG自己抗体が沈着していること、非棘融解部および棘融解部の基底細胞側面においては、接着板やケラチン線維が退縮しているにもかかわらず、その細胞外領域にIgG特異的な沈着を認めること、を発見した。これまでに、PVの水疱発生機序には３つの機序、すなわち、（1）Dsg3へPV自己抗体が直接結合することでDsg3分子の細胞接着能が障害されるとする説（直接阻害説）、（2）細胞膜上にプールされているDsg3がIgG自己抗体と結合し細胞質内に取り込まれ、DMからDsg3が枯渇しDMの接着が障害されるとする説（Dsg3枯渇説）、（3）IgGがDsg3と結合することで、何らかのシグナル伝達が生じ細胞接着が障害される説（ケラチン退縮説）、が考えられてきた。しかし、実験の結果*in vivo*においてIgG自己抗体はDMに存在するDsg3に直接到達し結合し得ること、棘融解部上面での半割DMの細胞外領域にIgGは結合し残存していること、ケラチン線維の退縮を認めるにもかかわらず、基底細胞側面では細胞接着が維持されていること、などから（2）の機序であるDsg3のDMからの枯渇は水疱発生機序において否定的であること。ケラチン線維の退縮は棘融解部および非棘融解部においても認められることから、（3）の説であるケラチン退縮は*in vivo*において認められるものの、水疱発生の機序として重要なイベントとは考えにくいこと。そして、IgG自己抗体が標的抗原に直接結合し、細胞接着能を阻害することが、PV水疱発生機序において最も重要であることを明らかにした。

論文審査の要旨

自己免疫性水疱性疾患である尋常性天疱瘡（PV）の標的エピトープであるデスモグレイン３（Dsg3）の超微細局在が、デスモソーム（DM）細胞外領域にあることはこれまで免疫電顕的に示されてきたが、in vivoでのPV自己抗体（IgG）結合部位の局在の解析はなされていない。本研究では、PVモデルマウスを用いて、in vivoでのIgG沈着部位の超微細局在およびDsg3にIgGが結合した後のDMの変化を免疫電顕的に解析し、PV水疱発生機序の検討を行った。結果、IgGはDM外縁だけでなく、DM内側の標的エピトープに到達可能であることが示された。また、棘融解部の基底細胞上面では、ケラチンに裏打ちされたままDMの接着面で分割された、半割DMの細胞外領域にIgGの沈着が認められた。一方、棘融解部および非棘融解部の基底細胞側面では、DMの接着板からケラチンが細胞内へ退縮し、接着板を消失したDM様構造が観察された。以上から、PVの水疱形成はIgGのDsg3細胞接着能の直接阻害により引き起こされていることが推測され、PV水疱形成部位において基底細胞上面と側面で形態的に異なるDMが認められることを初めて記載した。

審査では、Dsg3にIgG結合後、Dsg3細胞外領域が何らかのプロテアーゼにより切断される可能性について質問された。既知の報告により、水疱形成誘導能を有し、Dsg3細胞外領域N末端を認識するモノクローナルIgG（AK23）のハイブリドーマ細胞を腹腔内投与したマウスの水疱形成部の免疫電顕から、半割DM外面にAK23の沈着を認めたことから、少なくとも一部のDsg3は切断されることなくDMに存在していることが示唆されると回答された。また、Dsg3はAK23と結合した後、切断されることなくAK23と共に細胞内に取り込まれる点について補足され、今後、Dsg3のプロテアーゼによる消化については検討が必要であるとの助言がなされた。次に、DMからのケラチン退縮および半割DMの形成機序について説明が求められた。基底細胞は基底膜により真皮と強力に固定されているため、基底細胞側面のDMは上面に比べ外力による影響が少なく、Dsg3にIgG結合後、何らかのシグナル伝達によりケラチン退縮が生じるのに十分な時間、細胞接着を保ったまま存在していると考えられる。一方、上面ではDsg3へのIgG結合により細胞接着能の弱くなったDMが、ケラチン退縮を生じる前に外力の影響を受け半割してしいるものと推察されると回答された。また、DM様構造が、抗体結合後のシグナルによるケラチン退縮により形成されるのであれば、PV標的抗原を欠損したDsg3-/-マウスではDM様構造が形成されないのかとの質問に対し、DM様構造が形態的に正常の細胞膜と区別がつかず、Dsg3の免疫染色ができないDsg3-/-マウスにおいて特定するのは困難であることを説明し、審査を終えた。

以上、本研究ではさらに検討されるべき課題は少なからずあるものの、in vivoでのIgG結合部位の超微細局在を免疫電顕的に初めて詳細に解析した論文であり、PV水疱発生機序の解明のため価値ある研究として評価された。

論文審査担当者　主査　皮膚科学　天谷　雅行
微生物学・免疫学　小安　重夫　　病理学　岡田　保典
微生物学・免疫学　石川　博通
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17年 8月24日