

## 天疱瘡抗原に対する中枢性、末梢性免疫寛容機構の解明 Clarification of the molecular and cellular mechanisms of central and peripheral tolerance to pemphigus autoantigen

天谷 雅行 (AMAGAI MASAYUKI)

慶應義塾大学・医学部・教授



### 研究の概要

本研究では、自己免疫性皮膚疾患である尋常性天疱瘡(PV)の標的抗原、デスモグレイン3(Dsg3)に反応性のT細胞トランスジェニックマウスを作成し、Dsg3に対する中枢性および末梢性免疫寛容機構獲得機序を解析するとともに、自己反応性T細胞の関与する疾患病態を明らかにする。さらに、胸腺に代わる免疫制御臓器としての皮膚の新たな機能を解明する。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚免疫学

### 1. 研究開始当初の背景

天疱瘡は、カドヘリン型細胞間接着因子デスモグレイン(Dsg)に対するIgG自己抗体により誘導される自己免疫性水疱性疾患である。我々は、20年来の研究成果の蓄積として、天疱瘡抗原のcDNAクローニング(1991)、組換えDsg抗原の作成(1994)、ELISA法の構築(1997)、天疱瘡モデルマウスの作成(2000)、抗Dsg3モノクローナル抗体の単離(2003)、Dsg3反応性T細胞クローンの単離(2008)と、病的自己抗体産生機序を解明するためのツールを着実に揃えており、自己免疫疾患発症機序の解明を目指して、一歩ずつ歩を進めてきている。

### 2. 研究の目的

本研究では、自己免疫性皮膚疾患である尋常性天疱瘡(PV)の標的抗原、デスモグレイン3(Dsg3)に対する中枢性および末梢性免疫寛容機構獲得機序を解析し、自己反応性T細胞の関与する病態を明らかにするとともに、免疫寛容に関わる皮膚樹状細胞の役割、および胸腺に代わる免疫制御臓器としての皮膚の新たな機能を解明する。

### 3. 研究の方法

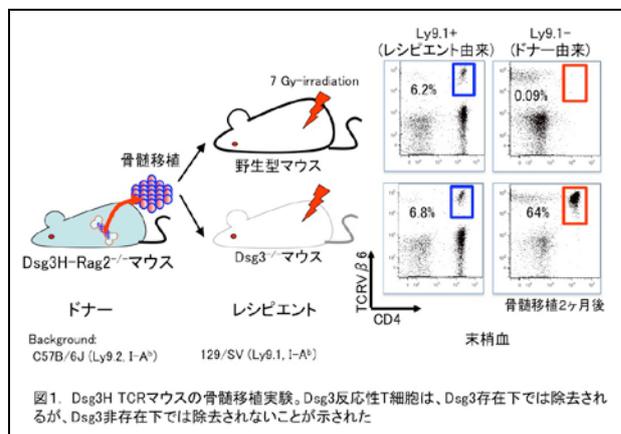
同一のDsg3ペプチドを認識するが高親和性(H)と低親和性(L)を示すT細胞受容体(TCR)、および別のペプチドを認識するTCR(M)の合計3つのTCRについてDsg3-TCR Tgマウスを作成する。作成されたDsg3 TCR Tgマウスの骨髄細胞を、野生型マウス(Dsg3存

在下)およびDsg3<sup>-/-</sup>マウス(Dsg3非存在下)に移植(BMT)し、Dsg3反応性T細胞の胸腺、末梢リンパ組織における運命を検討する。Dsg3を発現しない胸腺において分化、成熟したDsg3H T細胞により誘導される病態を解析する。

### 4. これまでの成果

#### 1) Dsg3反応性T細胞に対する中枢性、末梢性免疫寛容機構の解明

Dsg3ペプチド(Dsg3<sub>301-315</sub>)に対して高親和性を示すTCRから作成したDsg3H-TCR Tgマウスから、野生型マウスとDsg3<sup>-/-</sup>マウスに骨髄移植を行い、2ヶ月後のレシピエントマウスの末梢血を見てみると、Dsg3H CD4<sup>+</sup>T細胞は、Dsg3非存在下(Dsg3<sup>-/-</sup>マウス)では末梢血に認められるにも関わらず、Dsg3存在下(野生型マウス)では消失していることが確認され



た(図1)。この実験結果により、自己免疫疾患における実際の抗原である Dsg3 に対し反応性を示す T 細胞が、Dsg3 を発現しているマウスでは除去され、Dsg3 を発現していないマウスでは除去されない状況を再現したツールを得ることができた。どのような状況において、本来削除されるはずの自己反応性 T 細胞が削除されなくなるのか、胸腺で削除されない自己反応性 T 細胞は末梢において病原性を示すのか、あるいは病原性を封じ込める末梢免疫寛容機構が存在するのか、詳細を検討中である。

## 2) Dsg3 反応性 T 細胞により誘導される病態の検討

Dsg3 非存在下で分化した、胸腺にて除去されず末梢に存在する Dsg3H T 細胞を、Dsg3<sup>-</sup>B 細胞とともに、Rag2<sup>-</sup>マウスに養子移入すると、抗 Dsg3 IgG 抗体が産生されるのみならず、Dsg3 を発現する皮膚、粘膜上皮への Dsg3H T 細胞の直接浸潤、上皮細胞の Apoptosis が認められ、Interface dermatitis が惹起されていた(図2)。Dsg3H T 細胞による Interface Dermatitis の誘導は、IFN- $\gamma$  を介していることが確認された。

Interface Dermatitis は、扁平苔癬、紅斑性狼瘡、多型滲出性紅斑、薬疹など種々の皮

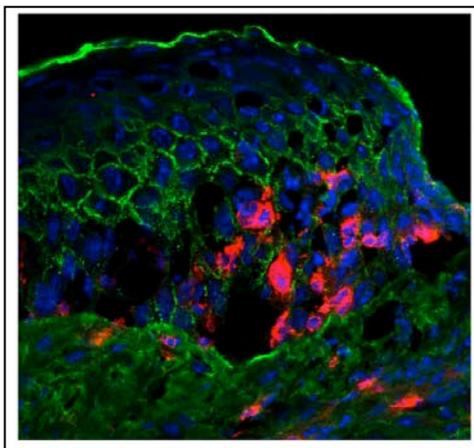


図2. Dsg3非存在下で分化したDsg3H T細胞(赤色)は、抗Dsg3 IgG(緑色)を産生するのみならず、上皮へ直接浸潤し、Interface Dermatitisを誘導した。

膚疾患で認められるが、浸潤している T 細胞の抗原は未同定であり、病態は未解明である。我々は、Dsg3 に対する反応性を担保している系を用いて、Dsg3 反応性 CD4<sup>+</sup>T 細胞が Interface Dermatitis を誘導し得ることを初めて示し、自己反応性 T 細胞が、これらの疾患において重要な役割をしていることが示唆された。Th1 型の Dsg3H T 細胞による Interface Dermatitis モデル系は、Experimental Autoimmune Dermatitis (EAD) としてさらなる病態解明の重要なツールとなる。

## 3) ランゲルハンス細胞による経皮抗原感作機序の解明

活性化したランゲルハンス細胞は表皮タイトジャンクションの外へ樹状突起を延長し、外来抗原を捕捉する。樹状突起先端部からのみ捕捉された黄色ブドウ球菌毒素 (ETA) に対して中和抗体が産生されることを示し、ランゲルハンス細胞は、感染が生じる前に先制防御的な免疫反応を担っていることが示された。

## 5. 今後の計画

病原性を有する Dsg3 反応性 T 細胞に対する末梢性免疫寛容を担う担当細胞および分子を追求する予定である。具体的には、分子としては PD-1/PD-L1, Aire、細胞としてはランゲルハンス細胞、胸腺外 Aire<sup>+</sup>細胞等の関与を検討する。

## 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

- Takahashi H, Kouno M, Nagao K, Wada N, Hata T, Nishimoto S, Iwakura Y, Yoshimura A, Yamada T, Kuwana M, Fujii H, Koyasu S, Amagai M: Desmoglein 3-specific CD4<sup>+</sup> T cells induce pemphigus vulgaris and interface dermatitis in mice. **J Clin Invest** 121 (9), 3677-3688, 2011.
- Ouchi T, Kubo A, Yokouchi M, Adachi T, Kobayashi T, Kitashima DY, Fujii H, Clausen BE, Koyasu S, Amagai M, Nagao K: Langerhans cell antigen capture through tight junctions confers preemptive immunity in experimental staphylococcal scalded skin syndrome. **J Exp Med** 208 (13), 2607-2613, 2011
- Wada N, Nishifuji K, Yamada T, Kudoh J, Shimizu N, Matsumoto M, Peltonen L, Nagafuchi S, Amagai M: Aire-dependent thymic expression of desmoglein 3, the autoantigen in pemphigus vulgaris, and its role in T-cell tolerance. **J Invest Dermatol** 131 (2), 410-417, 2011
- Tsunoda K, Ota T, Saito M, Hata T, Shimizu A, Ishiko A, Yamada T, Nakagawa T, Kowalczyk AP, Amagai M: Pathogenic Relevance of IgG and IgM Antibodies against Desmoglein 3 in Blister Formation in Pemphigus Vulgaris. **Am J Pathol** 179 (2), 795-806, 2011.
- Kubo A, Nagao K, Amagai M: Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. **J Clin Invest** 122 (2), 440-447, 2012

ホームページ等

<http://web.sc.itc.keio.ac.jp/derma/index.html>