

疹部では重症度と相関した。角質層内の BD2 の分布の解析では、AD 患者無疹部ではすべての層において健常人より増加していたが、深さとの関連性は認めなかった。角質層上部の BD2 量の健常人との比較では、AD 患者無疹部ではわずかに、皮疹部では著明に高値を示した。乾癬患者においては、無疹部では健常人より軽度低値、皮疹部では AD 皮疹部よりわずかに高値であった。重症度別の BD2 量は、健常人に比べ、中等症、重症の皮疹部では著明に増加しており、中等症、重症においては皮疹部と無疹部では有意差を認めた。AD 患者における *S. aureus* のコロニー数と BD2 量も相関を示した。

〔考察〕

今回の結果からは、AD の重症化に伴い、*S. aureus* の colonization に対する防御機構の破綻が進行し、かつ BD2 産生は亢進すると考えられる。つまり *S. aureus* の colonization により BD2 産生が亢進し、結果として防御メカニズムが強化されることが示唆された。すなわち BD2 は角質層において、*S. aureus* に対する防御の役割は大きくなく、*S. aureus* の colonization は BD2 の低下からでなく、別の防御機構の破綻から生じると考えた。これまでの報告は乾癬との比較であったが、健常人と比較したことで、AD での正確な評価ができたと考えられる。

〔結論〕

BD2 は *S. aureus* の colonization により誘導され、AD 患者の易感染性とは関係しないことが示唆された。

論文審査の要旨

本論文では、アトピー性皮膚炎患者角質層における抗菌ペプチド β -defensin-2 (BD2) と、*S. aureus* の colonization の関連について、健常人と比較、検討を行っている。方法は、*S. aureus* の定量はプレート接触法により皮表の菌を採取し、コロニー数を計測し、角質層の BD2 の定量は、免疫沈降法とウエスタンブロット法を組み合わせた微量解析法で測定した。その結果より、AD の重症化に伴い *S. aureus* の colonization に対する防御機構の破綻が進行し、かつ BD2 産生は亢進すること、つまり *S. aureus* の colonization により BD2 産生が亢進し、結果として防御メカニズムが強化されることを明らかにした。すなわち、BD2 の *S. aureus* に対する防御としての役割は大きくなく、これまでの見解とは異なり *S. aureus* の colonization は BD2 の低下からでなく、別の防御機構の破綻から生じると結論している。

アトピー性皮膚炎の病態解明における今後の指針を示すものであり、学術的価値の高い研究であると評価した。

氏名	フジ 藤 直 子
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第 2593 号
学位授与の日付	平成 21 年 9 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Survival of skin allografts is prolonged in mice with a dominant-negative H-Ras (H-Ras ドミナントネガティブマウスにおける同種異系皮膚移植の延長効果)
主論文公表誌	Transplant Immunology 第 18 巻 第 4 号 302-306 頁 2008 年
論文審査委員	(主査) 教授 江崎 太一 (副査) 教授 八木 淳二, 吉原 俊雄

論文内容の要旨

〔目的〕

Ras は、21kDa の低分子量 GTP 結合タンパク質で、チロシンキナーゼ型受容体である Lck の下流に位置している。機能的には、細胞内シグナル伝達のスイッチの役割を果たしており、T 細胞の増殖や分化の制御に重要であ

ることが知られている。そこで本研究は、この Ras がアロ抗原刺激による T 細胞反応活性化にどのような機序で関わっているかを解明することを目的とした。

〔対象および方法〕

BALB/c マウス (H-2K^d) をドナー, C57BL/6 (B6) マウス (H-2K^b) または T 細胞特異的 H-Ras ドミナントネガティブトランスジェニック B6 マウス (dnRas) をレシピエントとして使用し, 同種異系皮膚移植を行った。移植前および移植後 30 日目において脾臓細胞による *in vitro* リンパ球混合培養 (MLR), ならびに Popliteal lymph node (PLN) assay による *in vivo* T 細胞増殖測定を行った。さらに, 細胞傷害性 T 細胞の測定として, cytotoxic T-lymphocyte (CTL) assay を行った。

〔結果〕

同種異系皮膚移植において, 正常 B6 マウス群が 7 日で移植片を拒絶したのに対し, dnRas マウスは 15 日であり, 顕著な移植片生着延長効果が認められた。移植前および移植後 30 日目の *in vitro* MLR において, dnRas マウス由来の T 細胞増殖が顕著に低下していた。PLN assay における PLN の重量, 細胞数においても dnRas マウス群では明らかな減少を示した。しかし, CTL assay においては, 両群間に差は認められなかった。

〔考察〕

dnRas マウスを用いた同種異系皮膚移植, *in vitro* および *in vivo* によるリンパ球増殖反応の解析結果から, Ras を介したシグナル伝達を阻害することにより, 主要組織適合抗原を異にする異系動物間でアロ抗原に対する末梢 T 細胞の増殖反応が抑制されることが明らかとなった。これは, T 細胞抗原受容体がアロ抗原を認識しても, Ras のシグナル伝達をブロックすることにより IL-2 産生能が低下し, その結果細胞増殖が抑制されるためであると考えられる。一方で, CTL 活性の抑制効果が全く認められなかったことから, CTL 活性が Ras シグナル伝達とは独立した機構により行われていると考えられる。

〔結論〕

Ras のシグナル伝達をブロックすることにより, 移植皮膚片の生着延長効果がもたらされたことから, 臓器移植拒絶反応の制御を考える上で, これまでの免疫療法に新たな指針を提供するものと考えられた。

論文審査の要旨

本研究は異系マウス間の皮膚移植片の生着について, T 細胞特異的 H-Ras 欠損トランスジェニック遺伝子 (dnRas) の影響を *in vivo* および *in vitro* での T 細胞増殖反応において解析したものである。正常 C57BL/6 (B6) マウスを対照として dnRasB6 マウスで異系 BALB/c マウスをドナーとした皮膚移植, リンパ球混合培養試験 (MLR), 細胞障害性 T 細胞活性試験 (CTL) などを行った。Ras を介したシグナル伝達が阻害された結果, 異系皮膚の生着が延長すると同時に, CTL 以外のアロ抗原に対する T 細胞の活性化反応が顕著に低下した。以上から, Ras を介したシグナル伝達のブロックが異系抗原に対する T 細胞の反応性を抑制し, 移植片の生着を延長することが明らかとなった。

本研究は, 臓器移植における拒絶反応の制御を行う上で, 従来の免疫療法に新たな指針を提供する点で学術的意義の高い論文である。