



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	水疱性類天疱瘡自己抗原である17型コラーゲンの異なるエピトープに対する抗体の病原性解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	和田, 麻友美
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11733号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59268
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mayumi_Wada_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(歯学) 氏 名 和 田 麻 友 美

審 査 担 当 者	主査	教授	北 川 善 政
	副査	教授	鄭 漢 忠
	副査	教授	進 藤 正 信
	副査	教授	清 水 宏 (医学研究科)

学 位 論 文 題 名
水疱性類天疱瘡自己抗原である 17 型コラーゲンの
異なるエピトープに対する抗体の病原性解析

審査は審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。診査論文の概要は以下の通りである。

水疱性類天疱瘡 (BP) は、表皮基底膜のヘミデスモソーム構成分子である 17 型コラーゲン (COL17) と BP230 を標的とする自己免疫性水疱症である。COL17 に対する自己免疫反応が病態形成に重要であり、特に細胞膜近傍、細胞外領域である NC16A に対する自己抗体が水疱形成の主な要因である。一方、NC16A 以外の領域に反応する自己抗体も存在し、類縁疾患である粘膜類天疱瘡 (MMP) では C 末端領域に対する自己抗体を認めることが多い。しかし NC16A 以外に対する自己抗体の病原性は未だ十分に解明されていない。本研究は、エピトープの異なる抗ヒト COL17 マウスモノクローナル抗体 (mAb) を用い、抗原エピトープの違いによる抗 COL17 抗体の病原性について検討した。

C 末端領域に対するモノクローナルマウス IgG (mAb C17-C1) を作製し、NC16A に対する抗体 (mAb TS39-3) と比較検討した。コントロールとして正常マウス IgG1 (mIgG1) を使用した。mAb C17-C1 は、マウスを COL17 全長リコンビナントタンパクで免疫し、抗 COL17 抗体を産生する複数のハイブリドーマの中から C 末端に対するハイブリドーマをクローニングした後、培養上清から精製した。

異なった部位に対する抗体の病原性を解析するため、mAb C17-C1、mAb TS39-3 を新生仔ヒト COL17 発現遺伝子改変 (COL17 ヒト化) マウスにそれぞれ腹腔内投与した。48 時間後、NC16A を認識する mAb TS39-3 を投与したマ

ウスでは皮膚の脆弱性を認めたのに対し、C末端を認識する mAb C17-C1 を投与したマウスでは皮膚の脆弱性は認められなかった。直接蛍光抗体法では、mAb C17-C1、mAb TS39-3 投与マウスの両者とも基底膜に IgG が強く沈着していたが、C3 の沈着は認めなかった。異なる病原性を示した原因を解明するため、mAb C17-C1、mAb TS39-3 を培養正常ヒト表皮角化細胞（NHEK）に反応させ、ウェスタンブロット法を用いて COL17 の発現量を解析した。その結果、mAb TS39-3 は NHEK の COL17 発現量を低下させたのに対し、mAb C17-C1 では発現量の低下は見られなかった。

以上の結果より、COL17 に対する抗体の結合のみでは病変形成に至らず、COL17 に対する自己抗体の病原性は標的となるエпитープの部位によって異なることが明らかとなった。病原性の違いは補体活性化とは無関係であり、細胞膜上の COL17 に抗体が結合後、COL17 の発現量が低下する事象と関連する可能性が示唆された。

論文審査にあたり、論文申請者による研究要旨の説明後、本研究ならびに関連する研究について口頭試問が行われた。主な質問事項は、1)COL17 の詳細な構造および lamina densa との位置関係、2)mAb C17-C1 よりも N 末端側の細胞外領域をエпитープとする抗体ではどのような現象が引き起こされると考えられるか、3)COL17 ヒト化マウスの作製法、4)COL17 発現量低下の機序、5)BP 患者における補体活性化の関与について、6)本研究の今後の展望等であった。これらの質問に対し、申請者から追加研究の結果を交えながら適切かつ明快な回答、説明が得られ、研究の立案と遂行、結果の収集とその評価について申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究は、BP の病変が補体活性化を起因とした炎症反応による COL17 の分解だけでなく、抗原抗体反応の結果起こる COL17 の枯渇化により生じるという機序の可能性を示し、かつエпитープの部位によって現れる病原性も異なることを示唆したものであり、その内容が高く評価された。申請者は、関連分野にも幅広い学識を有していると認められ、さらに発展的研究へのモチベーションも高く将来性についても評価された。本研究業績は病態解明のみならず、BP や MMP の新規治療法開発に寄与することが考えられ、博士（歯学）の学位に値するものと認められた。