

審査の結果の要旨

氏名 三浦 俊介

本研究はブレオマイシン（BLM）誘発性皮膚線維化モデルにおける真皮樹状細胞の役割を、樹状細胞（DC）の機能を制御する鍵分子である CD103 に注目して、ノックアウトマウスを用いた研究などで検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. CD103 欠損は BLM 投与マウスの真皮肥厚と皮膚のコラーゲン含有量を有意に抑制した。また CD103 欠損は細胞外基質に関連した遺伝子である *Col1a1*、*Col1a2*、*Col3a1*、および *Col5a1* 遺伝子および線維化を促進する細胞成長因子である *Tgfb1* および *Ctgf* 遺伝子の mRNA 発現量を有意に抑制し、免疫染色において CTGF 陽性細胞数を減少させた。
2. CD103 欠損は BLM 投与マウスにおいて浸潤する T 細胞、B 細胞、マクロファージ、および肥満細胞数に影響を与えないことが免疫染色で示された。一方で CD103 欠損は同マウスにおいて *Il4* 遺伝子の mRNA 量を有意に抑制し、*Il10* 遺伝子の mRNA 量を有意に亢進することが RT-PCR で示された。またフローサイトメトリーにおいて、皮膚所属リンパ節では Foxp3⁺CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞（Treg）の割合を有意に増加させ、真皮では IFN- γ 、IL-4、IL-17A 産生 CD4⁺T 細胞の割合を有意に減少させる一方で、Treg の割合を有意に増加させることを示した。
3. CD103 欠損自体、および BLM 刺激はマウス真皮および皮膚所属リンパ節の DC 分画を顕著に変化させることをフローサイトメトリーで示した。特に真皮において CD103 欠損は CD11b⁺CD103⁻分画の DC 数を有意に増加させ、さらに BLM 投与はさらに同分画の DC 数を増加させることをフローサイトメトリーで示した。
4. RALDH（レチノイン酸を産生する酵素）の主要なアイソフォーム RALDH1、RALDH2、および RALDH3 について検討し、BLM 投与が局所皮膚 *Raldh2* 遺伝子発現を有意に抑制することが RT-PCR で示された。さらに CD103 欠損は BLM マウスの *Raldh1* 遺伝子発現を亢進すること、および RALDH1 産生真皮 DC の割合が有意に増加すること、さらに CD11b⁺CD103⁻分画の真皮 DC が独占的に RALDH1 を産生することが RT-PCR、フローサイトメトリー、蛍光 2 重免疫染色を組み合わせで示された。以上の結果から、BLM 投与下の皮膚においては、CD11b⁺CD103⁻分画の真皮 DC が RALDH1 発現を介して Treg を誘導することで、皮膚線維化を抑制することが示唆された。
5. BLM 投与前に *Raldh1* siRNA を *in vivo* 投与したところ、*Raldh1* siRNA 投与群

では、BLMを投与したWTおよび*Cd103*^{-/-}マウスの両群とも、*Raldh1* siRNA非投与群と比較してTregの割合が有意に低下することが示された。またsiRNA投与後の2群間のTregの割合に有意差がみられないことが示された。以上の結果は上記仮説を支持する結果であった。

6. ヒト線維性皮膚疾患組織において、RALDH1陽性真皮DC数が、健常人コントロールと比較して低下することがRALDH1とCD11cの蛍光2重免疫染色により示された。特に全身性強皮症患者皮膚組織においては、びまん皮膚硬化型全身性強皮症の皮膚組織の方が、限局皮膚硬化型全身性強皮症の皮膚組織と比較してRALDH1陽性DC数が低下することが示された。以上より、RALDH1産生DCはヒトの皮膚線維化においても役割を担い、RALDH1発現量は線維化の程度と逆相関する可能性が示唆された。

以上、本論文はCD103欠損マウスにおいてBLM誘発皮膚線維化が低下していることを示し、その理由としてCD11b⁺CD103⁺分画の真皮DCが、RALDH1発現を介してTregを誘導していることが関与している可能性を明らかにした。さらに臨床検体を用いた研究で、RALDH1産生真皮DCがヒトの皮膚線維化の過程にも関与する可能性を明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、皮膚線維化における真皮DCの役割の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。