

本研究は全身性強皮症(SSc)の病態形成において重要な意義を有していると考えられる転写因子Fli1の発現低下について、表皮角化細胞、およびそれを含む、広く上皮細胞におけるその発現低下の意義を検討するために行われた。具体的には、SSc患者皮膚検体を用いた検討、および、Cre-loxp系により作成されたケラチン14発現細胞特異的Fli1欠失マウス(Fli1<sup>flox/flox</sup>; K14<sup>cre+/+</sup>マウス; KcKOマウス)を用いた検討により行われ、下記の結果を得ている。

1. SSc 患者の皮膚では表皮角化細胞における Fli1 の発現が著明に低下していた。
2. KcKO マウスの表皮は創傷治癒ケラチン（ケラチン 6、ケラチン 16）の恒常的な発現亢進が見られ慢性的な活性化が認められるのみならず、真皮の炎症細胞浸潤の増加、真皮の肥厚とコラーゲン量の増加、線維化促進的サイトカイン・成長因子の発現亢進が見られ、皮膚の線維化が自発的に生じることが明らかとなった。さらに、その内臓諸臓器の検討では、SSc 患者でもその多くに線維化が出現する下部食道における線維化が見られたのに加え、肺に稠密なリンパ球の集簇像が見られ、自己免疫疾患患者、あるいは自己免疫疾患モデル動物においてしばしば見られる inducible Bronchus-Associated Lymphoid tissue (iBALT) に相当する構造であると考えられた。血清学的な検討でも抗核抗体、抗トポイソメラーゼ I 抗体の出現などが観察され、上記所見と併せて KcKO マウスにおいて強い自己免疫の表現型が出現しているものと考えられた。加えて、SSc においてはその 3 主徴として線維化、免疫異常に加えて血管障害が見られるが、KcKO マウスの皮下血管は血管透過性が亢進し、虫食い状の狭窄や分枝状の血管構造が観察され、血管の異常も有することが示された。
3. KcKO マウスが呈するこれら線維化、免疫異常、血管障害の表現型のうち、非常に強い免疫異常の表現型に着目してさらに検討が行われた。特に、KcKO マウスはケラチン 14 発現細胞に特異的なノックアウトマウスであるが、ケラチン 14 は自己反応性 T 細胞の排除、即ち中枢性免疫寛容(central tolerance)における負の選択 negative selection に決定的に重要な役割を果たす胸腺上皮細胞にも豊富に発現されていることに着目し、胸腺上皮細胞における Fli1 の発現低下がその強い免疫異常の病態の形成に関与しているのではないかとの仮説のもとに検討が行われ、実際に、KcKO マウスにおいては negative selection に決定的に重要な役割を果たす胸腺髄質上皮細胞(medullary Thymic Epithelial Cells; mTEC)において Fli1 の発現低下が認められ、また同時に、mTEC において自己タンパクである末梢組織抗原(Tissue-restricted Specific Antigen; TSA)の発現を制

御するとされる master regulator 遺伝子、Autoimmune Regulator (Aire) 遺伝子の発現が低下していることが明らかとなった。

4. さらに、培養ヒト皮膚表皮角化細胞を用いた *in vitro* での検討により、Fli1 は Aire 遺伝子のプロモーター領域に結合しており、Fli1 が Aire 遺伝子の転写を正に制御していることが示された。
5. Aire 遺伝子についてはもともと mTEC における TSA の転写調節および mTEC の分化成熟についての役割に注目しての報告が圧倒的ではあるが、皮膚を含めた末梢にも発現していて末梢性免疫寛容(peripheral tolerance)の成立に重要な役割を果たしているという報告も存在する。今回、SSc 患者皮膚における Aire 遺伝子の発現について mRNA および免疫組織学的方法により検討が行われ、実際にその発現は SSc 患者において健常人に比較して著明に低下していることが明らかとなり、本症における Fli1 の発現低下が Aire の発現低下を介して自己免疫の成立に寄与している可能性が示唆された。

以上、本研究によって、上皮細胞における Fli1 の発現低下が SSc の主要な 3 病態、すなわち、自己免疫、線維化、血管障害の病態成立に重要な役割を果たしうることがマウスモデルを用いて示された。本研究は、SSc 研究において従来あまり注目されてこなかった表皮角化細胞を含めた上皮細胞が、その病態成立の上で重要な役割を果たす可能性を示しただけでなく、Fli1 と Aire 遺伝子の関係を明らかにすることによって、本症においてなぜ自己に対する免疫応答が成立するのか、という全く未解明であった問題について一つの示唆を与える点で画期的と考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。