

氏 名（本籍） 照 井 正^{ただし}

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 2463 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 9 月 9 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 56 年 3 月 25 日
東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 Stratum corneum activation of complement
through the antibodyindependent alternative
pathway.
(角層による抗体非依存性傍経路を介した補体の
活性化)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 田 上 八 朗 教 授 今 野 多 助

教 授 菅 村 和 夫

論 文 内 容 要 旨

生体を被っている皮膚の最表層にある角層は体内の水分の漏出を防ぐだけでなく、外界からの化学的ならびに物理的的刺激が体内に及ぶことを防ぐバリアーとして作用している。これらの強力なバリアーとしての機能に加えて、角層には起炎作用のあることが報告されている。その角層の近傍に無菌性膿疱を形成するいくつかの皮膚疾患がある。それらの疾患のうち、膿疱性乾癬、掌蹠膿疱症、角層下膿疱症などでみられる膿疱はいずれも角層直下に形成され、また、乾癬で見られる Munro の微小膿瘍は肉眼的に膿疱として見えないが、角層下への好中球の集積に起因する。これらの疾患の病理組織学的所見から、好中球の遊走を引き起こす走化性因子をこの角層が病変部で作成し、膿疱形成ないしは好中球の集積を起こしていることが強く示唆される。さらに、実際これらの疾患の病変部角層抽出液中には白血球走化性因子である C5a アナフィラトキシンの存在が認められることから、白血球遊走現象に補体が関与する可能性、言い替えると角層と血清中の補体が反応して、角層下無菌性膿疱を生じる機序が想定される。表皮ケラチノサイトが分化してできる角層細胞は死細胞で、生体にとっては異物として作用しうるものであり、正常人の誰もが血中に抗角層抗体を持っていることが知られている。したがって、角層に補体成分が接触するような機転が働くと、抗角層抗体と角層との免疫複合体が補体の classic pathway を活性化し、C5a アナフィラトキシンの生成される可能性があり、これによって膿疱形成が起こるといまで考えられてきた。しかし、無菌性膿疱のみみられる乾癬患者では抗角層 IgG 抗体価は正常人と比べて高くなく、他の経路を介した補体の活性化が考えられた。私は本研究で、角層による補体の活性化とそれに伴う好中球遊走の機序について検討した。

正常人血清を使った間接蛍光抗体法で、角層に対する自己抗体 (IgG, IgA, および IgM class) の沈着が認められたが、C3 沈着の程度がいずれの自己抗体価よりも高く、また、C1q 沈着がまったく認められなかったことから、補体の alternative pathway を介する反応が優位に働いていることが示唆された。このことは Ca^{2+} -chelated serum を使った免疫電気泳動実験および alternative pathway 由来の C3 convertase の一部となる factor B fragment である Bb の測定実験結果から支持された。さらに alternative pathway を介しての補体の活性化に伴って血清中で C5a アナフィラトキシンの生成され、実際、好中球集積能を持つようになることが示された。

補体の活性化を引き起こす角層成分を検討する目的で角層を cornified envelope と keratin の二つの fraction に分け検討した。いずれの fraction も補体を活性化し、好中球を集積させるが、cornified envelope fraction がより強い走化能を誘導した。また、角層を熱処理あるいは脱脂処

理したが、走化性誘導能に変化はみられなかった。

今回の実験結果から、角層に血清が接触するような機転が働くと、補体が主として alternative pathway を介して活性化され、その結果、好中球走化性因子である C5a アナフィラトキシンが産生されることが示された。また、角層細胞において keratin を取り囲むように存在する cornified envelope がより強く補体を活性化し、その成分は熱および脱脂処理に抵抗性を示すことがわかった。

本研究により、正常人の皮膚が傷つけられた後生じる炎症、表皮嚢腫やにきびの面皰が破壊されてできる炎症、さらには、前述したいくつかの疾患でみられる角層下無菌性膿疱の形成に alternative pathway を介した補体の活性化が関与することが強く示唆された。

審査結果の要旨

角層は皮膚の最外層に存在し、私たちの体を外部環境から守る鎧の様なものである。表皮細胞の最終分化産物である角層細胞は規則正しく重なって層を成し、バリアーとして機能するようになる。角層細胞はこのような生理的機能を果たす死細胞として捉えられ、炎症や表皮増殖には縁がないものとされてきた。したがって、これまでの炎症性皮膚疾患の研究は表皮細胞の増殖や浸潤細胞の分析などに向けられてきた。しかし、無菌性膿疱を形成する皮膚疾患では角層周辺に好中球が多数認められ、また、膿疱を中心にもっとも強い炎症と表皮細胞の増殖が観察される。これらの事実は病変形成への角層の関与を強く示唆するものである。

本研究では、上記の病理組織学的な現象を明らかにする目的で角層細胞と血清補体成分を *in vitro* で反応させ、角層を目標とする好中球の集積現象を解析している。まず、蛍光抗体法を用いて、正常人血清中に角層と反応する immunoglobulin (Ig) 画分 (IgG, IgA, IgM クラス) が存在することを確認した。しかし、照井は同様の方法で観察された C3 の沈着程度は Ig の反応の強さとは相関せず、抗原抗体反応による補体古典経路の活性化が主体ではないことを明らかにした。次に、いくつかの処理血清を用いて免疫電気泳動や補体傍経路の分解産物である Bb の測定を行い、角層が補体の傍経路を活性化する事実を明白にした。さらに角層と血清の反応液中には C5a が検出され、実際、好中球を集積させた。反応を惹起する角層細胞構成成分の検索の結果、角層細胞内部のケラチン蛋白を取り囲むように存在する cornified cell envelope の fraction がもっとも強い complement activator で、反応を促進する物質は脂溶性でなく、かつ熱に安定で、蛋白分解酵素のような高分子蛋白でないことを示した。

本論文は、生体の外側に形成された角層細胞が体にとってまさに異物であり、補体成分と接触する機会があると補体傍経路の活性化を通して C5a を産生し、好中球を遊走させる能力を持つことを明白にした。また、このような反応を惹起する角層の構成成分にも言及している。以上より、この論文は医学博士の学位を授与するに値するものと判定した。