

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 山内 友恵

論 文 題 目 XVII 型コラーゲンのタンパク質分解的切断に
よって生じる自己抗原性エピトープの解析

論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(医学)	嘉 村 巧
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(医学)	木 下 専
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士(理学)	花 房 洋

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

申請者は、皮膚の表皮組織と真皮組織を結合するのに必須の役割を果たしている膜タンパク質である XVII 型コラーゲンと自己免疫性皮膚疾患の関わりについて解析をおこなった。水疱性類天疱瘡と線状 IgA 表皮水疱症 (LAD) は、どちらも XVII 型コラーゲンを認識する自己抗体の存在が原因となって発症すると考えられている自己免疫性皮膚疾患である。いずれも患者の皮膚に紅斑や水疱を呈し、病変部では炎症性反応とともに表皮が真皮から解離しているのが観察される。しかし、水疱性類天疱瘡患者の自己抗体が全長の XVII 型コラーゲンと反応する一方で、線状 IgA 表皮水疱症 (LAD) の自己抗体は、タンパク質分解酵素 (プロテアーゼ) による切断の結果生じた XVII 型コラーゲンの細胞外部分断片とのみ反応する。この LAD 自己抗体の特徴的な反応性は XVII 型コラーゲンの断片に存在する特異な抗体認識部位 (エピトープ) によると考えられる。XVII 型コラーゲンのプロテアーゼによる切断は、細胞膜に近接した NC16A と呼ばれる非コラーゲンドメイン中で起きていることが明らかとなっている。しかし、LAD 自己抗体によって認識される断片特異的なエピトープの性質や位置については、これまでよくわかっていなかった。申請者は、LAD 自己抗体と所属研究室で作製した LAD 自己抗体とよく似た反応性をもつマウスモノクローナル抗体 1337 を用いて、これらの抗体が認識する断片特異的なエピトープの解析をおこなった。その結果、1337 抗体と LAD 自己抗体のどちらもが、切断後に断片上に付加される翻訳後修飾や切断によって新たに生じた N 末端のアミノ酸残基を含むエピトープではなく、切断面からやや離れた領域に、切断依存的に形成が促進される構造的なエピトープを認識していることが明らかとなった。さらに、LAD 自己抗体の主要なエピトープは、NC16A ドメインとそれに隣り合うコラーゲンドメインの境界領域に存在することを新たに発見した。これらの結果は、LAD の病理の一端を明らかにするとともに、XVII 型コラーゲンの NC16A ドメインが示す高い自己抗原性と切断の関わりを明らかにする手がかりとなる可能性がある。また、LAD 自己抗体の抗原領域の同定は、臨床診断のためのより有効な患者血清のスクリーニング方法の開発にもつながることが期待される。さらに、申請者は XVII 型コラーゲンの細胞外部分の切断の機能的役割についても検討した。XVII 型コラーゲンは表皮基底細胞に存在するヘミデスモソーム (HD) と呼ばれる細胞・基質間の接着を担うタンパク質複合体の構成分子である。そこで、XVII 型コラーゲンの細胞外部分の切断が HD 構造の制御とどのような関わりがあるのかを明らかにするため、培養細胞を血清刺激した際の HD 解体に注目して実験をおこなった。その結果、HD の解体時にはメタロプロテアーゼによる XVII 型コラーゲンの切断が促進されていることが明らかとなった。しかし、XVII 型コラーゲンの切断を抑制するメタロプロテアーゼ阻害剤の添加は HD 解体にはほとんど影響しなかった。一方、HD の解体はリン酸化酵素プロテインキナーゼ C の阻害剤であるスタウロsporin によってほぼ完全に抑制された。これらのことから少なくとも培養細胞を用いた実験の結果からは、HD の解体には XVII 型コラーゲンの切断の寄与は少なく、プロテインキナーゼ C を介したリン酸化が重要であることが示唆され、今後の HD 構造の制御の分子メカニズムの解明への道筋を示したものとして評価できる。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。