論　文　内　容　要　旨

論文題目

尋常性白斑モデルマウスにおける紫外線発癌抑制に関与する免疫応答の検討

責任講座：　　皮膚科学　　講座
氏　　名：　　新井　陽介

【内容要旨】（1,200 字以内）

【背景】尋常性白斑（以下，白斑）は，主に自己免疫応答によりメラノサイトが減少ないし消失する後天性脱色素性皮膚疾患である．白色人種や白皮症患者では，メラニン色素の低下や欠乏により皮膚癌の発症リスクが高い．一方で，白斑患者ではメラニンの低下があるにも関わらず，皮膚癌の発症リスクが低いという疫学データが多数報告されている．自己免疫寛容の破綻による白斑発症が腫瘍免疫応答にも影響を及ぼすことが推測されるが，詳細な機序は不明である．

【目的】本研究の目的は，白斑モデルマウスを用いて，白斑における紫外線発癌抑制に関与する免疫応答を明らかにすることである．

【方法】①既に確立された方法を用いて，表皮基底層にメラノサイトが存在するよう遺伝子改変されたヘアレスマウス（Hairless hk14-SCF Tg mouse）に，自己免疫応答による白斑を誘導した．②白斑マウス，コントロールマウスの背部半分にサンスクリーン剤を塗布し，紫外線照射を行った．色素回復後に各部位の皮膚を採取し，組織学的検討，flow cytometry 解析を行った．③白斑マウス，コントロールマウスの皮膚に DMBA〔7,12-dimethylbenz（a）anthracene〕と TPA（12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate）を塗布後，複数の発癌がみられるまで紫外線照射(UVA および UVB)を行った．照射 7 か月後に腫瘍数の比較，腫瘍の病理組織学的解析，flow cytometry 解析および腫瘍周囲皮膚の RNA-seq 解析を行った．

【結果】①紫外線照射部ではサンスクリーン剤塗布部と比べ，PMEL(メラノサイト特異抗原)を認識する CD8+T 細胞(PMEL CD8+T 細胞)が減少していた．紫外線照射部における総 CD8+T 細胞数は白斑マウス，コントロールマウスのいずれも増加していたが，白斑マウスでは増加量がより大きかった．②白斑マウスおよびコントロールマウスの背部皮膚に皮膚悪性腫瘍(有棘細胞癌)を発症させることに成功した．発生腫瘍数は白斑マウスで低下していた．両群の腫瘍間に明らかな形質的差異はなく，腫瘍径が小さいほど，腫瘍へ浸潤する CD8+T 細胞の割合が高い傾向がみられた．RNA-seq 解析では，紫外線発癌後の白斑マウスで抗腫瘍免疫に関わるサイトカイン，ケモカインの遺伝子発現の低下傾向がみられ，Treg の誘導に関わる遺伝子発現が有意に上昇していた．

【結論】白斑マウス皮膚に悪性腫瘍を発症させることに成功した．白斑マウスにおいて紫外線発癌の抑制を確認した．発癌抑制に関与しうる免疫応答として，白斑における PMEL CD8+T 細胞数の増加および紫外線照射後の CD8+T 細胞の増加を確認した．また，紫外線照射による Treg 誘導や免疫抑制作用により，抗腫瘍免疫は次第に弱まる可能性も示唆された．

令和６年　１２月　２４日

山形大学大学院医学系研究科長　殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：　新井　陽介

論文題目：　尋常性白斑モデルマウスにおける紫外線発癌抑制に関与する免疫応答の検討

審査委員：主審査委員　　岩井　岳夫

副審査委員　　高木　理彰

副審査委員　　小藤　昌志

審査終了日：　令和６年　１２月　１３日

【論文審査結果要旨】

本研究は遺伝子改変により人為的に白斑を発症させた新しいモデルマウスを用いて、紫外線による発癌と白斑の関係を実験的に調査したものである。実際にモデルマウスに白斑を発症させ、その後の紫外線照射によって表皮における CD8+T 細胞の総数が有意に増えることを明らかにした。また、コントロールマウスと白斑マウスに発癌物質を塗布した上で紫外線を７ヶ月間照射して腫瘍発症に成功し、白斑マウスで腫瘍の発生が抑制されることを明らかにした。RNA-seq 解析を行い、白斑マウスでは紫外線照射により抗腫瘍免疫に関わるサイトカイン、ケモカインである PRF1、IFNG、CXCL10 の低下傾向と、Treg の誘導に関わる FOXP3、TGFβ1 の有意な上昇を確認した。新しい白斑モデルマウスで今後の研究につながる基礎的な実験結果を導出したことの学問的な意義は大きく、この点で学位論文に値すると審査委員の意見は一致した。

しかしながら得られた実験結果からは、論文の結論に機序として記載された PMEL CD8+T 細胞による腫瘍に対する交差的細胞性免疫反応や、細胞性免疫の向上の実証には至っておらず、結論部分の再検討が必要として審査委員の意見は一致した。また、論文題目に関しても、研究内容をもっと正しく表現した題目に変更すべきと指摘された。さらに考察に limitation についての記載が必要であること、それぞれの実験に使用したマウスの個体数を明記すること、クラスター解析によってより重要な知見が導き出せる可能性があること、などが指摘された。

その他指摘された誤りも含めて修正することを条件に、「条件付きで学位論文に値する」と審査委員会で結論付けた。