



Structural and immunological effects of skin cryoablation in a mouse model

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2015-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 糟谷, 啓 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2901

博士(医学) 糟谷 啓

論文題目

Structural and immunological effects of skin cryoablation in a mouse model

(マウスモデルにおける皮膚凍結凝固療法の構造的および免疫学的効果)

論文の内容の要旨

[はじめに]

凍結凝固療法は、皮膚科診療において日常的に、ウイルス性疣贅、良性腫瘍や日光角化症などの表皮内癌に対して使用される。また近年、腎癌、前立腺癌、乳癌などの内臓悪性腫瘍にも使用されている。凍結凝固療法の主要なメカニズムは皮膚の凍結による直接的な傷害、微小循環における血流障害、およびそれらに続く免疫学的反応による病巣の破壊である。皮膚科領域では、メカニズムの解析に関する研究はほとんどなく、特に免疫学的反応に関しては未だ解明されていない。従って、我々は皮膚凍結凝固療法のモデルマウスを作成し、その効果について組織の構造的な変化と免疫学的な反応について検討した。

[方法・結果]

本実験プロトコールは浜松医科大学動物実験委員会により承認されている(承認番号 2013058)。剃毛したマウスの背部皮膚に液体窒素に浸した径 5 mm の綿球を接触させることにより、凍結凝固療法のモデルマウスを作製した。液体窒素の接触により、皮下組織の温度は -25°C /秒の割合で低下し、最低温度は -100°C 以下であった。この温度変化は潰瘍を形成するのに十分な傷害であった。接触部の組織標本では真皮および皮下組織に単核球および好中球の浸潤をみた。また、肥満細胞の脱顆粒も観察された。透過型電子顕微鏡では角層構造の破壊や表皮細胞の核の融解、ミトコンドリア膜構造の破壊、さらに肥満細胞の脱顆粒も観察された。免疫染色では表皮のタイトジャンクションに発現する Zo-1 や表皮細胞間接着に関連する E-カドヘリンの染色性が変化し、表皮のバリアが破壊されていることが形態学的に確認された。さらに経皮的水分蒸散量は増加し、ルンファージェーを使用した皮膚透過性の試験では透過性が亢進しており、表皮のバリアが機能的にも障害されていることが判明した。

フローサイトメリー解析では、PDCA1⁺B220⁺CD19⁻の形質細胞様樹状細胞(pDC)や CD11c⁺の骨髄球様樹状細胞(mDC)などの抗原提示細胞のほか、好中球やマクロファージ、CD49⁺NK 細胞などが組織に浸潤していた。

リアルタイム PCR では pDC が産生する IFN- α 1 の mRNA の発現が上昇していたが、pDC を誘引するケモカインである RARRES2 の発現は上昇していなかった。樹状細胞の所属リンパ節への遊走を検討するために、液体窒素を接触させた部位に FITC を塗布し経皮的に吸収させ、pDC、mDC およびマクロファージに担わせた。これらの細胞は所属リンパ節にドレナージされ、全身的な免疫反応を引き起こす。所属リンパ節のフローサイトメリー解析により、凍結凝固療法後では、所属リンパ節へ FITC 陽性の pDC や mDC が多く遊走し、リンパ節へ集積することが明らかとなった。

[考察]

通常では抗原性を有するウイルス粒子は表皮バリアの存在により表皮外に露出され難く、宿主の免疫から逃れていると考えられる。本研究では、凍結凝固療法により皮膚のバリア構造が破壊され、

機能的にもバリアが障害されることが明確となった。こうした冷凍凝固による直接的な表皮構造の破壊は、ウイルス性疣贅や腫瘍病巣において、壊死した細胞からのウイルス粒子や腫瘍抗原の放出を起し、抗ウイルスあるいは抗腫瘍免疫反応を惹起する。バリアが破壊されることで、ウイルス粒子は免疫系に曝されることとなり、抗ウイルス反応が発揮され易くなると想定されてきた。本研究では、pDC、mDC、マクロファージなどの抗原提示細胞が凍結凝固療法後に増加していることが見出し、放出されたウイルス粒子や腫瘍抗原がこれら免疫担当細胞に認識され易くなっていることが明らかとなった。こうした炎症部位では肥満細胞が著明に脱顆粒していることが観察され、脱顆粒により放出されたヒスタミンが樹状細胞を冷凍凝固を受けた皮膚に集積させることが示唆された。さらに、凍結凝固療法は pDC や mDC のリンパ節への遊走を促し、最終的に全身の免疫反応を誘発することが判明した。

[結論]

凍結凝固療法の直接効果により壊死した表皮細胞から、ウイルス抗原や腫瘍成分が粗放出される。こうした抗原成分は、真皮の抗原提示細胞により認識され、免疫学的治療効果を発現しうることが示された。