

審査の結果の要旨

氏名 出崎 真志

本研究は気道の炎症性疾患において重要な役割を演じていると考えられるサイトカインやケモカインの産生とmRNAの発現がマクロライド系抗生物質によって抑制されることと、その機序として転写因子の活性化の抑制が関与していることを、気道上皮細胞株の系において明かにしたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト気道上皮細胞株BEAS-2Bはインターロイキン 1α (IL- 1α) の刺激に反応してインターロイキン6 (IL-6)及びインターロイキン8 (IL-8)の分泌を増加させた。これらの増加はエリスロマイシン(EM)の投与によって濃度依存性に抑制された。またペニシリン系やセフェム系、テトラサイクリン系の抗生物質の投与ではIL-6及びIL-8の分泌を抑制しえなかったが、EM及び同じ14員環マクロライドであるクラリスロマイシン (CAM) のみがIL-6及びIL-8の分泌を抑制した。更にヒト気道上皮細胞株をBET-1Aに、刺激物質をphrbol myristate acetate (PMA) に変えても同様にEMは濃度依存性にIL-8の分泌を抑制した。
2. 14員環マクロライドのEMには種々の誘導体が存在する。EMとその誘導体は抗菌作用以外に腸管運動の刺激作用を持つことが知られており、モチリン活性とも呼ばれている。これらの誘導体の中には強いモチリン活性を持つが抗菌作用の全くないものが存在する。それらの誘導体が気道上皮細胞株BEAS-2BからのIL-8の分泌に与える影響を検討した。その結果、抗菌活性を持たないEMの誘導体も著明なIL-8の抑制作用を示した。この抑制作用とモチリン活性の間に相関は認められなかった。この事実からEMの抗炎症作用は抗菌活性とは無関係であり、特定のEM分子の持つ化学構造がサイトカインの抑制を介して抗炎症作用を及ぼしていると考えられた。
3. EMのもつIL-8分泌抑制がmRNAの発現のレベルでどのように影響を受けているかをノー

ザンブロット法を用いて検討した。その結果、mRNAのレベルにおいてもEMとCAMのマクロライド系抗生物質はIL-8の発現を抑制したが、その他の抗生物質は影響を与えておらず、この作用はマクロライドに特異的と考えられた。ここで特筆すべきは同じマクロライドでも16員環のジョサマイシン（JM）はIL-8の発現に影響を与えておらず、またその分泌にも抑制的に作用しなかった。14員環の構造は抗炎症作用に重要であることが示唆された。

4. IL-8のmRNAの発現がEMで抑制されるメカニズムを検討するため、IL-8の遺伝子のプロモーター領域の特定の遺伝子配列に結合してその転写を制御すると考えられる転写因子をゲルシフトアッセイによって解析した。その結果、転写因子のNF- κ BとAP-1はPMAとの同時投与では影響をうけなかった。しかしPMA刺激の前にEMを24時間投与するとAP-1は抑制を受けたが、NF- κ Bは抑制を受けなかった。更にPMA刺激の前にEMを72時間投与するとNF- κ BとAP-1は共に抑制をうけた。このようにEMの投与方法の差が転写因子の抑制に影響を与えるのは、PMAによる刺激時間とEMが投与されている時間の相対的な長さの差も一因である可能性を考えてPMAの刺激時間を4時間から1時間に減少させたところNF- κ BとAP-1は共に24時間のEMの前投与にて抑制された。このことからPMA刺激とEMの抑制効果の相対的な強弱が転写因子の抑制には重要であることが示唆された。

以上、本論文はヒト気道上皮細胞株においてマクロライド系抗生物質が転写因子NF- κ BとAP-1の抑制を介して炎症性サイトカインやケモカインに抑制的に働くことを明らかにした。EMは慢性の気道の炎症を本態とする疾患、たとえば気管支喘息にも有効であることが示されており、広く抗炎症性の薬剤として使用される可能性を秘めている。本研究はEMの抗炎症作用の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。