

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 藤原 俊介

マウスやヒトの CD4⁺ヘルパー T 細胞 (Th) は、そのサイトカイン産生パターンから、機能的に異なる 2 種類のサブセットに分類できる。Th1 細胞は IL-2、IFN- γ 、TNF- β を主に産生して細胞性免疫の誘導に関与し、Th2 細胞は IL-4、IL-5、IL-6 を主に産生し、体液性免疫の活性化に関与する。ヒトでは種々の免疫疾患において Th1/Th2 バランスの不均衡が存在することが報告されており、この Th1/Th2 バランスの不均衡を是正するような治療法も検討されている。一方イヌでは、免疫異常による疾患が臨床的に大きな問題になっているにも関わらず、それらのサイトカインプロファイルに関してはほとんど研究が行われていない。

そこで本論文の第 1 章では、イヌの炎症性腸疾患 (IBD) 症例における粘膜面でのサイトカインプロファイルの検討を行った。内視鏡下で得た十二指腸粘膜サンプルにおける各種サイトカイン mRNA の発現量を real-time PCR によって定量したところ、IBD 症例においては健常犬と比較して IL-6 mRNA の発現量が有意に増加しており、IFN- γ と TGF- β 1 の mRNA の発現量が有意に減少していた。また、IL-1 と IL-5 の mRNA の発現は IBD 症例において増加傾向にあった。さらに、健常犬では認められなかった IL-4 の mRNA の発現が、IBD 症例の 13 頭中 2 頭で検出された。これらの結果から、イヌ IBD の粘膜面においては Th2 型の免疫応答が主体であることが示された。さらに、イヌの IBD においては経口免疫寛容に重要なサイトカインである TGF- β 1 の mRNA の発現が低下していたことから、その病態に免疫寛容の破綻が存在することが示唆された。今後、イヌの IBD において抗サイトカイン療法を開発する上で、本章の結果はきわめて有用な知見を提供するものと思われる。

第 2 章では、ハウスダストマイト (HDM) に自然感作されたイヌのアトピー性皮膚炎 (AD) 症例から分離した末梢血単核球 (PBMC) の Th1/Th2 サイトカインプロファイルを検討した。分離直後の PBMC における各種サイトカインの mRNA の発現を定量したところ、AD 症例においては健常犬と比較して TNF- α の mRNA の発現が有意に低下していた。IL-4 の mRNA の発現は AD 症例 12 頭中 1 頭でのみ認められ、健常犬では認められなかった。次に、これら症例から分離した PBMC を HDM 抗原存在下および非存在下で 24 時間培養したところ、AD 症例の 9 頭中 7 頭において抗原特異的な IL-4 の発現誘導が認められた。これらの結果から、イヌの AD においては末梢血中に抗原特異的な Th2 細胞が存在することが示され、イヌの AD はヒトの AD の良い自然発症モデルとなるものと考えられた。

第3章では、実験的にスギ花粉抗原によって感作したイヌにおいて、PBMCにおけるサイトカインプロファイルを解析するとともに、スギ花粉抗原のDNAワクチンが Th1/Th2 サイトカインバランスに及ぼす影響を検討した。分離直後の PBMC における各種サイトカイン mRNA の発現を定量したところ、実験的感作犬においては健常犬と比較して IL-8 と TNF- α の mRNA の発現量が有意に増加しており、IFN- γ mRNA の発現量が有意に減少していた。さらに、実験的感作犬および健常犬の PBMC をスギ花粉抗原存在下で 24 時間培養したところ、実験的感作犬でのみ IL-4 mRNA の発現が誘導された。また、実験的感作犬においては健常犬と比較して IL-2 の mRNA の発現量が有意に増加していた。次に、実験的感作犬にスギ花粉抗原の主要アレルゲンである Cry j 1 の遺伝子を組み込んだ DNA ワクチンを高用量あるいは低用量で投与した群および Cry j 1 遺伝子を含まない DNA ワクチンを投与したコントロール群について、PBMC における IL-4 と IFN- γ の mRNA 量を比較したが、各群間における有意な発現量の相違は認められなかった。以上の結果より、この実験的感作モデルにおいては抗原特異的な Th2 型反応が起こっていることが示され、ヒトのスギ花粉症研究の良い動物モデルになるものと思われた。しかし、本研究では DNA ワクチンによる Th1 型反応の誘導は認められず、DNA ワクチンの臨床応用に向けたさらなる研究が必要であるものと考えられた。

以上、イヌの免疫疾患における Th1/Th2 サイトカインプロファイルに関する本論文は、学問的に、また応用上価値ある論文であり、審査員一同は博士（獣医学）の学位論文に値するものと認めた。