

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目

Type 2 helper Tリンパ球遊走活性のあるケモカイン thymus and activation-regulated chemokine (TARC, CCL17)の喘息モデルマウスにおける役割の検討

指導教官 山本 一彦 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成7年4月入学

医学博士課程

第一臨床医学専攻

氏名 河 崎 伸

最近、我が国において気管支喘息、スギ花粉症、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患の罹患頻度が急速に増加してきている。こうした疾患の中でも気管支喘息は特に人命に関わりその病態の解明は重要であるが、その病態生理の全貌は未だ明らかにされていない。

CD4陽性T細胞は、それらの産生するサイトカインの違いによりType 1 helper Tリンパ球(Th1細胞)とType 2 helper Tリンパ球(Th2細胞)に分類される。そして気管支喘息の気道局所ではTh2細胞の役割が重要であることが示唆されている。しかし気道局所に浸潤したTh2細胞がどのようなメカニズムで好酸球浸潤や気道過敏性をもたらすかは不明な部分が多いが、実際にT細胞に作用するサイトカインについてはほとんどわかっていない。

一方、ケモカインは特定の白血球サブセットの遊走作用・活性化を支配する一連のサイトカインとして発見されたものである。近年、リンパ球に直接作用するケモカインが発見され、こうしたケモカインの中で thymus and

activation-regulated chemokine (TARC、CCL17)が選択的にT細胞に作用する事が最初に報告された。そしてCCR4のリガンドであるTARCとmacrophage-derived chemokine(MDC、CCL22)がTh2細胞に選択的に遊走活性を示すことも分かった。

そこで我々は気管支喘息のようなアレルギー性気道炎症性疾患においてTh2細胞に遊走活性をもつTARCが関与しているか調べる目的で、卵白アルブミン(OVA)を吸入させて喘息モデルマウスを作製し、好酸球浸潤や気道過敏性に対するTARCの働きを検討した。

各臓器間における比較では肺、胸腺でTARCのmRNAの発現が強いことが報告されている。実際に我々の実験でもマウスの肺組織においてTARCのmRNAは無刺激状態においても構成的に発現していた。さらに喘息モデルマウスにおいて検討してみるとOVA吸入後3～6時間後に有意にTARCのmRNAの発現は増強され、しかも24時間後までその増強効果は持続することがわかった。さらにタンパクレベルで実際にどの細胞から主に産生されているのかをTARCの免疫染色法を用いて検討した。TARCタンパクは恒常的に肺に発現しており、OVAのチャレンジにより増強され、しかも細胞浸潤が強い気道上皮細胞、血管内皮細胞において主に認められることが確認された。そこで実際にTARCがアレルギー性炎症において重要かどうかを調べるためにこのケモカインに特異的な中和抗体を用いた実験を行った。

肺胞洗浄液(BALF)により肺胞への好酸球を中心とした細胞浸潤が喘息において特異的である。OVA投与により総細胞数は有意に増加した。細胞分画については以前から報告があるように好酸球の増加が著明であった。マクロファージ、リンパ球も有意に増加していた。しかし抗TARC抗体を前投与した時にBAL液中の総細胞数は有意に減少し、細胞分画においても好酸球とリンパ球が有意に減少していた。実際の組織中の変化をライト・ギムザ染色により検討した。BAL液中の変化と同様にOVAの吸入・投与により気管周囲への著明な好酸球を中心とした細胞浸潤が認められたのみならず、喘息発作時の変化と同様な気道上皮の肥厚・剥離、杯細胞の増加などを認めた。そして抗TARC抗体の前投与により好酸球を中心とした気道上皮への細胞浸潤

が明らかに抑制され、気道上皮の変化もほとんど認めなくなつた。このことから TARC が喘息状態にみられる病理組織学的変化に重要な役割を果たしていることが示唆された。

次に好酸球浸潤とならぶ喘息における特異的な所見である気道過敏性に対する影響を検討した。抗 TARC 抗体を前投与する事によりコントロール抗体を投与した場合と比較して有意に OVA で感作・吸入で誘導されたメサコリンに対する気道過敏性が抑制された。

また TARC は Th2 細胞に対する直接的作用があるので OVA の吸入感作で誘導された CD4 陽性細胞浸潤は抗 TARC 抗体を前投与する事により著明に減少した。

一方、こうした CD4 陽性細胞により産生される IL-4、IL-13 のような Th2 タイプサイトカインが肺組織への好酸球浸潤や気道過敏性の誘発に重要な役割をはたしている。そこで我々は、この喘息モデルマウスにおいて BAL 液中の濃度を測定する事により比較検討した。OVA 吸入により IL-4、IL-13 の濃度は有意に上昇していた。しかし一方、抗 TARC 抗体投与することによって OVA 投与により誘導された IL-4、IL-13 の濃度上昇は著明に抑制された。抗 TARC 抗体を投与することにより Th2 タイプのサイトカインの遊離産生が抑制されることが好酸球浸潤や気道過敏性の抑制に関与している可能性が推定された。

さらに好酸球やリンパ球に対して遊走活性を示すケモカインとして eotaxin、RANTES、MDC の肺における発現量を検討してみた。肺における eotaxin の発現は無刺激の時にも認められ、OVA 吸入後 6～24 時間にかけて有意に増加し、しかも抗 TARC 抗体によって抑制された。一方肺における RANTES、MDC の場合は無刺激の時に発現を認めたが、OVA 吸入、抗 TARC 抗体投与によって有意の変化を認めなかった。

上記のように TARC は恒常的に肺に発現しており、喘息モデルマウスにおいては TARC の発現が増強した。TARC に対して特異的な中和抗体を用いることにより OVA により誘発された気道への好酸球浸潤、気道過敏性を抑制し、ほぼ正常の反応性に戻すことが可能なこと、気道への CD4 陽性 T

細胞の浸潤、肺における Th2 タイプのサイトカインの遊離産生や好酸球に遊走活性のあるケモカインの発現を抑制することが示された。こうして気管支喘息の最も重要な特徴と考えられる気道組織への好酸球浸潤と気道過敏性に対して Th2 タイプのサイトカインや好酸球に遊走活性のあるケモカインに影響を及ぼすことで TARC は重要な役割を果たしていると考えられた。

以上のことから我々は気管支喘息モデルマウスにおいて CC ケモカインである TARC が CD4 陽性 Th2 細胞のリクルートメントを制御することにより気道過敏性や好酸球の気道への浸潤に重要な役割をはたしていると考えられた。そのために気管支喘息の治療において今後 TARC やそのレセプターである CCR4 を制御することが重要になると考えられた。