

審査の結果の要旨

氏名 河 崎 伸

本研究は代表的なアレルギー疾患である気管支喘息の病態において重要な役割を演じていると考えられる Type 2 helper T リンパ球 (Th2 細胞) に対して特異的に発現しているケモカインレセプター CCR4 のリガンドである thymus and activation-regulated chemokine (TARC、CCL17) が気管支喘息の発症や病態維持に対してどのような働きをしているかを検討する目的で喘息モデルマウスを作製し、下記の結果を得ている。

1. 卵白アルブミン (OVA) による感作・吸入により喘息モデルマウスを作成し、炎症局所より mRNA を抽出して定量的 PCR 法によってその発現量を測定した。マウスの肺組織では TARC の mRNA は無刺激状態においても構成的に発現しており、OVA の吸入により有意に TARC の mRNA の発現は増強されることが示された。タンパクレベルでも TARC の免疫染色法を用いて検討したところ、無処置マウスにおいても気道上皮を中心に茶色に染まり、TARC タンパクが構成的に存在し、OVA で喘息状態を誘発する事により増強された。さらに免疫蛍光染色を行うことにより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示された。
2. 喘息モデルマウスに OVA 感作・吸入させることにより気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の総細胞数は有意に増加し、細胞分画では好酸球、マクロファージ、リンパ球の有意な増加を認めた。しかし抗 TARC 抗体を前投与により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た。
3. 喘息モデルマウスに OVA の吸入・投与すること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、喘息患者の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った。

4. OVA で感作・吸入を行ったマウスにおいてはメサコリンの静脈投与により気道抵抗が有意に上昇し、気道過敏性を認めた。さらに抗 TARC 抗体を前投与する事により有意にメサコリンに対する気道抵抗の上昇すなわち気道過敏性が抑制された。
5. TARC が遊走活性を持つ CD4 陽性 T 細胞がどれくらい肺組織に浸潤しているかを免疫染色法により CD4 陽性細胞を染色することにより検討した。CD4 陽性細胞数は OVA の吸入感作を行ったときには 58.5 ± 6.19 (\pm SEM) /mm²であった。しかし抗 TARC 抗体で処理したときには 26.5 ± 3.00 (\pm SEM) /mm²と肺組織への CD4 陽性 T リンパ球の浸潤数が著明に減少した。
6. 喘息モデルマウスでは BALF 中の IL-4、IL-13 濃度を ELISA 法で測定したところ OVA 吸入により有意に上昇していたが、IFN- γ の濃度には有意な変化は認めなかった。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が、IFN- γ の濃度は有意な変化は認めなかった。
7. 喘息モデルマウスにおいてケモカインの発現量を定量的 PCR 法で比較検討した。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 も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。

以上、本論分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 Th2 細胞のリクルートメントを制御し、Th2 タイプサイトカインと好酸球遊走性ケモカインの産生に作用することで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ことを明らかにした。本研究はこれまで検討されていなかった気管支喘息における Th2 細胞の制御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。