

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 蔵田 圭吾

アレルギー性疾患の病態において重要である IgE の産生は、 T_H1 サイトカインである IFN- γ によって抑制され、 T_H2 サイトカインである IL-4 によって促進される。両者のサイトカインバランスはアレルギー性疾患の病態において非常に重要であると考えられており、実際に、アレルギー患者においては T_H1/T_H2 のバランスが T_H2 に偏位していることが報告されている。アレルギー性疾患に対する新規治療法においては、 T_H1 免疫反応の誘導が重要と考えられる。近年、加熱処理したリステリア菌体抗原 (Heat-killed *Listeria*, HKL) や CpG モチーフを含む細菌 DNA や非メチル化合成オリゴ DNA (CpG-ODNs) が T_H1 サイトカインを誘導しアレルギー反応を抑制することが喘息モデルマウスで証明され、アレルギー性疾患に対する新規免疫療法への応用が期待されている。

獣医学領域においても、犬の慢性気管支炎およびアレルギー性鼻炎は、ヒトのアレルギー性呼吸器疾患と同様に、その病態に吸入性抗原に対するアレルギー性反応が関与していることが予想されている。しかし、その詳細な病態は不明であるため、根治的な治療法もない。

今回の研究では、第 1 および 2 章では、臨床的に慢性気管支炎およびアレルギー性鼻炎の犬において、感作抗原の同定を行い、アレルギー反応のその病態への関与を検討した。第 3 および 4 章では、犬の末梢血単核球 (PBMC) における、HKL および CpG-ODNs の IFN- γ 誘導能を検討した。

第 1 章 慢性気管支炎の犬における感作抗原の検討

慢性気管支炎と診断した 3 頭の犬において、皮内反応および抗原特異的 IgE 検査によってコナヒョウヒダニ (DF) の感作を認め、2 例においてヤケヒョウヒダニ (DP) の感作を認めた。また、症例の DF に対する PBMC 芽球化反応も認められた。

以上のことから、ハウスダストマイト (DF および DP) に対するアレルギー反応がこれら症例における慢性気管支炎の病態に関与していることが示唆された。

第 2 章 アレルギー性鼻炎の犬における感作抗原の検討および末梢血単核球の IL-4 および IFN- γ mRNA の発現に関する検討

アレルギー性鼻炎と診断した 4 症例において、DF および DP の感作を認め、1 例において日本スギ花粉 (CJ) の感作も認めた。また、症例の DF 抗原に対する PBMC 芽球化反応も認められた。また、症例の PBMC において DF 抗原刺激に関わらず、IL-4 mRNA の発現が認められ、DF 抗原刺激によりその発現量の増加を認めた。コントロール犬では、いずれの条件下においても IL-4 mRNA の発現は認められなかった。IFN- γ mRNA は、両群において有意な差は認められない。以上のことから、ハウスダストマイトに対するアレルギー反応および T_H2 (IL-4) 主体の免疫反応がこれらの症例のアレルギー性鼻炎の病態に関与していることが示唆された。

第 3 章 犬の末梢血単核球における加熱処理リステリア菌体抗原 (HKL) の免疫刺激能の検討

HKL (10^7 — 10^9 菌体数/ml) で刺激培養した犬 PBMC 培養上清中の IFN- γ は、コントロール

(無刺激)と比較して有意に高いことが明らかとなった。また、HKLはIL-12 p35およびIL-12 p40 mRNAの発現を有意に増強することも明らかとなった。しかし、7頭中3頭においてはIL-4 mRNAの発現増強も認められた。IL-18 mRNAの発現に変化は認められなかった。以上の結果より、HKLは犬PBMCにおいて、Th1サイトカインを誘導することが明らかとなった。

第4章 犬の末梢血単核球においてIFN- γ を有するCpG-ODNsの検索

12種類のCpG-ODNsを合成し、犬のPBMCにおけるIFN- γ の誘導能を検討した。その結果、No.2のCpG-ODN(5'-GGTgcatcgatgcagGGGG-3')は、CpGモチーフ依存性に、有意に高いIFN- γ を誘導することが明らかとなった。さらに、このCpG-ODNはIL-12 p40のmRNAの発現を有意に増強するが、IL-4、IL-12p35、IL-18mRNAの発現は増強しないことが明らかとなった。以上の結果から、No.2のCpG-ODNは犬においてTh1サイトカインを誘導することが明らかとなった。

結論

第1章および第2章の結果は、慢性気管支炎およびアレルギー性鼻炎の病態におけるハウスダストマイトに対するアレルギー反応の関与を示唆している。さらに、アレルギー性鼻炎は、Th2免疫応答主体の疾患であることが示している。第3および4章においては、HKLおよびCpG-ODNsが犬において、Th1サイトカインを誘導することを証明した。本研究の結果は、犬のアレルギー性疾患における病態解明に進展をもたらすとともに新規免疫療法開発のための基礎的知見を提供するものであり、審査委員は申請者を博士(獣医学)の学位を受けるに必要な学識を有する者と認め、合格と判定した。