

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 安永 祥

論文題目

Studies on pathophysiological roles and clinical application of co-stimulatory molecules in dogs with allergic diseases

(犬のアレルギー性疾患における共刺激分子の病態生理学的役割と臨床応用に関する研究)

共刺激分子とは、免疫応答において抗原と独立したシグナルによって主に T 細胞の活性化または抑制を誘導する接着分子群である。特に T 細胞上に発現する CD28 および Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) と、これらの共通のリガンドであり主に抗原提示細胞(APC)や B 細胞上に発現する CD80 と CD86 は主要な共刺激分子であり、これらの分子の相互作用は通常 APC からの抗原提示と同時に起こる。CD28 を介した共刺激は T 細胞の活性化と増殖を誘導するのに対し、活性化 T 細胞のみに発現し CD80/CD86 に対してより高い親和性を示す CTLA-4 を介した共刺激は、活性化 T 細胞を抑制し免疫応答を終息させる。

共刺激分子は免疫応答において中心的な役割を果たすことから、多くの免疫介在性疾患の病理発生にも関与すると考えられる。特に CD80 と CD86 は、それぞれ CD28 との共刺激において Th1/Th2 バランスに異なる影響を与えることが知られており、病理発生にも深く関与すると推測される。

そこで本研究では犬のアレルギー性疾患をモデルとして共刺激分子群の発現解析を行い、その病態生理学的役割を検討した。また、将来的な臨床応用を目的として共刺激分子を標的とした新規治療法を開発し、その基礎的検討を行った。

Chapter I ではアレルギー性疾患のモデルとして 12 頭の実験的日本スギ花粉抗原(Cj)感作犬を作成し、末梢血単核球(PBMC)における CD28、CTLA-4、CD80 および CD86 の発現解析を行った。また Cj に対する免疫応答の指標としてリンパ球刺激試験も同時に行った。その結果、6 頭の感作犬は Cj を用いたリンパ球刺激試験で強い幼若化反応を示し、PBMC では Cj 刺激後 24-48 時間に持続的な CD80 の発現増強がみられた。一方、残りの 6 頭は顕著な幼若化反応を示さず、PBMC では刺激後 24 時間に一過性の CD80 の発現増強がみられ 48 時間ではその発現は低下していた。これらの結果から感作抗原特異的な T 細胞の活性化に CD28-CD80 共刺激が強く働くことが示唆された。CD86、CD28 および CTLA-4 分子の発現量に変化は認められなかった。

Chapter II では、代表的なアレルギー性疾患であるアトピー性皮膚炎の臨床症例を用い

て、免疫療法後の CD80、CD86 の発現解析を行った。免疫療法はアレルギー性疾患における原因療法であり、アレルゲンの反復投与によって臨床症状の改善を誘導する治療法であるが、その詳細な機序については不明である。Chapter I の結果から、CD80 の発現増強による CD28-CD80 共刺激がアレルギー反応の一因であり、免疫療法がこれを低下させることによって臨床症状を改善するという仮説を立てて実験を行った。東京大学動物医療センターにおいてアトピー性皮膚炎を診断し免疫療法を行った犬の 17 症例について CD80、CD86 の発現解析を行った。その結果、すべての症例で PBMC における CD80 の発現増強が認められた。しかし、感作抗原刺激によって CD80 発現に変化はみられず、免疫療法に対する臨床的反応とも関連しなかった。CD86 の発現量に変化はみられなかった。これらの症例における CD80 の非特異的発現増強は、B 細胞や樹枝状細胞など非 T 細胞群における変化を反映しており、より重度または長期のアレルゲン暴露によって誘導された反応であると考えられた。

Chapter III では共刺激分子を応用した新規治療法として、CTLA-4 の細胞外領域と高親和性 IgE レセプターである FcεRIα とのキメラ蛋白(CTLA4-Ig-Fcε)を発現する DNA ワクチンを開発した。接着分子と結合させた抗原は、APC 上のリガンドとの相互作用によって効率よく取り込まれ、強い免疫応答を誘導する。CTLA4-Ig-Fcε も、IgE-アレルゲン複合体と結合し、CD80/CD86 を介して APC に結合するようにデザインされたものである。*In vitro* での解析において、CTLA4-Ig-Fcε は犬の PBMC 中の単球分画および精製イヌ IgE とそれぞれ結合した。また CTLA4-Ig-Fcε の生理活性の検討として、実験的 Cj 感作犬より PBMC を採取し、Cj を用いたリンパ球刺激試験に CTLA4-Ig-Fcε を添加したところ、通常では幼若化反応が誘導できない低濃度の抗原刺激で幼若化反応が誘導された。生理活性の評価には検討の余地が残るものの、これらの結果はより有効性の高い免疫療法としての本ワクチンの臨床応用の可能性を示唆するものと考えられた。

本研究の結果は、犬のアレルギー性疾患においてアレルゲンに対する免疫応答に CD28-CD80 共刺激が深く関与することを示しており、また本疾患に対する共刺激分子を標的とした新規免疫療法の有効性についても示唆するものであり、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。