

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 小 宮 明 子

本研究の前半部は、アレルギー性炎症において重要な役割を演じていると考えられる好酸球及び好塩基球について、両者の細胞の遊走、活性化に関わるケモカインであるエオタキシンサブファミリー（エオタキシン-1、-2、-3）の気道上皮細胞における蛋白産生及び mRNA 発現とその制御機構を明らかにすることを目的としたものであり、以下の結果を得ている。

1. 気管支喘息患者ならびに健常コントロールより得た気道粘膜組織標本において、エオタキシン-1、-2、-3 の免疫染色を施行したところ、エオタキシン-1 のみならずエオタキシン-2、-3 についても、喘息群の気道上皮において健常群より明らかに強い染色性を認めた。この事実より、気道上皮細胞がエオタキシンサブファミリーの主要な産生源であることが示されると共に、気道上皮からのエオタキシン-2、-3 産生が、好酸球を気道内腔へ効果的に引き寄せるための濃度勾配を作り出して、気管支周囲の好酸球浸潤に寄与している可能性が示唆された。
2. 各種細胞株におけるエオタキシンサブファミリーの蛋白産生を ELISA 法で検討したところ、サイトカイン刺激による最大産生量はエオタキシン-1 は HDF、エオタキシン-2 は monocyte、エオタキシン-3 は HUVEC から最も多く産生され、細胞間における産生プロファイルの相違が明らかになった。また、気道上皮系の細胞株では、エオタキシン-2 は A549 細胞と NHBEc から、エオタキシン-3 は A549 細胞, BEAS-2B 細胞, NHBEc 全てから産生を認めた。
3. 気道上皮系細胞株である A549 細胞, BEAS-2B 細胞を用いて、エオタキシン-2、-3 の蛋白産生を ELISA 法で、mRNA 発現を real-time PCR 法で更に検討したところ、Th2 サイトカインである IL-4 刺激で増加し、Th1 サイトカインである IFN- γ 添加にて抑制される傾向が認められ、気道上皮によるエオタキシン-2、-3 の産生が Th2 に偏位したバランス下で誘導されており、気管支喘息のような Th2 優位なアレルギー性炎症において、その病態成立に関与している可能性が述べられた。また、気管支喘息の有用な治療法として確立しているステロイドの影響についても検討したところ、エオタキシン-2 及び-3 の蛋白産生、mRNA 発現いずれもがグルココルチコイドによって臨床的に達成可能な濃度域で抑制され、気管支喘息における吸入ステロイドの有効性を少なくとも一部は説明しうると考えられた。

喀痰や気管支洗浄液などの局所の分泌液中のエオタキシン-2、-3の蛋白量が測定可能になれば、in vivo における各エオタキシンの詳細な役割を明らかにするのに役立つと考えられるが、その点に関しては今後の検討課題であるとした。

本研究の後半部では、生理的条件下における好塩基球の活性化抑制機構である脱感作機構について述べられている。好塩基球はその細胞表面に発現している高親和性 IgE レセプター (FcεRI) を介して活性化するが、その一方で IgE 依存性の細胞活性化抑制機構である脱感作という現象が知られている。慢性炎症における抗原の持続的な存在が好塩基球に及ぼす影響を解析すると共に、その制御機構を明らかにすることを目的として検討を行い、以下の結果を得ている。

4. 生理的条件下で好塩基球に微弱な IgE 依存性刺激を加えて脱感作を誘導する系を確立し、脱感作の詳細な条件設定について検討した。Ca²⁺を含む生理的な培養液中において、様々な濃度の抗 IgE 抗体や抗原を用いて脱感作誘導を試みたところ、細胞の脱顆粒閾値もしくはそれ以下の微弱な刺激によっても、好塩基球の脱感作が強力に誘導可能であることが示された。

5. マスト細胞や好塩基球表面上の FcεRI 発現量(IgE 結合量)増加は細胞活性化の増強をもたらすことが明らかになっていることを踏まえ、細胞表面 IgE 量が脱感作をも制御しているかを検討した。ヒト IgE の存在下で培養し細胞表面の IgE 量が増加した好塩基球で脱感作の誘導を試みたところ、細胞表面の IgE・FcεRI 量増加は脱感作も増強することが明らかになった。

以上、本論文は気道上皮におけるエオタキシン-3の蛋白発現を in vivo 並びに in vitro にて初めて示し、サイトカインやグルココルチコイドによるその産生・発現制御パターンを明らかにした。特に免疫染色の手法で、気管支喘息の気道上皮で実際にエオタキシン-2、-3の蛋白が発現していることを示すことで、気管支喘息においてエオタキシン-2、-3が重要な役割をしている可能性を強く示唆した。また、生理的条件下において、好塩基球の脱感作誘導が閾値もしくはそれ以下の低濃度の刺激によって可能であることを初めて示し、選択的な脱感作誘導が、より抗原特異的な治療法の確立につながる可能性を示唆した。両研究はいずれも、アレルギー疾患の病態解明及び新たな治療戦略の開発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。