

審査の結果の要旨

氏名 湧川基史

本研究はアトピー性皮膚炎の病態に深く関与していると考えられているヘルパーT細胞の分化のバランス (Th1/Th2 バランス) について、やはりアトピー性皮膚炎の主要アレルゲンとされるダニ抗原で患者末梢血単核球を刺激してサイトカイン産生を誘導し、Th1, Th2 サイトカイン産生バランスからアプローチしている。さらに、Th1, Th2 細胞に比較的特異的に発現していると考えられるケモカインレセプターCXCR3, CCR4 について、患者末梢血ヘルパーT細胞上の発現を検討している。以上の検討から下記のような結果を得ている。

1. アトピー性皮膚炎 (AD) 患者の末梢血単核球における Th1, Th2 サイトカインの経時的産生パターンの相違をみるために、AD 患者と健常人のダニ抗原抽出物(DME)添加末梢血単核球(PBMC)を培養し、経時的に上清中の IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ 値を測定したところ、IL-4 は、培養時間 12, 24 時間でピークとなり、3 日後、7 日後で検出量が減少したが、IL-5, IL-13 は 7 日後まで培養時間依存性に増加した。IFN- γ は、検体によって多少のばらつきがみられたが、概ね経時的に産生が亢進した。これは、培養時間を固定して検討をすると解釈を誤る可能性があることを示していて、重要な検討である。

2. 培養時間を 7 日とし、AD 患者、健常人の PBMC における IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ 産生量を検討したところ、IL-5, IL-13 は AD 群で DME 無添加群に比べて有意に産生が亢進した。AD 群の IFN- γ 値は症例によるばらつきが大きく、DME 添加では DME 無添加に比べて増加したものと抑制されたものがみられた。IL-4 は添加、無添加ともに全例で検出されなかった。AD 群の DME 添加における培養 7 日後の各サイトカイン産生量において、IL-5 と IL-13 値

との間には正の相関がみられ、IFN- γ と IL-5, IL-13 の産生量との間には負の相関が認められた。AD においては、抗原刺激によって Th2 サイトカインである IL-5, IL-13 の産生が亢進されることを示している。

3. AD 群において、Dermatophagoides pteronyssinus 特異 IgE 値 (Dp-IgE 値) が高値の患者群では、IL-13 と IL-5 の検出値が低値の患者群に比べて有意に高い傾向を示した。このことから、Th2 サイトカイン産生が IgE 高値に直接結びついていると考えられた。

4. Dexamethasone 10^{-8} M, Tacrolimus 10^{-8} M は DME 添加 AD 患者 PBMC の IL-13, IL-5 の産生を有意に抑制した。これらの薬剤がサイトカイン産生の抑制を介して症状の改善に関与していることが示されている。

5. AD 患者, 尋常性乾癬(Ps)患者, 健常人において, CD4⁺ あるいは CD8⁺ T 細胞上の CCR4, CXCR3 の発現について比較検討した。AD 患者 CD4⁺ T 細胞における CCR4 発現は, 健常人や Ps 患者に比べ, 有意に高値を示した。CD4⁺ T 細胞における CXCR3 は AD 患者と健常人との間で有意差を認めなかったが, Ps 患者においては健常人に比べて有意に高値を示した。CD8⁺ T 細胞では, AD 患者において健常人や Ps 患者よりも CCR4 陽性率が有意に高く, Ps における CXCR3 陽性率は健常人よりも有意に高かったが, CD4⁺ T 細胞に比べると発現は低かった。AD の末梢血において CCR4⁺CD4⁺ T 細胞が増加していることを示している。

6. AD 患者 CD4⁺ T 細胞上の CCR4 陽性率は AD の重症度と正の相関を示した。また, CD8⁺ T 細胞上の CCR4 陽性率も重症度と正の相関を示した。それに対して, CD4⁺ あるいは CD8⁺ T 細胞における CXCR3 陽性率は AD の重症度と相関を認めなかった。さらに, ステロイド外用剤を主体とした治療を行い, 著明に症状が改善した重症 4 症例について末梢血 CD4⁺ T 細胞上の CCR4, CXCR3 陽性率の治療による時間的变化について検討しており, CD4⁺ T 細胞上の CCR4 陽性率は症状の改善とともに全例低下傾向を示した。4 症例とも治療 3 週間後の CCR4 陽性率は治療前に比べて有意に低かったが, CXCR3 陽性率は治療前後において有意な差はみられなかった。CCR4 が重症度のマーカー

となり、治療においてもその制御が重要となる可能性を示唆したデータである。

7. AD患者と健常人のCCR4⁺CD4⁺, CXCR3⁺CD4⁺ T細胞におけるIL-4, IFN- γ 産生について検討した。CCR4⁺CD4⁺ T細胞はIL-4を産生するがIFN- γ をほとんど産生せず, CXCR3⁺CD4⁺ T細胞はIL-4を産生せずにIFN- γ を産生した。このことはCXCR3がTh1細胞に, CCR4がTh2細胞に比較的特異的に発現していることを確認している。

8. CCR4⁺CD4⁺ T細胞上のCD25, cutaneous lymphocyte-common antigen (CLA)陽性率はCCR4⁻CD4⁺ T細胞に比べ有意に高かった。CD25はADの活性化のマーカー, CLAは皮膚への細胞浸潤に関わるホーミングレセプターであり, CCR4⁺CD4⁺ T細胞が活性化されていて皮膚へ浸潤しやすい細胞であることを示している。

9. ADの急性の紅斑性病変部と慢性苔癬化病変部においてCCR4, CXCR3の発現について免疫組織化学的に検討し, 両病変部ともCCR4は表皮や真皮血管周囲に浸潤している単核球の大部分に陽性となったが, CXCR3の陽性率は非常に低いことを示している。ADの病変部にCCR4⁺ T細胞が多数浸潤して病態形成に関与していることを直接的に示しているデータである。

以上より, 本論文は, ADにおいてTh1, Th2に関与するサイトカイン産生とケモカインレセプター発現について明らかにしている。ADの病態にはTh2サイトカインが重要であること, この細胞に比較的特異的に発現するCCR4がヘルパーT細胞の活性化と細胞浸潤に深く関わっていることを示している。アトピー性皮膚炎の病態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。