

# 審査の結果の要旨

氏名 大島 信治

気管支喘息の病態は持続性の好酸球を主体とした気道炎症に本態があると考えられている。その好酸球に対し様々なサイトカインやケモカインなどが働きかけていると考えられているが、システイニルロイコトリエン (CysLTs) も喘息患者の気道および末梢血における好酸球浸潤誘起作用において重要な役割を演じていると考えられている。現在システイニルロイコトリエンレセプターには CysLT<sub>1</sub> および CysLT<sub>2</sub> の存在が認められているが、ヒト好酸球におけるロイコトリエンレセプターの機能に関しては完全には解明されていない。本研究は、ヒト好酸球における CysLT<sub>1</sub> の発現の有無、CysLT<sub>1</sub> を介する CysLTs の好酸球への直接作用等を検討し、気管支喘息における CysLTs および CysLT<sub>1</sub> の重要性を明らかにするべく下記の結果を得ている。

1. 健常人末梢血より精製分離した好酸球 (純度 99%以上) を用いて RT-PCR により CysLT<sub>1</sub> の転写産物の発現を認めた。また、抗 CysLT<sub>1</sub> ポリクローナル抗体を用いたフローサイトメトリー法により好酸球における CysLT<sub>1</sub> タンパク質の発現も認めた。つまり、ヒト好酸球には CysLT<sub>1</sub> の mRNA およびタンパク質の発現がみられることが証明された。
2. 健常人末梢血より精製分離した好酸球 (純度 99%以上) を用いて [<sup>3</sup>H] LTD<sub>4</sub> 結合試験を行った。その結果好酸球への [<sup>3</sup>H] LTD<sub>4</sub> の特異的結合が観察された。また、その結合は特異的 CysLT<sub>1</sub> 拮抗薬であるプラシルカストにて抑制されることもわかった。
3. 健常人末梢血より精製分離した好酸球 (純度 99%以上) を用いて CysLTs による Ca<sup>2+</sup> 流入反応の有無を検討した。その結果 CysLTs はヒト好酸球における Ca<sup>2+</sup> 流入反応を誘発することが確認された。また、その効力は LTD<sub>4</sub>、LTC<sub>4</sub>、LTE<sub>4</sub> の順に低下し、これは、CysLT<sub>1</sub> の結合親和性の順序と一致していることがわかった。この Ca<sup>2+</sup> 流入反応を特異的 CysLT<sub>1</sub> 拮抗薬であるプラシルカストが抑制することからも、ヒト好酸球における Ca<sup>2+</sup> 流入反応が CysLT<sub>1</sub> を介しているといえる。なお、PTX により Ca<sup>2+</sup> 流入反応が阻害されることから、ヒト好酸球における CysLTs による Ca<sup>2+</sup> 流入反応は Gi クラスのタンパク質が共役していることもわかった。

4. 健常人末梢血より精製分離した好酸球（純度 99%以上）を用いて CysLTs による遊走反応を検討したところ、CysLTs は好酸球遊走反応を誘導することが確認できた。この遊走を最も強く誘発するのは LTD<sub>4</sub>であることもわかった。なお、LTD<sub>4</sub>による好酸球遊走を特異的 CysLT<sub>1</sub>拮抗薬であるプラシルカストが抑制することも確認できたことから、CysLTs による好酸球遊走反応は CysLT<sub>1</sub>を介して行われることもわかった。
5. ヒト好酸球における IL-5 による脱顆粒を LTD<sub>4</sub>はプライミングする作用を有することも確認できた。また、このプライミング作用を特異的 CysLT<sub>1</sub>拮抗薬であるプラシルカストが抑制することも確認できた。つまり、LTD<sub>4</sub>による IL-5 の脱顆粒をプライミングする作用は CysLT<sub>1</sub>を介していることがわかった。

以上、本論文はヒト好酸球において CysLTs が CysLT<sub>1</sub>を介して、好酸球を直接活性化することがわかった。また、この作用がアレルギー性炎症増悪の一機序を担っていることを明らかにした。加えて、特異的 CysLT<sub>1</sub>拮抗薬の新しい抗炎症作用として CysLTs による好酸球活性化を阻害する作用も認められた。これらの知見は気管支喘息における好酸球性炎症の成立を証明すること、および特異的 CysLT<sub>1</sub>拮抗薬の気管支喘息に対する臨床効果をさらに引き出す上で、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。