

論文の内容の要旨

論文題目 Thymus and activation-regulated chemokine (TARC)
トランスジェニックマウスの解析

指導教官 玉置邦彦 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 常深祐一郎

ケモカインは、免疫や炎症反応において、各種の白血球の活性化や選択的遊走に重要な働きをしている。Thymus and activation-regulated chemokine (TARC)/CC chemokine ligand (CCL)17 は、CC ケモカインの 1 つで、CC chemokine receptor (CCR) 4 のリガンドである。CCR4 は主に Th2 細胞に発現しており、TARC と CCR4 は Th2 型の反応に重要なケモカインである。アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis=AD)は Th2 型の反応が強く関与する皮膚疾患であるが、AD をはじめとした様々なアレルギー疾患において、TARC の病態への関与を示す報告が多数なされている。本研究では、皮膚の表皮細胞(keratinocyte=KC)にヒトケラチン 14(hK14)プロモーター支配下にマウス TARC (mTARC)を強制発現させたトランスジェニック(Tg)マウスを作製し、non-Tg マウスと比較・解析した。

hK14 プロモーターと mTARC cDNA の融合遺伝子を受精卵に顕微注入することで Tg マウスを作製した。この Tg マウスで、mTARC cDNA を含む transgene が組み込まれていることを尾より抽出した DNA の PCR にて確認し、表皮 KCにおいて mTARC mRNA が多量に転写され、多量の mTARC

タンパクに翻訳され、産生・分泌されていることを、耳介より単離した KC から抽出した mRNA の RT-PCR、KC 培養上清および血清の ELISA、耳介皮膚の免疫染色にて確認した。KC の cell lysate、培養上清の Western blot にて、この産生された mTARC は anti-mTARC 抗体に認識され、その分子量は報告されているものと一致していた。さらに chemotaxis assay にて CCR4 強制発現細胞に対して遊走活性を有し、この活性は anti-mTARC 抗体にてブロックされた。以上より、このマウスの系が表皮に生物活性を有する mTARC タンパクを多量に発現する Tg マウスとして機能していることが確認された。

コンベンショナルな環境下でも、Tg マウスでは肉眼的にも組織学的にも皮膚炎の自然発症はみられなかった。Oxazolone (OX) および fluorescein isothiocyanate (FITC) による、単回 (acute) もしくは繰り返し (chronic) 惹起による contact hypersensitivity (CHS) を行った。Tg マウスでは non-Tg マウスと比較して、耳介腫脹の程度でも組織学的にみた炎症細胞浸潤数でも、Th1 型 CHS 反応 (OX acute CHS) は抑制され、Th2 型 CHS 反応 (OX chronic CHS および FITC acute CHS) は増強された。OX CHS において組織学的に検討したところ、OX acute CHS でも chronic CHS でも、浸潤 CCR4 陽性細胞数は Tg マウスで多かった。また OX chronic CHS では、Tg マウスで non-Tg マウスと比較して肥満細胞が有意に増加していた。OX CHS において、Tg マウスでは non-Tg マウスと比較して、耳介全体より抽出した mRNA の RT-PCR で IL-4 mRNA 発現が常に増強し、IFN- γ mRNA 発現が減弱していた。クロトンオイル (CO) を体幹に繰り返し塗布した慢性一次刺激では、Tg マウスでのみ皮膚炎がみられた。OX でも FITC でも chronic CHS を行うと、血清 IgE 濃度が増加した。これは OX より FITC で、耳介より腹部への塗布でより高度であった。それぞれにおいて Tg マウスでは non-Tg マウスと比較して有意に血清 IgE 濃度が増加していた。Th2 ケモカインである MDC 濃度も同様の傾向を示した。Th1 ケモカインである MIG 濃度は、non-Tg マウスでは Th2 型 CHS では無刺激時と比較して増加したが、Tg マウスでは同レベルか減少した。CO による慢性一次刺激でも Tg マウスでは血清 IgE 濃度の上昇がみられた。末梢血中 CCR4 陽性リンパ球は、腹部への OX acute CHS では Tg マウスで non-Tg マウスと比較して有意に増加した。

以上のことより、TARC はそれのみでは炎症をひきおこさないが、一

且炎症がおこると、Th1 型反応は抑制し、Th2 型反応は増強することが確認された。CCR4 陽性 Th2 細胞を遊走させ、Th2 サイトカイン産生を増強し、Th2 優位な状態を誘導することによると考えられた。この際、肥満細胞の増加、血清 IgE 濃度の上昇がみられた。これらは AD にも認められる現象であるが、慢性的に抗原に暴露される AD の病態に TARC が関与していることが示唆される。このようなアレルギー性機序に加え、AD ではバリア機能異常による非アレルギー性機序も重要である。Tg マウスでの慢性一次刺激で皮膚炎の発症、血清 IgE の増加がみられたことは、TARC が一次刺激性皮膚炎も修飾することを示唆しており、AD における非特異的刺激による増悪にも TARC が関与している可能性がある。今後、さらに研究が進み、AD をはじめとしたアレルギー疾患の治療に結びつくことが期待される。