[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名　　寺脇　幹

本研究は，多形核白血球を炎症部位に強力に遊走・走化させる作用（ケモタキシス）など主として外来異物の侵入に対する生体防御機構の一役を担っているロイコトリエンB_4 (LTB_4)の高親和性受容体，BLT1 の生体内での機能を明らかにするために，BLT1欠損マウスが作成されその表現型として気管支喘息モデルを解析したものであり，下記の結果を得ている．

1. TT2 ラインのES 細胞を用いてBLT1遺伝子をヘテロで破壊したES細胞を作成し，この細胞を用いてオスのキメラマウスを作成した．これをC57BL/6メスマウスと交配し，得られたヘテロ変異マウスをC57BL/6と backcross してBLT1 欠損マウスを作成した．サザンブロット法でLTB_4受容体遺伝子が破壊されていることを確認し，RT-PCR法でBLT1 mRNAの消失を確認した．

2. 機能的解析として，次の3つの実験を行った．1) カゼインで誘導した腹腔内好中球や肺・脾臓のミクロソーム分画を用いて，[^{3}H]標識したLTB_4に対する結合実験を行い，BLT1欠損マウスから得た細胞ではLTB_4に対する結合は有意に低下していた．2) カゼインで誘導した腹腔内好中球にLTB_4刺激を加えることで観察される細胞内カルシウム上昇やミエルペルオキシダーゼ(MPO) 放出反応を観察したところ，BLT1欠損マウスから得た細胞では細胞内カルシウム上昇や MPO 放出反応はまったく見られなかった．以上より本マウスにおいてはBLT1が欠損できていること，また好中球における主要なLTB_4受容体はBLT1であることが明らかとなった．

3. 表現型の解析として気管支喘息モデルマウスによる気道過敏性実験を行った．卵白アルブミン (OVA) の腹腔内注射 2 回と，エアロゾル化した OVA の吸入によって感作したのち，3 週間目に気道収縮薬であるメサコリン(MCh)を用いて気道過敏性を測定したところ，BLT1 欠損マウスでは，気道過敏性の上昇は有意に抑制されていた．

4. 同様に OVA 感作したモデル動物の肺胞洗浄液を分析したところ，BALF 中の好酸球数が，OVA 感作した WT マウスでは著明に増加したのに対し，OVA 感作した BLT1 欠損マウスでは増加がみられず，感作していない状態と同様にマクロファージが主体であった.

OVA 感作した WT マウスで認められた BALF 中の IgE の増加は，OVA 感作した BLT1 欠損マウスでは増加しなかった．また，PAS 陽性の goblet 細胞が気道全周に占める割合は，OVA 感作した WT マウスで認められたのに対し，OVA 感作した BLT1 欠損マウスで大きく減弱していた.

各種サイトカイン・エイコサノイドのうち, IL-5, IL-13, LTB_4 は OVA 感作した WT マウスで増加していたが，OVA 感作した BLT1 欠損マウスではわずかに増加するもののWT マウスの増加分と比べて有意に低かった.

5. 同様に OVA 感作したマウスの傍気管リンパ節の細胞を OVA 刺激すると，OVA の濃度依存性の T 細胞の増殖が見られたが，WT マウスに比較して BLT1 欠損マウスでは有意に増殖速度が遅くなっていた．また，上清中の IL-5 と IL-13 についても，WT マウス，BLT1 欠損マウスともに OVA の濃度依存性に産生量が増加していたが， BLT1 欠損マウスでは WT マウスに比較すると産生量の上昇の程度は有意に低下していたことから，本喘息モデルにおける Th2 サイトカイン pathway において LTB_4 が重要な役割を演じていることが強く示唆された.

以上，本論文は BLT1 欠損マウスの作成と解析を行い，LTB_4 が炎症反応における最終的な伝達物質として機能するだけではなく，Th2 型免疫応答の形成においても重要な役割を担っていることを明らかにした．本研究により，BLT1 特異的な拮抗薬が気管支喘息を含む様々な免疫・炎症性疾患の予防や治療につながることが期待され，また BLT1 の生体内での機能解明にも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.