

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 川原井 晋平

本研究は、犬におけるアレルギー性皮膚炎の病態制御に関して、特に抗原回避による病態制御法の開発を目的として一連の研究を行ったものである。

第一章: 犬の食物過敏症の診断におけるアミノ酸とジャガイモからなる新規除去食の有用性に関する研究

アミノ酸とジャガイモからなる新規除去食(アミノプロテクトケア<sup>®</sup>)が東京大学とペットフード企業の共同研究によって開発された。本章では、食物過敏症(Food hypersensitivity, FH)の診断におけるアミノプロテクトケア<sup>®</sup>の除去食としての有用性を検討した。若齢時(多くは3歳齢未満)からの非季節性の痒みを伴う慢性皮膚疾患があり、ノミ過敏症および接触性過敏症の他、感染性(寄生虫性・真菌性・細菌性)皮膚疾患が除外され、FH または FH とアトピー性皮膚炎(Atopic dermatitis, AD)の両方を有する可能性がある20例を対象とした。飼い主の同意のもとで、アミノプロテクトケアによる2ヶ月間の除去食試験を行った。除去食試験前、中、後に、痒みスコアおよびプレドニゾロン(PDN)投与回数を記録するとともに、皮膚病変の程度を犬アトピー性皮膚炎重症度指数(CADESI)によって評価した。除去食試験を開始した20例のうち、15例では試験を完了することができたが、5例は途中で脱落した。その中止の理由としては、嗜好性の問題(3例)、皮膚症状の悪化(1例)、および下痢(1例)が挙げられた。試験前後の臨床スコアの変化を総合的に判断した結果、除去食試験を完了した15例のうち10例において症状が改善した。さらに、除去食試験有効例10例のうち9例において食物負荷試験を実施した。その結果、9例中6例において、豚肉、牛肉、鶏肉などの食物の投与によって皮膚症状が誘発されたことから、これら食物に対するFHが存在することが示された。アミノプロテクトケア<sup>®</sup>を用いた除去食試験と食物負荷試験によってFHを診断できることが明らかとなり、そのFHの診断における臨床的有用性が示された。

第二章: HDMに感作された犬のアトピー性皮膚炎における防ダニ寝具を用いた環境改善効果に関する研究

HDMはADにおける主要な感作抗原のひとつである。HDMに感作された犬のAD症例において防ダニ寝具(ダニゼロック<sup>®</sup>)を用いた環境改善効果を臨床症状とHDM特異IgE値によって検討した。Willemseの提唱したADの診断基準を満たし、かつ皮内反応および血清IgE検査においてHDM陽性の成犬6症例を対象とした。飼い主の同意のもと、家庭内の寝具を防ダニ寝具と交換し、20週以上にわたり観察した。治験開始前後に室内塵中のHDM抗原量(Der 1量)を定期的に測定し、環境改善前後における症例の臨床症状をCADESI、

痒みのスコアおよび PDN 投与回数によって評価した。6 症例中 4 症例において室内塵中の Der 1 量を人の喘息の感作閾値である  $2\mu\text{g/g dust}$  未満に維持することが可能であった。Der 1 量を低値に維持することができた 4 症例のすべてにおいて臨床症状の緩和傾向を認め、さらに 4 症例中 3 症例において HDM 特異的 IgE 値が減少した。以上の結果から防ダニ寝具による室内環境改善が HDM に感作された AD の臨床症状のコントロールに有効であることが示唆された。

### 第三章：犬の皮膚肥満細胞培養系の確立とその骨髓肥満細胞との比較

健康犬から皮膚肥満細胞培養系を確立し、その細胞の性状を骨髓由来肥満細胞と比較した。皮膚由来肥満細胞を採取するため、皮膚片を酵素処理し、細胞を単離後、犬リコンビナント Stem cell factor (SCF) を添加した無血清 AIMV 培地を用いて 4~6 週間培養した。肥満細胞の純化は抗マウス c-kit 抗体を用いた磁気細胞分離システム (MACS<sup>®</sup>) によって行った。純化した細胞は均一な単核円形浮遊細胞であり、豊富な異染性顆粒を有していた。フローサイトメトリーによる解析において、これら細胞は c-kit および FcεRI 陽性であり、純度は  $91.7\pm 6.6\%$  であった。免疫染色および酵素化学染色の結果、細胞質内顆粒はトリプターゼおよびキマーゼを含有し、MCTC 型であることがわかった。皮膚肥満細胞は骨髓由来肥満細胞と比較して、トリプターゼおよびキマーゼをより多く含有していたが、細胞表面上の FcεRI の発現量が低く、FcεRI の架橋刺激による脱顆粒量も少ないことが示された。今回、確立した皮膚肥満細胞培養系はアレルギー性皮膚炎における免疫学のおよび薬理学的解析に有用であると考えられた。

今回の一連の研究は、犬におけるアレルギー性皮膚炎の病態制御に関し、臨床的有用性を示した新たな知見を提供するものである。

本申請論文を審査した結果、博士（獣医学）の学位を授与するに値すると判断した。