

(別紙 2)

## 審査の結果の要旨

氏名 浦崎 康代

本研究はマクロライド系抗生物質であるロキシシロマイシン (roxithromycin; RXM) の抗炎症効果のメカニズムを解明するために、*in vitro* で末梢血 T 細胞の共刺激シグナルを介した実験を行った。主刺激として CD3 モノクローナル抗体 (monoclonal antibody; MAb) を用い、共刺激には CD26MAb および CD28MAb を用いた。陽性コントロールとして PMA (phorbol myristate acetate) を用い、T 細胞を共刺激した。このとき、RXM が T 細胞の増殖に影響するかを検討した。また、共刺激シグナルを介して産生されるサイトカインについては Th-1 タイプ、Th-2 タイプサイトカイン及び炎症性サイトカインの産生を同様の実験方法で ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) を用いて測定した。さらに末梢血より分離したマクロファージを LPS (lipopolysaccharide) により活性化し RXM を加えることで、炎症性サイトカイン産生に対する影響を ELISA を用いて検討した。また炎症の際のリンパ球の遊走への RXM の影響を分離した T 細胞と HUVEC を用いて細胞遊走能試験により検討した。

*In vivo* の系での RXM の作用として、RA のモデルマウスである CIA マウスを用いて、RXM を経口投与しその治療効果を検討した。その間の経時的な血清中の各サイトカイン濃度は ELISA にて測定し、RXM の CIA マウス関節炎組織への影響は、マウスの足関節のヘマトキシリン-エオジン (hematoxylin and eosin; HE) 染色により組織学的に解析した。下に結果を記した。

- 1 主刺激として抗 CD3MAb を、共刺激として抗 CD26MAb, 抗 CD28MAb または PMA を使用し、ヒトの T 細胞を共刺激した系において、RXM の活性化 T 細胞の細胞増殖への影響を解析した結果、RXM はどの刺激による細胞増殖にも影響を与えなかった。
- 2 1 と同様のヒト活性化 T 細胞を用い、RXM を加えた際の Th1 (IL; interleukin-2,

IFN; interferon- $\gamma$ ) 及び Th2 (IL-4, IL-5) タイプサイトカインの産生量を ELISA により測定したところ、RXM はその産生に影響を与えなかった。

3 1と同様のヒト活性化 T 細胞に RXM を加えた際に炎症性サイトカインである TNF (tumor necrosis factor) - $\alpha$ , IL-6 の産生量を ELISA により測定したところ、RXM は濃度依存的にその産生量を有意に抑制した。

4 LPS により活性化させたヒトのマクロファージに RXM を加えた際に、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ , IL-6 の産生量を ELISA により測定したところ、RXM は濃度依存的にその産生量を有意に抑制した。

5 PMA により活性化させたヒト T 細胞による細胞遊走能への RXM の影響を解析した結果、RXM は濃度依存的に活性化 T 細胞の細胞遊走を有意に阻害した。

6 CIA マウスに 2 回目の免疫時から RXM を 2 週間経口投与した結果、用量依存的に関節炎スコアが有意に抑制され、HE 染色による組織学的解析からは関節炎の悪化及び骨・軟骨破壊の進行の抑制が認められた。

7 CIA マウスの血清中 IL-6 の濃度は高用量の RXM を投与したマウス群で 2 回目の免疫時から 7 日後に有意に抑制された。

以上、本論文はロキシシロマイシンの抗炎症作用の解析の結果、ロキシシロマイシンは T 細胞、マクロファージからの炎症性サイトカインの産生及び活性化 T 細胞の細胞遊走を阻害し、関節リウマチのモデル関節炎の悪化を抑制することを初めて明らかにした。本研究は、関節リウマチの新規治療薬の開発に貢献すると考え、学位の授与に値するものと考えられる。