

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 鈴川真穂

喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患は世界中で罹患率が増加傾向にあり、病態解明と治療確立は急務となっている。慢性アレルギー疾患において好塩基球の局所への浸潤が報告されており、組織中の好塩基球はアレルギー疾患の病態形成に重要な役割を果たすものと考えられている。好塩基球は血流中に存在するため炎症局所に浸潤する機構は存在するはずだが、好塩基球の集積過程は全てが明らかにはされていない。本研究では好塩基球の炎症局所への集積機構を明らかにすることを目的に検討されており、以下の結果を得ている。

1. anti-Fc γ RII-chain mAb, CRA-1 を用いた Fc γ RI 架橋刺激は、既知の好塩基球遊走因子である eotaxin, MCP-1, PGD₂, C5a などに比較して弱いものの、好塩基球を遊走させた。CRA-1 mAb による好塩基球遊走は主に chemotaxis であった。CRA-1 mAb による好塩基球遊走は、脱顆粒、CD11b 発現増強を引き起こす濃度より低濃度で惹起された。
2. Der f に対する RAST 陽性の喘息患者由来の好塩基球は、Der f 2 に対して遊走した。
3. Syk の欠損が報告されている nonreleaser 好塩基球は CRA-1 mAb に対し遊走しなかったことから、CRA-1 mAb による好塩基球遊走には Syk が関与していることが示唆された。
4. CRA-1 mAb 1 ng/ml 存在下では、好塩基球の CCR3 発現レベルには変化が見られなかったが、好塩基球の eotaxin に対する遊走は有意に増強した。
5. 人工基底膜モデルである Matrigel を用いて好塩基球の基底膜通過機構を検討したところ、上室に IL-3 300 pM を加えると、好塩基球の基底膜

通過遊走は増強し、下室に IL-8、RANTES、5-oxo-ETE および PAF を加えることでさらに増強した。ケモカインレセプターの中和実験より、好塩基球の基底膜通過遊走には、CCR3 のみならず、CCR1、CXCR1 など複数のケモカインレセプターが関与していることが判明した。

6. インテグリンの構成成分である CD29 及び CD18 の中和抗体を用いて実験を行ったところ、anti-CD18 Ab は好塩基球基底膜通過を著明に抑制したが、anti-CD29 は抑制しなかった。
7. MMP-2、MMP-9 の阻害剤を用いて好塩基球基底膜通過遊走を検討したところ、最大 75%と著明に抑制されたことより、好塩基球の基底膜通過には MMP-2、MMP-9 が関与していることが示唆された。
8. real-time PCR の結果、好塩基球において MMP-2 の mRNA 発現は低レベルであり、MMP-9 の発現レベルは好酸球と同等かやや高レベルであった。MMP-2、MMP-9 のタンパク発現をフローサイトメトリーで解析したところ、好塩基球細胞表面の MMP-9 は高レベルで発現を認め、さらに IL-3 300 pM で処理後は発現レベルが増強した。免疫染色により、好塩基球の細胞質に MMP-9 の染色を認めた。細胞の培養上清中に遊離した MMP-9 を ELISA により測定したところ、好塩基球は測定感度内で MMP-9 を分泌していたが、その量は好中球より低かった。
9. 喘息発作患者を対象に、好塩基球を用いて MMP-9 の細胞表面発現を解析したところ、喘息発作患者由来の好塩基球では健常人好塩基球と比較して、細胞表面の MMP-9 発現が増強していた。

以上、本論文は好塩基球の集積機構に関して詳細に解析している。Fc γ RI、IgE を介した刺激が好塩基球を遊走させることを明らかにし、好塩基球の基底膜通過機序を解明した。これらの結果は新規であり、今後アレルギー性疾患の制御機構に関する研究に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると思われる。