

氏名（本籍） 岡 田 信 司

学位の種類 博士（医学）

学位記番号 医 第 2501 号

学位授与年月日 平成 5 年 2 月 24 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最終学歴 昭和 60 年 3 月 31 日
山形大学医学部医学科卒業

学位論文題目 Role of interleukin-1 in late asthmatic reactions.
(遅発型喘息反応におけるインターロイキン-1
の役割)

(主 査)

論文審査委員 教授 白 土 邦 男 教授 佐々木 英 忠

教授 菅 村 和 夫

論文内容要旨

インターロイキン-1 (IL-1) は、種々の活性を有する炎症性サイトカインであり、敗血症、関節炎等、多くの病態に関与することが示されてきた。気管支喘息においては、有症時の気管支肺胞洗滌液中に IL-1 が増加しているという報告があり、現在、気道の炎症性疾患として認識されつつある気管支喘息においても、その病態への IL-1 の関与が示唆されている。

遅発型喘息反応 (LAR) は、一部の気管支喘息患者において、抗原暴露 4~5 時間後から認められる気道のアレルギー性炎症反応であり、気管支喘息の病態を理解する上で、有用な反応と考えられている。現在まで、種々の動物モデルが、この LAR の病態を明らかにするために開発されてきている。我々もまた、感作モルモットにおいて、LAR の出現を認めている。我々は、モルモット LAR モデルにおいて、IL-1 の関与を検討した。

第一に、我々は、多クローン性抗 IL-1 β 抗体を用いた免疫染色により、抗原暴露後の IL-1 β の出現を検討した。次に、IL-1 ファミリーの一員であり、IL-1 受容体に対し、共働作用を有さない蛋白である IL-1 レセプターアンタゴニスト (IRAP) を用い、LAR への IL-1 の関与、また、気管支肺胞洗滌液 (BALF) 中の細胞、好酸球への影響を検討した。さらに、呼吸機能、モルモット好酸球への IL-1 の直接作用の有無も検討した。

モルモットは、アスカリス抽出液にて感作した。吸入による最終感作より 1 週間後、麻酔、気管切開、自発呼吸下にアスカリス抗原を 30 秒間、2 回吸入した。免疫染色のために、吸入前、30 分、1・2・4 時間後、それぞれ、モルモットより肺を摘出した。IRAP は、抗原吸入の 30 分前に、1 mg/kg を静注した。呼吸機能の変化の指標として、ミッド・ボリューム法による肺抵抗 (RI) を用い、抗原吸入暴露の 6 時間後まで観察した。このモルモットで、6 時間後の BALF 中の細胞成分を検討した。また、別のモルモットで、抗原吸入 5 時間後の BALF 中の細胞成分、好酸球密度分布の検討を行った。

免疫染色の結果、IL-1 陽性細胞は、抗原暴露前より、気道内等にわずかに認められたが、抗原暴露後 2 時間から 4 時間にかけて粘膜下層、気管支周囲領域に出現、増加が認められた。肺胞領域では、IL-1 陽性細胞は、わずかであった。IL-1 陽性細胞は、単核細胞であり、その数から考えて、気道内の組織マクロファージであろうと思われた。

IRAP を前投与した群では、投与しない群に比べ、IAR、LAR とも、RI の上昇が抑制される傾向にあった。遅発層 5 時間で、有意差を認めた。IL-1 が LAR に関与していることが示された。組み換え IL-1 β を、直接モルモット気道内に注入しても RI に影響を与えなかったことから、IL-1 の LAR への関与は間接的なものと考えられた。

BALF中の細胞成分では、抗原暴露後、IRAP投与群、非投与群とも、生食吸入群と比べ、好酸球の3倍近い著明な増加を認めた。また、リンパ球も増加していたが、マクロファージ、好中球の数は変わりなかった。IRAPの投与によっては、細胞数に変化を与えなかった。しかし、さらに好酸球の密度を検討したところ、IRAP投与群で、低密度好酸球の割合が、非投与群と比べて有意に低下していた。LARにおいて、好酸球の活性化にIL-1が関与していることが示された。精製したモルモット好酸球に対し、組み換えIL-1が、活性化を起こさなかったことから、この好酸球の活性化は、間接的なものであらうと考えられた。

今回の実験で、モルモットLARにおいて、IL-1が産生されており、それが、好酸球の活性化、LARのRIの上昇に関与していることが示された。好酸球は、呼吸機能を増悪させる種々の物質を放出することが知られており、少なくとも一部、IL-1が、好酸球を活性化し、LARを増強させたものと考えられる。また、IL-1による好酸球の活性化は、間接的なものであり、IL-1により、リンパ球、血管内皮細胞、気道上皮細胞等が活性化されて増強された可能性が考えられる。また、IL-1レセプターアンタゴニストが、LAR及び好酸球の活性化を抑制する効果を有することが明らかになり、この物質が気管支喘息の治療薬となり得る可能性も同時に示唆された。

審査結果の要旨

近年、種々のサイトカインが気管支喘息の患者において検出されるようになり、それらの気管支喘息の病態への関与が示唆されている。なかでも IL-1 は、免疫反応、炎症反応において、種々の活性を有するサイトカインであり、気管支喘息において重要な役割を果たしていることが予測されるが、他のサイトカインと同様、気管支喘息の病態への関与は現在のところ明かでない。

モルモット遅発型喘息反応 (LAR) モデルは、第一内科において開発、改良された動物モデルであり、気管支喘息の病態を解明する上で極めて有用なモデルである。本研究で著者は、上記のモデルを用い、IL-1 の産生及びその LAR への関与を検討した。IL-1 の産生に関しては、多クローン性抗 IL-1 抗体を用いた免疫染色により検討し、抗原暴露の 2 時間から 4 時間後にかけて気道壁内の単核球性浸潤細胞における IL-1 の産生が見られた。IL-1 の LAR への関与に関しては、IL-1 ファミリーの一員であり IL-1 レセプターに対して促進作用を有さない蛋白である IL-1 レセプターアンタゴニストを用い、肺抵抗 (RL) の変化及び気管支肺胞洗浄液中の細胞成分の変化への影響を検討した。IL-1 レセプターアンタゴニストは、遅発相での R1 の上昇を抑制した。しかし、IL-1 自身には RL を直接増加させる作用はなく、また IL-1 レセプターアンタゴニストは細胞成分の数には影響を与えなかったものの、好酸球の中で高比重好酸球数に対する低比重好酸球数の比の増加を抑制していた。好酸球の低比重化は好酸球の活性化を意味するところから、この結果は IL-1 が好酸球の活性化に関与していることを示唆している。好酸球からは、RL を増加させる種々の化学伝達物質が放出されることが知られており、よって今回のモデルでは抗原暴露時に放出される IL-1 により最終的に好酸球の活性化を生じ、LAR の増強をもたらす可能性が示唆された。

いまだ気管支喘息及びそのモデルにおいて IL-1 の関与を報告したものはなく、本研究は、抗原暴露喘息の *in vivo* モデルにおいて組織内の IL-1 の産生細胞の特定と、また好酸球の活性化に IL-1 が関与することを示した最初の報告である。IL-1 の LAR への関与の過程に関しては今回の実験では未だ十分な解明が行われたとはいえないが、モルモット LAR モデルにおいて、その反応の大きさ及び好酸球の活性化が IL-1 レセプターアンタゴニストによって抑制されたことは、IL-1 が喘息におけるひとつの重要な生体内物質である可能性を示し、さらに喘息の治療における新しい方向性を提示したものである。以上のごとく、本論文は目的においても、また方法論、結果、またその考察においても要を得た、また貴重なデータを提出したものと考えられ、よって本論文は学位に値するものと考えられる。