

氏 名（本籍）	たか 高	はし 橋	ひて 秀	のり 徳
学位の種類	博 士（医 学）			
学位記番号	医 博 第 1 8 3 6 号			
学位授与年月日	平 成 1 4 年 3 月 2 5 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻			
学位論文題目	Increased susceptibility to airway allergic responses in CD40 deficient mice （CD40欠損マウスにおける気道アレルギー反応の亢進）			

（主 査）

論文審査委員	教授 佐々木 英 忠	教授 田 上 八 朗
	教授 飛 田 涉	

論文内容要旨

B細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞上に発現するCD40と、ヘルパーT細胞上に発現するCD40Lの相互作用は、効果的な免疫獲得において必要不可欠である。特に抗体のクラススイッチやgerminal centerの形成に必須であることが明らかになっており、アレルギーを含む体液性免疫応答で重要な役割を担っている。

一方、気管支喘息はアレルギーの機序がその発症及び増悪に強く関与していることが知られていることから、CD40-CD40Lは喘息性気道炎症に強く関わっていると考えられる。近年、気道アレルギー反応におけるCD40-CD40Lの役割を調べるため、CD40欠損マウスやCD40L欠損マウスを使った動物モデルの研究が報告されている。CD40欠損マウスを使ったHoganらの実験では、卵白アルブミン(OVA)を腹腔内に免疫し、その後OVAを吸入させると、CD40欠損マウスでは抗OVA-IgE産生は認められなかったが、気道への炎症性細胞浸潤及び気道過敏性亢進は対照群と同程度認められたと報告されている。それに対して、CD40L欠損マウスを使ったLeiらの実験では、気道への炎症性細胞浸潤が有意に抑制されたと報告されている。このように一部異なる結果が報告されており、気道アレルギー反応におけるCD40-CD40Lの役割ははっきりしない点がある。

そこで私は、OVA特異的TCRを持つトランスジェニックマウスとCD40欠損マウスを交配させ、遺伝子的にOVAにプライミングされた状態のCD40^{-/-}/TCRtgマウスを作成した。そのマウスに、より生理的感作経路と考えられる鼻腔粘膜から比較的大量のOVAを投与することで、気道炎症を誘発させることができた。その反応を対照群(CD40^{+/+}/TCRtgマウス)と比較することで喘息の病態形成におけるCD40-CD40Lの役割を検討した。

OVA溶解液を実験動物の鼻腔に滴下投与し、72時間後OVAの吸入暴露を行うことで肺腔への炎症性細胞浸潤を誘導した。その24時間後、①BAL内の細胞浸潤の評価及びIL-4・IFN- γ の測定、肺組織学的検討、②メサコリン吸入時の気道過敏性測定、③肺門部リンパ節由来CD4⁺T細胞の細胞内サイトカイン分析(Th1/Th2比)を行った。また、採取した血清の総IgE値を測定した。

実験結果をまとめると、対照群と比べてCD40^{-/-}/TCRtgマウスの方がより強い好酸球性気道過敏性亢進を示すことが観察された。①BAL内の炎症性細胞数は両群ともOVA滴下量に依存して増加した。その変化は総細胞数やリンパ球数に関しては両群間に有意な差は認められなかった。しかし、好酸球数は対照群に比較してCD40^{-/-}/TCRtgマウスにおいて有意に増加していた。②メサコリン吸入による気道過敏性は、対照群では亢進が認められなかったのに対して、

CD40^{-/-}/TCRtg マウスの OVA 感作群は非感作群と比較して 50% effective concentration (EC₅₀) が有意に低値を示しており、CD40 非存在下ではむしろ気道過敏性亢進が誘導され易いことが示唆された。また、③ 細胞性免疫と液性免疫のバランスの指標とされる Th1/Th2 比は、OVA 感作後の CD40^{-/-}/TCRtg マウスで有意に低値を示した。BAL 内の IL-4 は両群で同程度であったのに対して、IFN- γ は CD40^{-/-}/TCRtg マウスで有意に低値であったことから、CD40 欠損下では IFN- γ を産生する Th1 細胞の誘導が弱く、Th1/Th2 比が低値を示し、免疫応答は液性免疫に傾くと推察された。EC₅₀ と Th1/Th2 比を検討したところ正の相関関係が認められ、更に気道内への好酸球細胞浸潤数と Th2/Th1 比 (Th1/Th2 比の逆数) にも正の相関関係が認められた。血清総 IgE 値は全ての実験群で極めて低値を示し、今回の実験期間では抗原特異的 IgE を誘導するに至らないこと、また、気道アレルギー反応の形成には IgE 産生は必ずしも必要ではないことが示唆された。

以上のことから、喘息の病態形成において CD40-CD40L 相互作用はヘルパー T 細胞のバランスが Th2 優位に偏るのを抑え、好酸球性気道過敏性亢進を抑制する役割を有することが示唆された。更に今回使用したマウス喘息モデルは、血清 IgE 値上昇を認めない気管支喘息という点で、非アトピー型気管支喘息の臨床的特徴と類似し、同疾患の病態形成の理解に活用できる可能性が示唆された。

審査結果の要旨

抗原提示細胞上に発現する CD40 とヘルパー T 細胞上に発現する CD40L の相互作用は、効果的な抗体のクラススイッチや germinal center の形成に必須であることから、アレルギーを含む体液性免疫応答で重要な役割を担っている。一方、気管支喘息はアレルギーの機序がその発症及び増悪に強く関与していることが知られていることから、CD40-CD40L は喘息性気道炎症に強く関わっていると考えられる。本論文では、より特異的な気道アレルギー反応を観察するために OVA 反応性トランスジェニックマウスから作成した CD40 欠損マウスモデルを用い、より生理的免疫方法として経鼻的感作という独創的な手法で CD40 の気道アレルギー反応における役割を追及した。

研究結果は意外にも、対照群と比べて CD40 欠損マウスの方がより強い好酸球性気道過敏性亢進を示すことが観察された。そのメカニズムとして細胞性免疫と液性免疫のバランスの指標とされる Th1/Th2 比を観察し、Th2 上昇、Th1 低下という現象から CD40 欠損マウスでの気道アレルギー反応亢進を説明するに至っており、考察も充分なされており、学位論文として内容的には問題ないという評価がされた。また、EC₅₀ と Th1/Th2 比の相関関係や好酸球細胞浸潤数と Th2/Th1 比の相関も記されており、喘息の病態形成において CD40 は免疫バランスが Th2 優位に偏るのを抑えて、好酸球性気道過敏性亢進を抑制する役割を有すると明瞭にまとめられている。更に、血清 IgE 値上昇を認めない気管支喘息という点で、非アトピー型気管支喘息の病態形成の理解に活用できる可能性が示唆されている。

以上より、本論文は学位論文に値すると認める。