

学 位 論 文 題 名

Role of Eosinophils in Late Asthmatic Response  
Experimentally Induced in a Guinea Pig.

（モルモット遅発型喘息反応における好酸球の役割に関する研究）

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

好酸球は元来外因性の侵襲、主に寄生虫に対し生体防御の要となる細胞である。好酸球は、寄生虫感染時に増加することが知られ、その細胞内には寄生虫を殺滅あるいは排除するための傷害因子や各種メディエーターが含まれている。同様に、アレルギー疾患患者でも好酸球増多は認められるが、この疾患は高度文明社会で寄生虫感染症が減少したのに逆比例して増加してきた。つまり、寄生虫感染減少とともにその防御機構である好酸球が迷走し、攻撃対象を自己に向け始めたことがアレルギー疾患増加の原因の一つと考えられている。しかしながら、アレルギー疾患と好酸球に関する研究は、まだ緒についたばかりであり、その浸潤活性化機序や病態悪化との関係については未だ明らかにされていない。そこで、本研究ではアレルギー性喘息モデルを作製し、好酸球の役割およびその浸潤機序について検討した。

気管支喘息は1960年代以降、一過性の気道収縮性疾患であると考えられてきた。しかしながら、気管支喘息患者に抗原を吸入誘発すると、15分以内に気道収縮を主体とした即時型喘息

反応(IAR)が認められるが、一旦緩解した後、数時間後に気道抵抗の再上昇、つまり遅発型の喘息反応(LAR)が発現することが明らかにされた。LARは臨床上IARに比べ気道狭窄時間が長く、気管支拡張薬よりもステロイドが奏効すること、高度な好酸球浸潤や気道過敏性を示すなど、より重症な慢性難治性気管支喘息病態と類似していることからLARと好酸球に関する研究は、気管支喘息の重症化、難治化を解明する手がかりと考えられ、より効果の高い薬物開発を進める上で重要と考えられる。

現在のところヒトのLARに相当する動物モデルの開発は試みられてはいるが、LARの発現率、再現性、強度の点で充分その目的を果たすまでは至っていない。そこで本研究ではモルモット遅発型喘息モデルを開発し、喘息病態発症と好酸球浸潤との関わりについて様々な側面から検討を行った。

さらに、近年、喘息発症メデイエーターとして注目されているアラキドン酸代謝物と好酸球浸潤および活性化の関係について検討し、好酸球の浸潤活性化機序について考察した。

#### I.モルモット遅発型喘息モデルの作製と喘息病態発症における好酸球の役割.

モルモットを用い、卵白アルブミンを抗原に全身性感作と吸入感作を併用することにより、ヒトLARに類似した反応を惹起する遅発型喘息モデルの作製に成功した。本モデルは、再現性、発現率が高いこと、高度な好酸球浸潤および気道過敏性を示すこと、既存の抗アレルギー薬では効果がなく、

ステロイドが有効であるなど、病態学的にも、薬理的にもヒト喘息と近似していた。

また、生体の好酸球数をinterleukin 5や抗好酸球抗体などで調節することにより、肺気道組織への浸潤好酸球数と喘息の基本病態と考えられる気道過敏性あるいは遅発型気道狭窄強度との間に明らかな相関性が認められた。さらに好酸球超音波破碎液吸入により高度な気道過敏性が誘発された。よって、好酸球が喘息の病態悪化に重要な役割を担っていることが明らかになった。

本モデルでは、Thromboxane合成酵素阻害薬およびpeptidyl leukotriene拮抗薬が有効であり、喘息の新しい治療薬としての可能性が示唆されるとともに、喘息反応発症thromboxaneやleukotrieneの関与が示唆された。また、好酸球浸潤へのthromboxaneやleukotrieneの関与が想定され、以下II, III章で検討した。

## II. 好酸球浸潤および活性化に対するprostanoidの関与

-thromboxane合成酵素阻害薬CS-518の作用機序について-

CS-518は、遅発型喘息モデルにおいて好酸球浸潤を顕著に抑制した。そこで、その作用機序を検討するために、thromboxane拮抗薬(AA-2414)およびcyclooxygenase阻害薬(indomethacin)を対照薬に好酸球浸潤および活性化に及ぼす影響について比較検討した。CS-518はアレルギー喘息モデルで認められる高度な好酸球浸潤を抑制し、また好酸球活性化の指標とされる低比重化も抑制した。さらに、in vitro試験において

好酸球の遊走、酵素遊離、活性酸素産生を抑制したが、それらの作用はAA-2414やindomethacinには認められなかった。

CS-518は肺気道組織および好酸球において、抗原や活性化因子の刺激に基づく顕著なthromboxane産生を抑制するとともに、prostaglandin I<sub>2</sub>やprostaglandin E<sub>2</sub>産生を亢進させることを明らかにし、また産生されたprostaglandin I<sub>2</sub>やE<sub>2</sub>が、好酸球活性化抑制作用を有することを証明した。したがって、CS-518はthromboxane産生を抑制するだけでなくprostaglandin I<sub>2</sub>やE<sub>2</sub>の産生を増強することにより、好酸球活性化を抑制し、さらには喘息反応を抑制したものと推定された。

### III. 好酸球浸潤および活性化におけるpeptidyl leukotriene(pLTs)の関与

Leukotriene B<sub>4</sub>は白血球遊走因子として良く知られているが、他方同じ5-lipoxygenase代謝物であるpLTs (LTC<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>)は、それ自身遊走活性がないことから好酸球浸潤への関与について顧みられなかった。しかしながら、遅発型喘息モデルでpLTs拮抗薬が好酸球浸潤を顕著に抑制したことから、pLTsの好酸球浸潤への関与について検討を行った。

pLTsをモルモットに吸入させたところ、高度な好酸球浸潤が誘発され、同時に肺胞洗浄液中に未知の好酸球遊走因子の産生亢進が認められた。その遊走因子産生はin vitroでも確かめられた。さらにpLTsは、血管内皮との接着亢進、酵素遊離、thromboxane産生などの好酸球活性化を誘発し、その活性は最も選択性の高い好酸球活性化因子PAFよりも強力であった。以上

より好酸球性炎症にpLTsが重要な役割を担っていることが明らかとなった。

以上本論文では、ヒト遅発型喘息反応に類似したモルモット遅発型喘息モデルの作製を通して、好酸球が喘息病態の発症あるいは悪化に深く関与していることを明らかにした。加えて、好酸球性炎症には、遊走因子でないpeptidyl leukotrieneが関与していること、prostaglandin I<sub>2</sub>およびE<sub>2</sub>が好酸球性炎症を抑制するという知見が得られ、今後の喘息治療に新しいアプローチを与えたと考えられる。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 神 谷 正 男  
副 査 教 授 中 里 幸 和  
副 査 教 授 藤 田 正 一  
副 査 助 教 授 奥 祐 三 郎

学 位 論 文 題 名

### Role of Eosinophils in Late Asthmatic Response Experimentally Induced in a Guinea Pig.

(モルモット遅発型喘息反応における好酸球の役割に関する研究)

好酸球は、元来、寄生虫などに対する生体防御の要となる細胞であるが、アレルギー疾患でも増加することから、アレルギー疾患発症における好酸球の役割が注目されている。本研究はアレルギー疾患の中でも特に治療抵抗性を示す喘息の病態発現における好酸球の役割およびその浸潤機序について検討したものである。

喘息の定義は、最近、気道の収縮性疾患から好酸球性炎症性疾患へ変更されたが、その背景には遅発型喘息反応の発見がある。遅発相とは喘息患者で抗原吸入後の急激な発作の数時間後に発現するステロイド感受性の発作であり、高度な好酸球浸潤や気道反応性亢進を示すなど慢性喘息病態と類似し、遅発相に関する研究は、喘息の発症機序の解明や効果の高い薬物開発に重要と考えられる。そこで、申請者はモルモットを用い、ヒト遅発相に相当する動物モデルの作製を試み、その特徴から充分目的を果たしたモデルの確立に成功した。本モデルでは浸潤好酸球数と気道過敏性あるいは遅発型気道狭窄強度との間に相関性が認められ、好酸球が喘息の病態悪化に重要な役割を担っていることが明らかになった。また、トロンボキサン合成酵素阻害薬およびペプチドロイコトリエン拮抗薬が有効であり、新規喘息治療薬としての可能性を示唆するとともに、好酸球浸潤へのトロンボキサンやペプチドロイコトリエンの関与が想定され、さらに検討を行った。

トロンボキサン合成酵素阻害薬CS-518は、*in vivo*, *in vitro*において強力な好酸球浸潤遊走および活性化抑制作用を示した。この機序として、CS-518はトロンボキサン産生を抑制するだけでなく抗炎症性因子として今回証明されたプロスタグランジンI<sub>2</sub>やE<sub>2</sub>の産生を増強することにより、好酸球活性化を抑制したものと推定された。

また、5-リポキシゲナーゼ代謝物であるペプチドロイコトリエンは、それ自身遊走活性がないものの、遊走因子遊離、接着亢進、酵素遊離作用などを通して好酸球性炎

症に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

以上、本研究は、ヒト遅発型喘息反応に近似したモルモット遅発型喘息モデルの作製を通して、好酸球が喘息病態の発症、悪化に深く関与していることを明らかにし、加えて、好酸球性炎症に、遊走因子でないペプチドロイコトリエンが関与していること、プロスタグランジン I<sub>2</sub>およびE<sub>2</sub>が好酸球性炎症を抑制するという知見が得られ、今後の喘息治療に新しいアプローチを与えたと考えられる。よって審査員一同は伊藤一洋氏が博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。