

学 位 論 文 題 名

Studies on Experimental Asthmatic Model
using NC/Nga Mice

(NC/Nga マウスをもちいた実験的喘息モデルに関する研究)

学位論文内容の要旨

気管支喘息は世界に1億5千万人もの患者を数え、また年間に18万人が犠牲になる社会的にもきわめて影響の多い疾患である。近年、その罹患率が上昇傾向にあり、この疾患の病態の解析および、これに基づいた治療法の確立が求められている。

アレルギー性気管支喘息はアレルゲンの吸入によって可逆的に気道の閉塞と呼吸困難を引き起こす疾患である。この疾患では病理組織学的に気道周囲においてアレルギー性疾患に特徴的な好酸球を主体とした慢性炎症性反応を示す。患者の多くは血中IgEの高値をみること、アトピー性皮膚炎やアレルギー性鼻炎の経歴があり、いわゆるアレルギーマーチの経験者であることなどから、これらアレルギー性疾患の発症要因の間には、遺伝的背景を始めとして何らかの関連性が推測されていた。

喘息のモデルとしては、これまでモルモットやラットに抗原暴露をおこなう系がもちいられてきたが、アトピー素因をもつ動物をもちいたモデルがより正確な病態を反映することは明らかである。このような観点からBrown Norwayラットをもちいた系がいくつか確立されてきたが、免疫学的背景や遺伝的背景を詳細に解析することには不向きであり、主要組織適合抗原 (MHC) 遺伝子のハプロタイプが明らかとなっているマウスによる喘息モデルの確立が求められていた。

そこで著者は、NC/Ngaマウスが高IgE血症をともなうヒトのアトピー性皮膚炎のモデルとして広く解析されていることに着目し、アトピー性皮膚炎と発症要因に強い関連性があるとされる気管支喘息について、NC/Ngaマウスがモデルとしての特性を有するか否かについて検討した。

実験にはNC/Ngaマウスと対照動物としてMHCハプロタイプがNC/Ngaマウスと同型 ($H2^d$) であるBALB/cマウスをもちいた。これらのマウスに水酸化アルミニウムゲルと混和したOvalbumin (OVA)を実験開始の0および7日目に投与して感作をおこない、14日目にOVAを経鼻的に投与してチャレンジをおこなった。

抗原感作後に、喘息を引き起こす因子として最も重要視されている抗原特異的IgE産生と気道過敏性について評価を加えたが、NC/NgaマウスはBALB/cマウスより有意なIgE産生とアセチルコリン吸入に対する強い気道過敏性を示し、喘息を誘導しうる素因を有していることが明らかとなった。また、実際に抗原チャレンジ後に気道抵抗圧を観察したところ、NC/Ngaマウスで有意に高い気道抵

抗圧の亢進が認められた。

次いで、気道の炎症反応を観察する目的で、経時的に気管洗浄液中の炎症性細胞数の観察をおこなったところ、NC/Nga マウスでチャレンジ後24時間目から好酸球を主体とした細胞数の増加が認められた。さらに、対照マウスで48時間目にその数の減少がみられたのに対し、NC/Nga マウスでは増加傾向が続いており、著しいアレルギー性の炎症反応が引き起こされていることが示唆された。また、病理組織学的にも気道に著しい炎症性細胞の浸潤と気道上皮による粘液の分泌亢進が観察された。以上のことから、NC/Nga マウスが気管支喘息に特有の症状を強く引き起こしていることが明らかとなった。

このメカニズムを探る目的で、血中の白血球数の変動を観察したところ、NC/Nga、BALB/c両マウスでチャレンジ6時間後に一過性に好酸球数の上昇が認められたが、その後24時間目にはBALB/cマウスではこの数が減少したのに対し、NC/Nga ではさらなる増加が観察された。また、好酸球走化因子のmRNA発現を肺組織で観察したところ、BALB/cマウスでは6時間目に発現が誘導され以後減少するのに対して、NC/Nga マウスでは血中好酸球数が高い24時間目に発現が認められた。このことから、血中好酸球数の上昇と走化因子の発現の一致が、NC/Nga でみられた好酸球性炎症を顕著にしているものと考えられた。

NC/Nga マウスで認められた血中好酸球数の上昇は、この細胞の産生部位である骨髄で多くの好酸球が誘導されていることを示している。そこで、好酸球の分化に関与し、前駆細胞から好酸球を誘導するインターロイキン(IL)-3, IL-5, 顆粒球マクローフェージコロニー増殖因子 (GM-CSF)の存在下にて骨髄細胞の培養をおこない、骨髄の好酸球産生能を検討した。その結果、NC/Nga マウスの骨髄で有意に高い好酸球誘導が認められ、NC/Nga マウスの骨髄が高い好酸球産生能を有していることが明らかとなった。

さらに、アレルギー性炎症と関連が深いとされるIL-4, IL-5と、これらサイトカインと拮抗する働きを持つインターフェロン(IFN)- γ の発現をELISA法にて評価した。その結果、抗原チャレンジ後の気管洗浄液中IL-4, IL-5のレベルはNC/Nga マウスと対照動物のBALB/cマウス間で類似の発現パターンを示したが、IFN- γ のレベルはNC/Nga マウスで低かった。IFN- γ は*in vitro*の系で好酸球の誘導を抑制し、また喘息患者においてもIFN- γ の産生が低いという報告があることから、NC/Nga マウスで認められた著しい好酸球誘導に低いIFN- γ 産生が関与していることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 沼 操
副 査 教 授 橋 本 晃
副 査 教 授 松 田 浩 珍 (東京農工大)
副 査 助 教 授 大 橋 和 彦

学 位 論 文 題 名

Studies on Experimental Asthmatic Model using NC/Nga Mice

(NC/Nga マウスをもちいた実験的喘息モデルに関する研究)

アレルギー性気管支喘息はアレルゲンの吸入によって可逆的に気道の閉塞と呼吸困難を引き起こす疾患である。この疾患では病理組織学的に気道周囲にアレルギー性疾患の特徴とされる好酸球主体の慢性炎症性反応を示す。また、患者の多くに高値の血中IgEが見られ、アトピー性皮膚炎やアレルギー性鼻炎の病歴をもつことが多い。

NC/Ngaマウスは高IgE血症をとともなうヒトのアトピー性皮膚炎のモデルとして広く解析されている。そこで本研究では、アトピー性皮膚炎と発症要因に強い関連性があるとされる気管支喘息について調べ、NC/Ngaマウスの喘息モデルとしての有用性について検討した。

NC/Nga マウスと対照のBALB/cマウスをOvalbumin (OVA)で感作後、抗原特異的IgE産生と気道過敏性について調べた。その結果、NC/Nga マウスはBALB/cマウスより有意なIgE産生とアセチルコリン吸入に対する強い気道過敏性を示し、喘息を誘導しうる素因を有していることが明らかとなった。また、OVAで経鼻的にチャレンジをおこなうと、NC/Nga マウスの気管洗浄液中に好酸球が顕著に増加し、病理組織学的にも気道に強いアレルギー性の炎症反応が観察された。以上のことから、NC/Nga マウスでは気管支喘息に特有の症状が強く誘導されていることが明らかとなった。

この機序を知るために、血中の白血球数の変動を観察したところ、NC/Nga マウスでは24時間目でも好酸球の増加が観察された。また、肺組織での好酸球走化因子mRNA発現も血中好酸球数が高い24時間目に認められ、血中好酸球数の上昇と走化因子の発現の一致が、NC/Nga マウスでみられた好酸球性炎症を誘導しているものと考えられた。

次に、両マウスでの骨髄の好酸球産生能を検討した。その結果、NC/Nga マウスの骨髄で有意に高い好酸球誘導が認められ、NC/Nga マウスの骨髄が高い好酸球産生能を有していることが明らかとなった。

最後に、抗原チャレンジ後のサイトカイン産生について調べたところ、気管洗浄液中のインターロイキン(IL)-4, IL-5のレベルは両マウス間で差を認めなかったが、インターフェロン(IFN)- γ 産生はNC/Ngaマウスで低レベルであった。NC/Nga マウスでは低いIFN- γ 産生が著しい好酸球誘導を引き起こしたのと考えられる。

本研究は気管支喘息のモデル動物としてのNC/Nga マウスの有用性を示すと同時にその発現機序を明らかにしたものである。よって、審査員一同は岩崎忠氏が博士（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。