

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 山田大資

本研究は $\alpha E\beta 7$ および $\alpha 4\beta 7$ インテグリンがⅢ型アレルギーにおいてどのような役割を果たしているかを、 αE および $\beta 7$ インテグリン遺伝子欠損マウスを用いてⅢ型アレルギーの動物実験モデルである逆受動アルサス反応を用いて検討しており、下記の結果を得ている。

1. αE インテグリン欠損マウス、 $\beta 7$ インテグリン欠損マウスともに腹腔逆受動アルサス反応が低下していた。 $\beta 7$ 欠損マウスにおいては好中球およびマスト細胞数が低下していたが、 αE 欠損マウスでは好中球数のみ低下していた。好中球数の低下はアルサス反応4時間後のみ見られ、8時間後には野生型マウスと各インテグリン欠損マウスに有意差は見られなかった。反応4時間後の腹腔洗浄液中のIL-6、TNF- α 濃度は野生型に比し低下していた。

2. αE 欠損マウス、 $\beta 7$ 欠損マウスともに皮膚逆受動アルサス反応は低下していた、腹腔では反応4時間後にのみ低下していたが、皮膚においてはアルサス反応8時間後の出血のみ有意差が見られ、4時間後の浮腫では野生型マウスと各インテグリン欠損マウスの間に有意差は見られなかった。反応8時間後の皮膚組織からのmRNAの定量的PCRにて $\beta 7$ 欠損マウスはIL-6およびKCが低下しており、 αE 欠損マウスではIL-6のみ低下していた。

3. アルサス反応においてはマスト細胞のFc受容体を介した免疫複合体の認識およびそれに引き続く炎症により好中球浸潤が生じることが知られている。そのため、これらの細胞における αE および $\beta 7$ インテグリンの発現をFACSで検討した。マスト細胞は $\alpha 4\beta 7$ インテグリンを発現し、好中球には $\alpha E\beta 7$ も $\alpha 4\beta 7$ インテグリンも発現していなかった。

4. $\beta 7$ 欠損マウスにおいては腹腔および皮膚アルサス反応でのマスト細胞数が低下していたが、これは $\alpha 4\beta 7$ インテグリンを介したマスト細胞浸潤が働かないためと推察された。 αE 欠損マウスでのアルサス反応低下には好中球・マスト細胞以外の $\alpha E\beta 7$ インテグリンを発現する細胞の関与が考えられた。 αE インテグリンを発現しうる細胞(CD8+T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、樹状細胞)に関して腹腔逆受動アルサス反応2時間後の細胞数を検討したところ、CD8+T細胞のみ αE 欠損マウスで低下していた。また、野生型マウスのCD8+T細胞の約50%に αE インテグリンは発現していた。これらの結果から、 αE 欠損マウスにおいては、 αE インテグリンを介したCD8+T細胞の遊走が阻害されるため、アルサス反応の低下を来すと考えられた。

5. α E欠損マウスにおいて遊走が阻害されていると考えられる α E陽性CD8+T細胞が実際にアルサス反応において重要な役割を果たす細胞か検討するために、 α E陽性CD8+T細胞をMACSで分離し、RNAを抽出し、定量的PCRでその発現を検討したところ、 α E陽性CD8+T細胞は α E陰性CD8+T細胞よりも多くのIL-6、TNF- α 、IL-1 β といったアルサス反応に関わる炎症性サイトカインを発現していた。さらに、in vivoでの α E陽性CD8+T細胞の働きを検討するためにadoptive transfer studyを行った。その結果、 α E陽性CD8+T細胞の移入によって反応は回復したが、 α E陰性CD8+T細胞では回復が見られなかった。これらのことから α EインテグリンはCD8+T細胞の遊走に重要な役割を果たし、さらに α E陽性CD8+T細胞は α E陰性CD8+T細胞よりも多くの炎症性サイトカインを産生しアルサス反応を増強すると考えられた。

以上、本論文は、逆受動アルサス反応において α 4 β 7インテグリンがマスト細胞の炎症時の遊走に関与し、 α E β 7インテグリンがCD8+T細胞の遊走に関与しアルサス反応の増強に関わることを初めて明らかにした。Ⅲ型アレルギーが関与する疾患に対する治療および病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。