

氏 名（本籍）	きわもとたくみ 際 本 拓 未（宮 崎 県）		
学 位 の 種 類	博 士（医 学）		
学 位 記 番 号	博 甲 第 4424 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	Transcription Factors T-bet and GATA-3 Regulate Development of Airway Remodeling. （転写因子 T-bet・GATA-3 による気道リモデリング形成の制御）		
主 査	筑波大学教授	医学博士	大 塚 藤 男
副 査	筑波大学助教授	医学博士	鬼 塚 正 孝
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	後 藤 大 輔
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	野 口 恵美子

論 文 の 内 容 の 要 旨

（目的）

気管支喘息の病態を特徴づける気道リモデリングには Th2 サイトカインが重要な役割を演じていることが知られている。最近、転写因子の T-bet、GATA-3 がそれぞれ Th1、Th2 細胞への分化に寄与することが分かってきた。そこで、T-bet、GATA-3 を過剰発現する遺伝子改変マウスを用いて慢性気道炎症時の気道リモデリングに Th1、Th2 がどう関与するかを明らかにしようと試みた。

（対象と方法）

野生型 BALB/C と GATA-3 CDNA、T-bet CDNA を transgene して過剰発現させた遺伝子改変マウスを用いた（それぞれ、GATA-3 群、T-bet 群）。マウスに卵白アルブミン（OVA）を初日、14 日目に皮下注後、21 日目より 8 週間にわたって週 5 回 OVA を経鼻投与した。投与終了 24 時間後、7 日後に肺病理組織を観察、基底膜下の線維化、杯細胞過形成、気道平滑筋量などを形態計測した。また、気管支肺胞洗浄液中の好酸球数や粘液蛋白量（MUC5AC）を測定した。肺組織から mRNA を抽出、RT-PCR 法で T-bet、GATA-3 あるいはプロコラーゲンの発現をみた。肺組織の抽出液中の各種サイトカイン（IL-4、IL-5、IL-13、IFN- γ 、TGF- β 、eotaxin）濃度を ELISA 法で測定、さらに TCR- β 陽性細胞中のサイトカイン発現を FACS で解析した。血清中の IgE、IgG、IgG1、IgG2a 値を測定した。

（結果）

GATA-3 群は野生型と比して有意に、OVA 投与後の基底膜下の線維化が亢進、気道の平滑筋量が増加、肺組織中のプロコラーゲン $\alpha 1(I)$ mRNA 発現も増強した。一方、T-bet 群は OVA 投与後に杯細胞数とともに粘液成分が有意に減少した。気管支肺胞洗浄液中の好酸球は OVA 投与 24 時間後の GATA-3 群で有意に増加し、T-bet 群では低値を示した。

血清 IgE、IgG1 値は GATA-3 群と野生型でほぼ同等、T-bet 群は前 2 者より低かった。GATA-3 群で

は OVA 投与後に肺組織中の IL-4 濃度のみ他群より有意に高いが、T-bet 群では IL-4, IL-5, IL-13 いずれも有意に低下していた。肺の IFN- γ 濃度は T-bet 群で高かった。OVA 投与後の細胞内サイトカイン発現をみると、GATA 群では IL-4 陽性 T 細胞が増加、T-bet 群では IFN- γ 陽性 T 細胞が増加した。肺組織中の TGF- β 濃度は GATA 群で高く、T-bet 群で低かった。好酸球遊走因子の eotaxin は T-bet 群で有意に低値を示した。

(考察)

Th2 を過剰発現する GATA-3 群では OVA 投与、すなわち抗原の慢性暴露後に基底膜下の線維化が亢進し、プロコラーゲン遺伝子の発現が増加するが、Th1 を過剰発現する T-bet 群では線維化の亢進は起こらなかった。即ち、Th2 環境下で気道リモデリングの最も特徴的所見が出現し、これは同じく GATA-3 群で誘導される IL-4, TGF- β によって促進されていることが示唆された。

抗原暴露後に杯細胞過形成と粘液分泌亢進が GATA 群でみられたが、T-bet 群では抑制されていた。T-bet 群で IL-5 と IL-13 の発現が低く、IFN- γ が高値であり、このようなサイトカイン発現パターンが T-bet 群の粘液分泌抑制をもたらした可能性が高い。

GATA 群は免疫グロブリンや肺内サイトカイン発現面から Th2 に偏移しており、好酸球性気道炎症も抗原暴露後に亢進していた。しかし、好酸球の分化、成熟に必要な IL-5、遊走に必要な eotaxin は GATA 群と野生型とで有意差がなく、好酸球性気道炎症には他因子が関与する可能性が推測された。

本研究は Th1, Th2 に偏移する遺伝子改変マウスを用いて慢性アレルギー性気道炎症を惹起し、その気道リモデリングに Th2 反応の偏移が重要な役割を演じていることを明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は Th1, Th2 に偏移させる転写因子 (T-bet, GATA-3) を導入した遺伝子改変マウスに卵白アルブミンを繰り返し投与して慢性アレルギー性気道炎症を惹起してその気道リモデリング形成の制御機構への影響をみたものである。

1) 気道リモデリングの最も特徴的所見である基底膜下の線維化は Th2 環境化で亢進し、Th1 環境下では起こらないこと、そしてこれは IL-4, TGF- β によって促進されている可能性を示している。2) 気道リモデリングには杯細胞過形成と粘液分泌亢進が見られるが、Th1 環境下ではこのような過形成や分泌亢進はなく、IL-5 と IL-13 の発現が低く、IFN- γ が高値であるためと推測している。3) Th2 に偏移する遺伝子改変マウスでは、抗原暴露後に好酸球性気道炎症が亢進するが、好酸球の分化、成熟に必要な IL-5、遊走に必要な eotaxin は対照マウスと有意差がなく、好酸球性気道炎症には他因子が関与する可能性を示唆している。

本研究は上記諸点を報告して、遺伝子改変マウスにおける慢性アレルギー性気道炎症の発症機序の一端を明らかにしている。また、このような遺伝子改変動物モデルを用いることによって気管支喘息の新しい治療法、あるいは予防法を研究、開発できる可能性がある点でも意義がある。このように遺伝子改変マウスを用いて慢性アレルギー性気道炎症における Th1, Th2 の役割を明らかにした点で本研究は高く評価できる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。