

氏 名（本籍）	ね ぎし たか あき 根 岸 孝 昭 (埼 玉 県)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 乙 第 2215 号		
学位授与年月日	平成 18 年 5 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	Effects of Aryl Hydrocarbon Receptor Signaling on the Modulation of Th1/Th2 Balance (Th1/Th2 バランス制御におけるアリルハイドロカーボン受容体の働き)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	高 橋 智
副 査	筑波大学教授	医学博士	住 田 孝 之
副 査	筑波大学教授	博士 (医学)	渋谷 彰
副 査	筑波大学教授	薬学博士	熊 谷 嘉 人
副 査	筑波大学助教授	博士 (医学)	本 橋 ほづみ

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目 的)

以前の研究から、ベンゾイミダゾール骨格を持つ合成化合物 M50367 およびその活性代謝物 M50354 が抗アレルギー活性を持つことが明らかとなっていた。本化合物はマウスアレルギーモデルにおいて、IgE 産生抑制、気道過敏抑制、好酸球浸潤抑制活性を示す。また、M50354 はヘルパー T 細胞に直接作用して、Th1 細胞分化の亢進、Th2 細胞分化の抑制を引き起こす。よって本化合物は生体内の Th1/Th2 バランスを Th1 優位にシフトさせることで種々の抗アレルギー活性を発揮していると考えられる。本化合物の作用メカニズムが明らかになれば化合物の最適化のために有用な情報となるばかりではなく、T 細胞分化機序の解析に非常に大きな貢献ができると考えられる。一方で、M50367 経口投与マウスの肝臓および M50354 処理した肝細胞株で第一相薬物代謝酵素 CYP1A1 の誘導が認められた。このことは本化合物が Aryl hydrocarbon receptor (AhR) のリガンドとして機能しうる可能性を示唆している。また抗アレルギー活性においても AhR が何らかの関与をしている可能性も否定できない。本研究は、抗アレルギー活性を有する化合物 M50367 の作用機序に AhR が関与するか否かを明らかにし、その作用機序を解析することを目的として行われた。

(対象と方法)

最初に M50354 (M50367 の代謝活性体) が AhR リガンドとして機能するか否かを解析するために、レポーター遺伝子アッセイおよびゲルシフトアッセイを実施した。次に M50367 の薬理作用発揮に AhR が関与するか否かを明らかにするために、AhR 欠損マウスを用いて in vivo および in vitro の薬理評価を実施した。また、M50367 の作用機序を明らかにするために、種々の遺伝子発現に対する M50367 の効果を定量 PCR 法により解析した。

(結 果)

M50354 が AhR リガンドとして機能しうるか否かを調べるために、レポータージーンアッセイおよびゲルシフトアッセイを実施した。この結果、M50354 による CYP1A1 プロモーターからの転写亢進と AhR の DNA 結合活性の増大とが認められた。さらには ^3H 標識体を用いた結合活性測定法により、M50354 の AhR に対する直接的な結合も確認できた。よって M50354 が AhR リガンドとして機能しうることが明らかとなった。次に AhR 欠損マウスを用いて M50367 の薬理評価を実施した。この結果、*in vivo* および *in vitro* 評価系どちらにおいても AhR 欠損マウスでは M50367 の薬理作用が認められなかった。このことは M50367 の抗アレルギー活性には AhR が必須であることを示している。また、T 細胞に恒常的活性型 AhR を発現させたところ、Th1 分化の亢進が認められた。更には分化初期段階の T 細胞で一過性に AhR の発現が増強することも確認できた。以上により M50367 の抗アレルギー活性には AhR の活性化が必要十分条件であることが明らかとなった。M50367 による AhR を介した Th1/Th2 分化制御機構を解析するために、Th1/Th2 分化に関与する代表的な因子の遺伝子発現に対する薬剤の効果を調べた。この結果、GATA-3 発現が M50354 処理により有意に抑制されることが分かった。

(考 察)

本研究において、抗アレルギー活性をもつ化合物 M50367 が AhR の活性化を介してその効果を発揮していることが明らかとなった。一方で AhR 欠損マウスでは野生型マウスと比較して抗体値およびサイトカイン産生量が亢進しており、また脾臓重量の増加も認められた。これらのことは AhR が免疫機構の制御において重要な役割を担っている可能性を示唆している。AhR はダイオキシンの受容体として知られており、免疫系はダイオキシンによる毒性を最も強く受ける組織の一つとして知られている。このことは AhR が免疫系において重要な役割を担っていることの反証なのかもしれない。また、Weisglas-Kuperus らは胎児期にダイオキシンに暴露された子供ではアレルギー罹患率が低いことを報告している。これは AhR 活性化により、Th1 優位な体質となったためかもしれない。GATA-3 は Th2 分化のマスター転写因子として知られている。今回の解析により、M50354 処理により GATA-3 の発現が抑制されることが明らかとなった。現在のところ GATA-3 の詳細な発現制御機構は未解決であり、GATA-3 の発現を制御する薬物も知られていない。よって本化合物による GATA-3 発現制御機構を明らかにすることができれば、T 細胞分化制御機構の解析に大きな貢献ができると思われる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、抗アレルギー活性をもつ化合物 M50367 が、AhR の活性化を介してその効果を発揮していることを明らかにした。T 細胞では AhR の活性化により Th2 細胞分化のマスターレギュレーターである GATA-3 の転写が抑制され、Th2 細胞分化が抑制されることを明らかにした。この結果は、新たなアレルギー抑制剤の開発の基盤になる研究として、世界的に高く評価される。

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。