

論文審査の要旨

報告番号	総研第 619 号	学位申請者	松山 崇弘
審査委員	主査	宮田 篤郎	学位 博士 (医学) 歯学・学術)
	副査	武田 泰生	副査 石塚 賢治
	副査	原 博満	副査 山下 勝

Long-acting muscarinic antagonist regulates group 2 innate lymphoid cell-dependent airway eosinophilic inflammation

(長時間作用性ムスカリン受容体拮抗薬は 2 型自然リンパ球を介する好酸球性気道炎症を制御する)

長時間作用性ムスカリン受容体拮抗薬 (LAMA) は、気道平滑筋のムスカリン M3 受容体 (M3R) に作用して気管支を拡張させる。また LAMA は、中等症から重症の喘息患者において、増悪頻度も減少させるが、そのメカニズムは不明である。喘息はウイルスや大気汚染物質などの曝露によって増悪する。これらの刺激によって気道上皮が傷害を受けると、気道上皮から放出された上皮由来サイトカイン (IL-25・IL-33・TSLP) によって、2 型自然リンパ球 (ILC2) は大量の IL-5 や IL-13 を産生して、自然免疫型の好酸球性気道炎症を誘導する。このように、抗原非特異的な刺激による喘息増悪には ILC2 を介した 2 型免疫応答が関与している。しかし、これまで LAMA による自然免疫への影響を検討した報告はない。

今回、学位申請者らは、LAMA であるチオトロピウム (TIO) の自然免疫型の好酸球性気道炎症に対する効果を検討し、その作用メカニズムを明らかにすることを目的として本研究を行った。

マウスにパピンを 3 日間点鼻投与して、自然免疫型の好酸球性気道炎症モデルを作成した。TIO はパピンを投与 1 時間前に点鼻投与した。パピンを最終投与 24 時間後に気管支肺胞洗浄液 (BALF)、肺組織を採取した。BALF 中の細胞数と細胞分画、サイトカインの測定を行った。肺組織より細胞懸濁液を作成し、フローサイトメトリーを用いて ILC2 数と細胞内サイトカイン発現レベルを評価した。In vitro の検討として、肺組織由来の ILC2 と骨髄由来の好塩基球を分離し、それぞれの細胞を単独で培養、もしくは共培養を行った。細胞を IL-33 単独、IL-33+TIO でそれぞれ刺激して、24 時間後に細胞培養液を回収し、細胞培養液中のサイトカイン濃度を測定した。ILC2 と好塩基球上の M3R の発現を調べるために、RNA シークエンスと Western blotting を行った。ヒト好塩基球での検討として、健常者の末梢血単核球より分離したヒト好塩基球を IL-33 単独、IL-33+TIO でそれぞれ刺激して、24 時間後に細胞培養液を回収し、細胞培養液中のサイトカイン濃度を測定した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) パピンを誘導性マウスモデルに TIO を投与すると、好酸球性気道炎症が減弱した
- 2) In vitro で、TIO は ILC2 からの IL-5・IL-13 の産生を直接抑制しなかった
- 3) M3R は ILC2 に発現せず、好塩基球に強い発現を認めた
- 4) TIO は好塩基球由来の IL-4 産生を抑制した
- 5) ILC2 と好塩基球の共培養下では、IL-33 の刺激によって増加した IL-4・IL-5・IL-13 の産生が、TIO によって抑制された
- 6) TIO はヒト好塩基球由来の IL-4 産生を抑制した

以上より、本研究では、TIO が好塩基球からの IL-4 産生を抑制し、間接的に ILC2 の活性化を制御することで、ILC2 を介する好酸球性気道炎症を抑制することを明らかにした。これは、気管支拡張薬として用いられている LAMA が抗炎症作用を有し、喘息増悪抑制に寄与している可能性があることを示唆する重要な研究である。

よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。