

平成 21年 3月

三原幸子 学位論文審査要旨

主 査 井 上 幸 次
副主査 佐 藤 建 三
同 清 水 英 治

主論文

I κ B分解阻害薬のマウスアレルギー性結膜炎における役割

(著者：難波幸子)

平成21年 米子医学雑誌 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

I κ B分解阻害薬のマウスアレルギー性結膜炎における役割

NF- κ Bは重要な転写因子であり、種々の免疫反応、炎症反応に関与している。最近、NF- κ B阻害が種々のアレルギー疾患を抑制する効果があるとの報告がなされ、NF- κ B decoy oligodeoxynucleotideについてはアトピー性皮膚炎の治療薬として治験が進行している。そこで、アレルギー性結膜炎に対してもNF- κ B経路の阻害が有効ではないかと考え、今回、I κ B分解阻害薬を用いて検討した。

方 法

SWR/Jマウスの両足底にブタクサ花粉 (ragweed pollen : RW) 50 μ gと水酸化アルミニウム1 mgのリン酸緩衝溶液(PBS)懸濁液を麻酔下で注射することによって感作し、感作1ヶ月後にRW点眼(1.5mg/10 μ l PBS懸濁液)を行ってアレルギー性結膜炎を誘発させた。このモデルに、I κ B分解阻害薬であるIsohelenin腹腔内投与あるいはI κ B Kinase Inhibitor Peptide静脈内投与を行い、その効果を検討した。

効果の検討には、即時相の眼球結膜浮腫、眼瞼腫脹・発赤、流涙、結膜充血からなる臨床スコア、結膜組織における好酸球数及び肥満細胞、脱顆粒肥満細胞数の評価、血清中のIgE、IgG₁、サイトカイン量の測定、頸部リンパ節のリンパ球をin vitroでRW抽出物にて刺激して産生されるサイトカイン量の測定を用いた。

結 果

<Isohelenin投与の効果>

臨床スコアはRW感作群で有意に上昇を認め (p<0.05)、Isohelenin投与によりさらに有意な悪化を認めた (p<0.05)。好酸球浸潤数もRW感作群で有意に増加し (p<0.05)、Isohelenin投与によりさらに有意な悪化を認めた (p<0.05)。RW非感作群ではRW特異的IgE、IgG₁ともに検出感度以下であったが、RW感作群ではRW特異的IgE、IgG₁を認め、特にIsohelenin投与群でIgEが有意に高かった (p<0.05)。リンパ球RW刺激によるIL-10、IL-4産生を測定したところ、どちらのサイトカインもRW非感作群では低い値を示し、RW感作群で上昇を示した。IL-10についてはRW感作群でIsohelenin投与により有意に高値を示した (p<0.05)。IL-4

については有意差を認めなかった。以上のように、Isohelenin投与により予想に反して、マウスアレルギー性結膜炎の即時相、遅発相の種々のパラメーターの悪化を認めた。

<I κ B Kinase Inhibitor Peptide投与の効果>

上記の結果がI κ B分解阻害によることを更に確かめるために、I κ B Kinase Inhibitor Peptideを用いて同様の実験をおこなった。

臨床スコアはRW感作群で有意に上昇を認め ($p < 0.01$)、I κ B Kinase Inhibitor Peptide投与によりさらに有意な悪化を認めた ($p < 0.05$)。好酸球浸潤数もRW感作群で有意に増加し ($p < 0.01$)、I κ B Kinase Inhibitor Peptide投与によりさらに有意な悪化を認めた ($p < 0.05$)。肥満細胞浸潤数については有意差がなかったが、肥満細胞脱顆粒率はRW感作群で増加し ($p < 0.01$)、I κ B Kinase Inhibitor Peptide投与によりさらに有意な悪化を認めた ($p < 0.01$)。血清中のサイトカイン・ケモカイン測定では、RW感作し I κ B Kinase Inhibitor Peptide投与した群でIL-10、MCP-1、RANTESが有意に増加していた ($p < 0.05$)。

考 察

アレルギー性結膜炎にはいくつかのステップがあり、その制御や悪化においてどのステップが主として関与しているかは重要である。今回のI κ B阻害によるマウスアレルギー性結膜炎悪化については、アレルギーの最初のステップである抗原特異的IgE抗体を上昇させ、次のステップである肥満細胞の脱顆粒も増加させ、更に遅発相の好酸球の浸潤も増加させるなど、すべてのステップで影響を与えている可能性が考えられた。この中でも好酸球浸潤はアレルギー性疾患の重症化において重要であり、その制御が臨床的に大きな問題である。これを促進する経路としては肥満細胞とT細胞との2つの経路が知られている。今回、I κ B Kinase Inhibitor Peptideによってマウスアレルギー性結膜炎が悪化した系において、血清中でMCP-1、IL-10、RANTESが上昇していたことから、MCP-1は肥満細胞、後2者はT細胞に関与して好酸球浸潤に影響しているのではないかと考えられた。

NF- κ Bは炎症と関連した多くの分子と関連した根幹的な転写因子であるため、これを抑制することは、多くの細胞や分子に広範な影響を及ぼすと考えられる。今回予想に反してアレルギー性結膜炎の悪化を認めた原因が、NF- κ B抑制方法の違いによるのか、他のアレルギー性疾患との病態の違いによるのかは不明であり、今後その機序を更に解明していく必要があると考えられる。

結 論

I κ B分解阻害薬であるIsoheleninあるいはI κ B Kinase Inhibitor Peptideを投与するこ

とによって、マウスアレルギー性結膜炎モデルにおいて即時相の臨床症状が悪化し、結膜局所の好酸球浸潤を促進させることを確認した。それに伴い抗原特異的IgEの上昇、結膜局所の肥満細胞脱顆粒率の増加、リンパ球からのIL-10産生増加、各種血清サイトカイン・ケモカインの増加を認めた。