

平成18年12月

# 小松恵子 学位論文審査要旨

主 査 井 上 幸 次  
副主査 西 連 寺 剛  
同 林 一 彦

## 主論文

CCR5・CXCR3欠損マウスにおけるヘルペス性角膜実質炎の解析

(著者：小松恵子)

平成19年1月掲載予定 米子医学雑誌 58巻

# 学 位 論 文 要 旨

## CCR5・CXCR3欠損マウスにおけるヘルペス性角膜実質炎の解析

ヘルペス性角膜実質炎（HSK）は、単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1）の感染により生じる角膜実質層の病変である。ヒトでは再発を繰り返すことで角膜混濁や瘢痕を来たして重度の視力障害を来たすこともあり、治療困難な例が少なくない。HSKの病態は免疫反応であるためその治療はステロイドによるものが一般的であるが、免疫反応の抑制によって逆にウイルス増殖が惹起され、その結果悪循環に陥ることが多々ある。このため、ウイルス増殖を惹起することなく角膜混濁惹起にかかわる免疫反応を抑制する治療法の開発が急務であり、HSK発症に関する分子レベルの解析が必要と考えられている。本研究では、Th1細胞に選択的に発現し、HSKの病態形成に非常に重要な役割を担っていると考えられるケモカインレセプター、CCR5・CXCR3に着目した。CCR5・CXCR3単独欠損（KO）および両欠損（DKO）マウスを用いて、HSV感染による角膜実質の炎症が抑制されることを期待し、HSK発症の差異を比較検討した。

### 方 法

8-10週齢のC57/BL6（Wild）、CXCR3KO、CCR5KOおよびDKOマウス（いずれもC57/BL6バックグラウンド）の角膜にHSV-1（CHR3株）を感染させ、HSK臨床所見の差異を比較検討した。免疫染色、Real-time PCR、フローサイトメトリーおよびウイルス力価測定を行い、感染角膜において直接炎症に関わっている種々の炎症浸潤細胞、ケモカインおよびケモカインレセプターの発現、所属リンパ節の細胞、眼球および三叉神経節のウイルス量について検討した。更にWildマウスより分離したリンパ球をDKOマウスに移入し、移入DKOマウスにおけるHSK臨床所見を比較検討した。

### 結 果

DKOマウスのHSK臨床所見はWildマウスと比べて有意な軽減を認めた。組織学的評価では、角膜に浸潤している好中球、CD4陽性細胞、CD8陽性細胞がDKOマウスで有意に減少していた。Real-time PCRにより解析した感染角膜におけるケモカインおよびケモカインレセプターの発現では、WildマウスとDKOマウスの間に有意差を認めなかった。フローサイトメトリー解析では、DKOマウスの所属リンパ節にてCD3、CD4、CD8陽性細胞の減少を認めた。リンパ

球移入DK0マウスはWildマウスとほぼ同等のHSK臨床所見を呈した。ウイルス力価は眼局所で有意差を認めず、三叉神経節では感染5日後にDK0マウスの力価が有意に増加した。

## 考 察

本研究で、DK0マウスではHSK臨床所見がWildマウスと比べて有意に抑制され、さらにWildマウスから分離したリンパ球をDK0マウスに移入することによって、DK0マウスの臨床所見がWildマウス相当にまで増悪したという結果から、HSKの病態形成にCXCR3、CCR5の両ケモカインレセプターが極めて重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また、組織学的評価によって角膜に浸潤している細胞数を計測した結果、DK0マウスではWildマウスと比べてCD4陽性細胞のみならず、CD8陽性細胞および好中球の浸潤が著明に抑制されていた。これは、Th1細胞に主に発現しているCXCR3・CCR5の両レセプターが欠損したことによって、司令塔であるCD4+Th1細胞の遊走・活性化作用が抑制され、その結果、局所への浸潤細胞数が減少したためと考えられ、DK0マウスにおけるHSKの発症抑制のメカニズムと深く関わっていると考えられた。

## 結 論

本研究はCXCR3およびCCR5単独および両欠損マウスにおけるHSKの病態についてWildマウスと比較検討したものである。その結果、DK0マウスでは眼局所における細胞浸潤が抑制された結果、HSKの炎症反応が抑制され、しかも眼局所のウイルス量は増加しないという、ヘルペス性角膜実質炎の治療を考える上で有意義な所見を得た。ケモカインレセプターを標的にすることによって、今後HSK治療の可能性が広がることが期待される。