

論文内容の要旨

Rapamycin attenuates pulmonary allergic vasculitis in murine model by reducing TGF- β production in the lung

(ラパマイシンは肺内の TGF- β の産生を減少させることによりマウスモデルの肺アレルギー性肉芽腫性血管炎を改善させる)

(小泉瑠美, 佐々木信人, 中村豊, 鈴木奈緒美, 澤井高志, 山内広平)

(Allergology International (投稿審査中))

I. 研究目的

ラパマイシンはマクロライド系物質であるとともに mTOR1 (The mammalian target of rapamycin) 阻害作用を有する免疫抑制剤である. mTOR は PI3K 近縁のキナーゼファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼで生存に関わるシグナル伝達物質であり, 平滑筋増殖, 骨格筋増殖にも関わっている. 気管支喘息マウスモデルおよび食物アレルギーマウスモデルにおいて有用であった報告があり, アレルギーの抑制効果も十分に期待できる薬剤である. 臨床応用例の 1 つとして平滑筋細胞増殖抑制作用を利用し, 血管内ステントにラパマイシンが配合されている. 血管平滑筋増殖抑制効果も認められていることから不可逆的な血管炎による血管リモデリング抑制効果も期待できる.

ラパマイシンはマウスモデルの肺線維症における間葉系細胞の増殖を抑制すると報告されている.

本研究では, 好酸球浸潤を伴うアレルギー性肉芽腫性血管炎のマウスモデルで, 血管内筋線維芽細胞増殖を含む血管リモデリングに関して, ラパマイシンの効果を検討した.

II. 研究対象ならび方法

アレルギー性血管炎マウスモデル作成方法については (Analysis of pulmonary allergic vasculitis with eosinophil infiltration in asthma model of mice. Yamauchi K, Sasaki N, et. al. Exp Lung Res. 36(4):227-36, 2010) に従って作成した. C57BL/6 マウスに卵白アルブミン(OVA)を曝露させた. 陽性コントロール群には 7 日間 OVA の吸入曝露を行った. 治療群のマウスには 7 日間の OVA 吸入曝露と並行してラパマイシン(1mg/kg)を腹腔内投与した. ラパマイシン投与 3 日目と 7 日目に気管支肺胞洗浄(BAL)を施行し, BAL 液中の細胞分画とサイトカインとして IL-4, 5, 13, TGF- β の測定を行った. 肺切除標本では病理学的な検討を行い, 肺動脈の病理学的変化の半定量解析は我々が以前に報告した severity index に従って評価した. 更に TGF- β , α -SMA(smooth muscle actin), Ki-67 の免疫染色を施行し TGF- β 産生細胞と血管内細胞増殖との関連性について検討した.

III. 研究結果

1. 血液中の好酸球数はラパマイシン投与群において3,7日目で抑制された。(p<0.01)
2. BAL液中の総細胞数は陽性コントロール群とラパマイシン投与群で有意差は認めなかったが、ラパマイシン投与群で好酸球数の低下を認めた。(p<0.01)
3. OVA曝露後3日目のBAL液中IL-4,5,13がラパマイシン投与群で著明な低下を認めた。TGF- β は3,7日目ともにラパマイシン投与群で著明な低下を示した。(p<0.01)
4. 血管内筋線維芽細胞増殖はラパマイシン投与により著明に抑制され、病理学的な半定量解析による severity index はラパマイシン投与群で有意に低下した。(p<0.01)
5. OVA曝露群では α -SMA, TGF- β 陽性筋線維芽細胞による肺血管内腔の閉塞を認めたが、ラパマイシン投与群では血管内閉塞は認めず、血管壁の平滑筋細胞のみ陽性であった。また、陽性コントロール群において肺血管内筋線維芽細胞に多くのKi-67陽性細胞が認められたが、ラパマイシン投与群でKi-67陽性細胞は少なかった。(p<0.01)

IV. 結 語

ラパマイシンはOVA感作マウスにおいて、OVA刺激で増加するTh2サイトカイン(IL-4,5,13)の産生を抑制したことにより肺に浸潤する好酸球を減少させ、肺内TGF- β の産生を抑制したと考えられる。加えて、筋線維芽細胞の増殖を抑制することで、アレルギー性肉芽腫性血管炎マウスモデルの肺血管リモデリングを抑制したと考えた。

アレルギー性肉芽腫性血管炎は稀な疾患であり、治療方法について臨床研究が十分に検討されていない疾患である。今回の研究は、アレルギー性肉芽腫性血管炎に対する臨床応用につながる基礎研究になると考えられる。

V. 学位申請後経過

- ※1 最終審査後、Allergology International 2014;63:457-466に掲載された。
- ※2 査読による内容の変更は不要であった。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 古山 和道 (生化学講座：分子医化学分野)

副査 准教授 小林 仁 (内科学講座：呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野)

副査 教授 前沢 千早 (医歯薬総合研究所，腫瘍生物学研究部門)

肺アレルギー性肉芽腫性血管炎は気管支喘息などの基礎疾患を有する患者に発症する事が多い比較的稀な疾患で，現在のところ有効な治療法がない．本研究論文では，免疫抑制作用と平滑筋増殖抑制作用を併せ持つラパマイシンに着目し，好酸球の浸潤を伴う肺アレルギー性肉芽腫性血管炎のモデルマウスを用いて効果の発現機序を検討した．その結果，ラパマイシンはIL-4/IL-5/IL-13などのTh2サイトカインの産生を抑制する事により好酸球の肺への浸潤を抑制すること，それにより肺内での主として好酸球からのTGF- β の産生を減少させるためモデルマウスにおける肺血管のリモデリングが抑制される事を示した．

本論文は，肺アレルギー性肉芽腫性血管炎における肺血管リモデリングの仕組みを明らかにしたのみならず，その治療薬としてラパマイシンが有効である可能性を初めて示したものであり，学位に値する論文である．

試験・試問の結果の要旨

肺アレルギー性肉芽腫性血管炎の予後やTh2サイトカインの気管支肺胞洗浄液中の濃度が時間経過に応じて変化する理由やTGF- β の産生源などについて試問を行ない，いずれも適切な解答を得た．学位に値する学識を有していると考ええる．

参考論文

- 1) 東日本大地震後の津波溺水患者にみられたスケドスポリウム症 (小泉瑠美 他4名と共著) 化学療法の領域, 29巻, 3号 (2013) : p372-277.
- 2) 東日本大震災後に悪化した呼吸器疾患 (長島広相 他5名と共著) 呼吸器内科, 23巻, 5号, (2013) : p521-526.
- 3) Rituximabにより長期寛解が得られたステロイド抵抗性筋炎の1例 (佐々木信人 他6名と共著) アレルギーの臨床, 33巻, 10号 (2013) : p945-949.