



## Decreased expression of Th2 type cytokine mRNA contributes to the lack of allergic bronchial inflammation in aged rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 井手, 協太郎 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1593">http://hdl.handle.net/10271/1593</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 316号	学位授与年月日	平成12年 2月14日
氏名	井手 協太郎		
論文題目	Decreased expression of Th2 type cytokine mRNA contributes to the lack of allergic bronchial inflammation in aged rats (Th2 タイプのサイトカインの mRNA の発現低下が高齢ラットにおけるアレルギー性気道炎症の欠如に関与する)		

博士(医学) 井手 協太郎

## 論文題目

Decreased expression of Th 2 type cytokine mRNA contributes to the lack of allergic bronchial inflammation in aged rats

(Th2タイプのサイトカインのmRNAの発現低下が高齢ラットにおけるアレルギー性気道炎症の欠如に関与する)

## 論文の内容の要旨

### 〔はじめに〕

一般に気管支喘息をはじめとするアレルギー性疾患の重症度は加齢と共に減弱すると考えられている。我々は若齢ラットと同様に卵白アルブミン(OVA)で感作した高齢ラット喘息モデルにおいて、OVA吸入暴露後の気道の過敏性亢進と好酸球浸潤が若齢ラットより減弱することを報告したが、その機序は明らかではない。一方、若齢ラット喘息モデルや気管支喘息患者において、Interleukin(IL)-4やIL-5などのヘルパー2(Th2)タイプのサイトカインがその病態に深く関与すると考えられている。そこで、高齢ラット喘息モデルにおける気道及び抗原感作所属リンパ節(pLN)におけるサイトカインプロファイルを若齢ラットと比較検討した。

### 〔材料ならびに方法〕

Brown-Norwayラットの若齢(8-10週齢)と高齢(100-120週齢)を体重あたり同量のOVAで感作した。14日目に気管内挿管し、5%のOVAを10分間吸入暴露した。吸入24時間後に肺を摘出し、気管支肺胞洗浄(BAL)を施行した。総BAL細胞から得られたRNAを用いて、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、Interferon (IFN)- $\gamma$ の各々に特異的なプライマーを用いてreverse transcriptional-PCRを施行し、各サイトカインの発現を両群で比較した。また、肺組織上のIL-5 mRNAの発現をin situ hybridization法にて比較検討した。さらに、同様に感作した若齢及び高齢ラットの所属リンパ節であるpLN細胞をOVAで刺激培養し、細胞内のIL-4、IL-5、IFN- $\gamma$ のmRNAの経時的な発現を同様なPCR法にて検討した。

### 〔結果〕

OVA暴露後24時間後のBAL細胞において、若齢群のIL-4とIL-5のmRNA発現は高齢群に比して有意に高く、一方IFN- $\gamma$ のmRNA発現は高齢ラットで有意に高かった。IL-2及びIL-10のmRNA発現は両群で不変であった。肺組織のin situ hybridizationでは、若齢群に認める末梢気道周囲のIL-5のmRNA陽性細胞の集積が高齢群ではほとんど認められなかった。pLN細胞のOVA刺激培養では、若齢群に認められたIL-4及びIL-5のmRNAの経時的な発現増加が高齢群では認められず、対照的に高齢群ではOVA刺激に伴うIFN- $\gamma$ のmRNA発現増加が認められた。

### 〔考察〕

気管支喘息の本態であるアレルギー性気道炎症の成立には、IL-4やIL-5を中心としたTh2タイプのサイトカインプロファイルの形成が不可欠である。IL-4は抗原特異的なIgE抗体の産出やTh2細胞の分化促進に関与し、IL-5は気道局所に好酸球を浸潤させ、慢性の気道上皮障害とそれに引き続く気道

過敏性亢進を惹起する。高齢ラットの気道局所及び感作pLNでは、これらのTh2タイプのサイトカインプロファイルの誘導が認められず、むしろTh1タイプのIFN- $\gamma$ が優位であった。IL-4、IL-5、IFN- $\gamma$ は主にCD4陽性Tリンパ球から放出されることより、これらの変化はTリンパ球のサイトカイン放出能の変化に起因すると推察された。抗原感作に伴う免疫応答はCD4陽性Tリンパ球が、Th1またはTh2のいずれかに分化し、各々特有のサイトカインプロファイルを誘導すると考えられていることから、高齢ラットのアレルギー性気道炎症の減弱は、抗原感作に伴うTh2タイプのTリンパ球の分化が誘導されないためではないかと推察された。

#### 〔結論〕

高齢ラットのアレルギー性気道炎症の減弱には抗原感作、吸入暴露に伴うTh2タイプのサイトカインプロファイルの発現の欠如が関与していると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

気管支喘息は可逆性の気道収縮を主徴とする疾患であるが、その病態の中心はTh2細胞が種々のTh2タイプのサイトカインを放出して、IgE抗体産出と好酸球浸潤を生じることである。従来から、気管支喘息の症状は若年者に比べ、高齢者では減弱することが知られているが、その免疫学的機序は不明であった。申請者は卵白アルブミン(OVA)で誘導した喘息モデルラットにおいて、抗原吸入暴露後の気道の好酸球浸潤や気道抵抗の程度を若齢、高齢ラットにおいて比較し、高齢者喘息の特異性を実験的に検証した。その結果、気道のTh2サイトカインプロファイル、気管支肺胞洗浄(BAL)細胞中及び組織中のサイトカインmRNAの発現の変化が若齢、高齢者でみられる臨床症状の相違に深く関与していることが明らかになった。さらに、感作リンパ節細胞の抗原特異的なサイトカインmRNA発現の検討で、高齢ラットにおいてTh2細胞の分化が障害されている可能性を示唆した。

若齢、高齢Brown Norway(BN)ラットをOVAで感作し、吸入暴露後にBALを施行し、総BAL細胞中のTh2サイトカイン(IL-4、IL-5、IL-10)とTh1サイトカイン(IL-2、IFN- $\gamma$ )のmRNA発現をRT-PCRにて半定量的に評価した。若齢ラットでは吸入24時間後をピークとしたTh2サイトカインのmRNA発現を認めた。一方、高齢ラットでは有意にIL-4、IL-5の発現が低下し、IFN- $\gamma$ の発現が相対的に増加していた。Th2サイトカインの発現低下はcompetitive PCRとIL-5 mRNAに対する肺組織のin situ hybridizationにて確認された。また、ELISAにて測定したBAL上清中のIL-4濃度も高齢ラットで有意に低下していた。

これらのサイトカインプロファイルの変化を間接的に証明するために、申請者は感作Tリンパ球を含む膝窩リンパ節細胞を用いて抗原特異的なTh1及びTh2サイトカインのmRNA発現を比較した。その結果、若齢ラットでは経時的なIL-4、IL-5の発現増加を認め、高齢ラットではIFN- $\gamma$ の増加を認めた。また、抗原との24時間培養上清でも、若齢ラットのIL-4上昇と高齢ラットのIFN- $\gamma$ 上昇を認め、いずれもmRNA解析と矛盾しない結果であった。

以上から申請者は高齢ラットにおいて、抗原感作に対するナイーブT細胞のTh2タイプへの分化が障害された結果、高齢ラットにおいてTh1反応へのシフトがおり、アレルギー性気道炎症が減弱すると考えられると結論した。本実験は、免疫老化に伴うアレルギー反応での抗原特異的なサイトカインプロファイルの変化を若齢ラットと検討し、ヒトにおける喘息の発症機序の解明に寄与した点で高く評価された。

この発表の際、申請者に対して以下のような質問がなされた。

- 1) 若齢、高齢ラットの生育条件、特に食餌の影響について
- 2) 本ラットモデルとヒト喘息の臨床的、免疫学的異同
- 3) 感作、惹起法を異なる方法で行った場合の比較、検討
- 4) 高齢、若齢でのDNA合成とサイトカイン産生の違い
- 5) サイトカイン産生に関与する細胞の検討
- 6) 高齢、若齢ラットでのT細胞と抗原提示細胞の相互作用
- 7) 高齢ラットに喘息モデルを起こすタイミングの相違による免疫反応の違い
- 8) 高齢ラットでの胸腺の機能と喘息の発症の関連性

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 瀧川 雅 浩

副査 山下 昭 副査 永田 年