

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(原 健一郎) 印

(学位論文のタイトル)

Airway uric acid is a sensor of inhaled protease allergens and initiates type 2**immune responses in respiratory mucosa**

(気道内の尿酸は吸入プロテアーゼ抗原のセンサーとして働き、呼吸粘膜におけるⅡ型免疫反応を誘導する)

論文の要旨) 2,000字程度、A4判、ワープロ等使用

環境アレルゲンに対するⅡ型免疫反応は気管支喘息やアレルギー性気道疾患に重要な役割を果たしていると考えられる。また気道上皮細胞、樹状細胞、好塩基球、好酸球、マクロファージ、innate lymphoid cells(ILCs)、肥満細胞などはⅡ型免疫反応の活性化に寄与していることは報告されている。しかし、その反応を誘導する免疫学的機構はまだ良く知られていない。

システインプロテアーゼの一種であるブロメリンは大変強い感作誘導物質であり、職業性喘息の原因にもなりえる。そこで我々は喘息マウスモデルを作成するのにブロメリンを使用した。システインプロテアーゼに暴露されたナイーブマウス(アレルゲン誘導マウスモデル)の肺組織には急激にIL-33とThymic stromal lymphopoietin(TSLP)が産生された。またブロメリンと無害抗原である卵白アルブミン(OVA)を投与したマウスにOVAを再投与するとTh2型免疫反応、IgE抗体産生、好酸球性気道炎症が誘導された。粘液過形成、気道周囲の好酸球を中心とした細胞浸潤を病理学的に認めた。

次にIL-33、TSLP、IL-25がⅡ型免疫反応に関与するかをST2(IL-33受容体)、TSLP受容体、IL-17rb(IL-25受容体)ノックアウトマウスを用いて検討した。ブロメリンとOVAを投与しOVAを再投与したマウスでは、好酸球数、IgE抗体、Th2サイトカインとも有意に抑制された。

プロテアーゼがどのように気道粘膜に認識され、proTh2サイトカインを誘導するのかを次に検討した。最初にTLR4やprotease-activated receptor2(PAR2)がinnate・adaptiveⅡ型免疫反応に関与するかどうかを検討したが抑制されなかった。そこで細胞内で産生・貯蔵され細胞障害により放出される物質をDamage-associated molecular patterns(DAMPs)というが、その一種である尿酸に着目した。内因性尿酸により活性化された樹状細胞がTh2型免疫反応を活性化することは既に報告されているが、プロテアーゼをナイーブマウスに投与すると、尿酸が急速に気道内に放出された。またUricase投与にて内因性尿酸をブロックすると、innate・adaptiveⅡ型免疫反応が抑制された。尿酸を経気道的に投与すると、肺組織中のIL-33やTSLPが有意に高くなり、ST2ノックアウトマウスに投与するとinnate Th2サイトカインは有意に抑制された。Innate Th2サイトカインを分泌するILC2sに尿酸を投与するとその発現は増強した。更に尿酸とOVAを投与でも喘息のフェノタイプを示し、ST2・TSLPR・IL-17BRのノックアウトマウスではadaptiveⅡ型免疫反応は抑制された。

尿酸に気道上皮細胞が反応してIL-33が分泌されるかどうかを次に検討した。in vitroでは尿酸をヒト気道上皮細胞に刺激するとIL-33の分泌は促進し、in vivoでも、マウスに尿酸を経気道的に投与すると細胞外にIL-33が誘導され、innate・adaptive II型免疫反応を誘導した。またヒト気道上皮細胞を細胞膜非透過性核酸染色であるEthD-1で染色しても、mediumを投与した細胞と尿酸を投与した細胞障害の明らかな差がないことから、IL-33は細胞死がなくても尿酸で刺激したヒト気道上皮細胞から分泌されることを示した。

尿酸がヒト気管支喘息の自然外来抗原にも関与するかを検討するため、アルテルナリア、アスペルギルス、ハウスダストにOVAを繰り返し投与された喘息モデルを使用して検討した。これらは気道好酸球の上昇、Th2サイトカインの上昇、病理学的にも喘息のフェノタイプを形成した。また肺局所の尿酸値も増加を示した。これらのモデルに尿酸合成阻害薬であるFebuxostatを経口的に投与すると好酸球数、Th2サイトカインは抑制され、喘息のフェノタイプは改善を示した。

これらの研究から、プロテアーゼや自然抗原を経気道的にマウスに投与すると気道内に急速に尿酸が分泌され、それが気道上皮細胞からIL-33やTSLPを誘導し、これらはinnate II型免疫反応や抗原特異的Th2免疫反応を誘導した。このように気道の尿酸は呼吸粘膜におけるメカニズムを制御する役割を担っている。薬理的にも尿酸合成阻害薬を投与すると、肺組織局所の尿酸値が低下し、喘息の病態は改善傾向を示した。気道内の尿酸レベルが抗原暴露後の喘息発作症例や慢性鼻炎副鼻腔炎症例でも高値になることは報告されており、これらの尿酸経路はヒトの気管支喘息やアレルギー性疾患の重要な新規治療のターゲットになりうると考えられた。