

学 位 論 文 の 要 旨

所 属	三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻 病態解明医学講座	氏 名	平口 雪子
<p>主論文の題名</p> <p>Neutrophil Proteases Activate Eosinophil Function in vitro</p> <p>主論文の要旨</p> <p>【研究目的】</p> <p>重症喘息では好中球性炎症が主病像であり、好酸球の関与は少ないと考えられているが、最近は喀痰中の好中球数と好酸球由来メディエーター濃度が相関するなどの報告もみられ、両炎症細胞の相互作用が重症化の要因を形成している可能性がある。好中球はさまざまなメディエーターを産生するが、なかでもエラスターゼを始めとするプロテアーゼ類は感染防御に重要である一方、COPD、急性肺障害などの炎症病態で働く細胞障害分子として機能する。気管支喘息においても、気管支肺胞洗浄液中のエラスターゼ濃度の上昇が報告されている。そこで本研究では重症喘息の病態形成に果たす好中球と好酸球の相互作用を明らかにすることを目的として、好中球由来プロテアーゼが好酸球機能に及ぼす作用を検討した。</p> <p>【研究方法】</p> <p>好酸球は健常成人ボランティアの末梢血からCD16 negative selection法により分離した。分離した好酸球を好中球由来のプロテアーゼである好中球エラスターゼ、カテプシンG、PR3 (proteinase 3) と反応させ、活性酸素産生量をチトクロームC還元法にて経時的に測定した。さらに、この反応系に好中球エラスターゼ特異的阻害剤であるsivelestat sodium hydrateまたはセリンプロテアーゼ阻害剤 phenylmethylsulphonyl fluoride (PMSF) を加え、同様に活性酸素産生を検討した。サイトカイン・ケモカインの産生誘導効果については、好酸球を好中球エラスターゼ、カテプシンG、PR3の存在下で48時間培養した後上清を採取し、ビーズアレイシステム (luminex; 日立ソフト) を用いて上清中のIL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN-γ, TNFα, GM-CSF, eotaxin, GRO-α, IP-10, MCP-1, RANTES, MCP-2, MCP-3, MIP-1α, MIP-1β, MIGを測定した。</p> <p>【結果】</p> <p>好中球由来プロテアーゼのうち、好中球エラスターゼとカテプシンGは好酸球から濃度依存的に活性酸素の産生を誘導した。なかでも好中球エラスターゼの作用が最も強力であり、逆にPR3は活性酸素産生を誘導しなかった。</p> <p>次にプロテアーゼ阻害薬の効果を検討した。エラスターゼ阻害薬 sivelestat sodium hydrateは好中球エラスターゼにより誘導される好酸球の活性酸素産生を有意に抑制した。セリンプロテアーゼ阻害剤であるPMSFはそれ自体に細胞毒性があるため低濃度でのみ使用した。そのため抑制作用は部分的ではあったが、PMSFによっても好酸球の活性酸素産生は有意に抑制された。</p> <p>好中球由来プロテアーゼによる好酸球からのサイトカイン・ケモカイン産生誘導の検討では、同時に測定した20種類のサイトカイン・ケモカインのうち、IL-6, TNF-α, IL-8, GRO-αの有意な産生が認められた。PR3は活性酸素の産生誘導効果はないにもかかわらず、好中球エラスターゼやカテプシンGと同様なサイトカイン・ケモカイン産生誘導効果がみられた。</p>			

(注) 2, 000字以内にまとめて記入すること。

【考察】

本研究では、まず第一に好中球由来セリンプロテアーゼが好酸球の主要なエフェクター機能の一つである活性酸素産生を誘導することを明らかにした。好中球由来のメディエーターによる好酸球からの活性酸素産生の誘導については、我々のこの報告が最初である。この結果より、Th2サイトカイン環境下だけではなく、好中球浸潤を生じるTh1環境下でも好酸球が活性化され、組織障害に働くことが示唆された。

第二に、好中球由来のセリンプロテアーゼが好酸球のサイトカイン・ケモカイン産生を誘導することを明らかにした。とくに注目すべき点は、ここで産生誘導されるサイトカイン・ケモカインが炎症性サイトカインや好中球の遊走に働くケモカインとして知られるIL-6, , TNF- α , IL-8, GRO- α という点である。これらの結果より、好酸球が好中球由来のプロテアーゼによって活性化されることで、好中球性炎症をさらに増強させるように機能しえることが示された。

本研究で明らかとなった好酸球と好中球の複合的炎症は、重症喘息の病態形成に関与している可能性が考えられる。今後、好中球由来エラスターゼが重症喘息の治療ターゲットの一つとなりうるかもしれない。