

# 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_病態制御医学講座	氏 名	藤 原 篤 司
主論文の題名			
Role of Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor in Allergic Bronchial Asthma			
主論文の要旨			
<p>気管支喘息は気道の炎症性疾患で、有病率は先進国でも 15-20%とされている。病態には、CD4 +T リンパ球から放出される IL-4,5,13 といったサイトカインにより炎症過程が維持される。また、IL-13 は特に気道における細胞外マトリックスの沈着を促進させ、気道リモデリングに寄与していると考えられる。</p> <p>Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor(TAFI) は肝細胞から分泌され、トロンビン-トロンボモジュリン複合体やプラスミンを介した蛋白分解により線溶系を阻害するとともに、炎症過程を制御する。しかし TAFI の喘息における役割はいまだ不明な点が多い。</p> <p>我々はマウス喘息モデルに対し、TAFI の気道炎症、気道過敏性への影響について評価した。</p> <p>マウスは C57BL/6 を用い TAFI wild type マウス(WT)と TAFI 欠損マウス(KO)を選別。10<math>\mu</math>g 水酸化アルミニウムゲル卵白アルブミン(OVA)で感作を行った(Day0)。対照群には生理食塩水を同様に腹腔内投与した(SAL)。ブースター投与として Day7,14,21,28,35,42,49 にも追加感作を行った。その後、Day56,57,58,59 で 2%OVA 吸入 30 分間を 1 回、Day60 で 2 回行った。対照群には生理食塩水吸入を行った。Day61 で気道過敏性を評価し、Day62 で sacrifice を行った。気道過敏性はメサコリン吸入により、ボディプレチスモグラフィ法と、気管挿管し直接気道抵抗を測定する方法を用い測定した。気道過敏性は、気管支収縮薬であるメサコリンを吸入させた後に測定した Penh で WT/OVA マウスと KO/OVA マウスが WT/SAL マウスと KO/SAL マウスに対してそれぞれ有意に亢進していた。また、その Penh の増加は WT/OVA マウスと比べ、KO/OVA マウスでより大きかった。また、直接気道内圧測定での RI による気道抵抗評価でも同様に WT/OVA マウスと比べ KO/OVA マウスで有意に高かった。これら独立した 2 つの測定法で、陽性対照群である WT/OVA マウスと比べ、KO/OVA マウスは呼吸機能の点で低下しており、TAFI は喘息コントロールに有益な役割を果たしていることが示された。</p> <p>WT/OVA マウスと比べ KO/OVA マウスで喘息病態が悪化することを確認するため、肺における炎症性マーカーを調べた。気管支肺胞洗浄液(BALF)中の総細胞数は WT/OVA マウスと比べ KO/OVA マウスで有意に上昇していた。血清中の LDH と BALF 中の総蛋白量についても、WT/OVA マウスと KO/SAL マウスと比べて KO/OVA マウスで有意に上昇していた。これらの結果から KO/OVA マウスでの呼吸機能の悪化は WT/OVA マウスと比べて肺での炎症の増加に伴って生じていると考えられた。</p> <p>TAFI はトロンビン-トロンボモジュリン複合体によって活性化され、線溶系を調節する。線溶系に関して検討するため TAFI 欠損マウスに喘息を発症させ、凝固系マーカーであるトロンビン-アンチトロンビン複合体(TAT)を測定した。TAT は TAFI 欠損マウスと野生型マウスの間で有意差はなかった。BALF 中の PAI-1 は WT/OVA マウスに比べ、KO/OVA マウスで有意に上昇していたが、そのほかのグループでは有意差は認められなかった。これらから PAI-1 は喘息を含む多くの炎症性疾患で増加していることが確認できた。</p> <p>BALF中の IL-5はWT/OVAマウスやKO/SALマウスに比べ、KO/OVAマウスで有意に上昇していた。IL-5はIgEやIgG2aの産生に影響していることから、BALFでWT/OVAマウスと比較してKO/OVAマウスでIgEではなく、IgG2aが増加していることを確認した。</p>			

(注) 2, 000字以内にまとめて記入すること。

Th1 活性の測定指標として BALF 中の IFN $\gamma$  を測定したところ、WT/SAL マウスと KO/SAL マウスと比較して、WT/OVA マウスと KO/OVA マウスで低下していた。

TGF $\beta$ 1 と Osteopontin も同様に気管支喘息の病態に関わっていると報告されている。そこで WT/SAL マウスと KO/OVA マウスを比較したところ、WT/OVA マウスの BALF 中の TGF $\beta$ 1 は有意に上昇したが、KO/SAL マウスと KO/OVA マウスで差は認められなかった。BALF 中の Osteopontin は WT/OVA マウスと KO/OVA マウスは WT/SAL マウスと KO/SAL マウスと比べて上昇していた。また、その濃度は WT/OVA マウスと比べて KO/OVA マウスで有意に上昇していた。

肺組織における PAS 染色で確認したところ WT/OVA マウスと比べ、KO/OVA マウスで気管支壁の粘液産生細胞の有意な増加が認められた。

喘息の病態生理に補体系が関与していることが最近報告され、特に C5a が TAFI 活性化の基質として認識されていることもあり、C5 受容体拮抗薬(C5aRA)をこれらの喘息モデルに投与し C5a との関係を検討した。マウスを OVA でチャレンジする前に、C5aRA の前投与を施した。WT/OVA マウスと比べ、KO/OVA マウスで気道過敏性と BALF 中の好酸球比率は有意に上昇していたが、この上昇は C5aRA での前投与下 WT/OVA マウスと KO/OVA マウス両者で有意に減少していた。この C5aRA の投与がアレルギー性炎症を減少させるかどうかの検討として、C5aRA で治療した KO/OVA マウスと WT/OVA マウスで BALF 中の総蛋白量を比較したところ、総蛋白量は減少していた。C5a 自体は WT/OVA マウスと比べ KO/OVA マウスで高く、しかし C5aRA の投与により両グループのマウスともに有意に減少した。また、C5aRA 無投与グループマウスと比べて C5aRA で前投与を施した WT/OVA マウスと KO/OVA マウスの両グループともに、BALF 中の IgE 濃度は減少した。

以上の結果から、TAFI はアレルギー性気道炎症に保護的に作用し、気管支喘息の病因に大きな役割を果たしていることが示された。そして TAFI は補体系、特に C5a に関与していることが示され、今後の治療に応用できる可能性が示唆された。