

学位論文の要旨

三重大学

所属	三重大学大学院医学系研究科 乙 生命医科学専攻 病態制御医科学講座 呼吸器病態学分野	氏名	高木 健裕
----	--	----	-------

主論文の題名

Inhibition of Allergic Bronchial Asthma by Thrombomodulin Is Mediated by Dendritic Cells

主論文の要旨

【背景】

気管支喘息はアレルギーによる気道炎症によって、可逆性の気道炎症と気道過敏性の亢進を特徴として咳嗽や喘鳴、呼吸困難などを引き起こす疾患であり、その有病率は高く成人では6~10%とされている。近年、吸入ステロイドや吸入長時間作動型 β 刺激剤などにより喘息治療は飛躍的に発展し、喘息により死亡する人は激減した。しかしながら、既存の薬剤ではコントロールできない症例も多く見られ、いまだに喘息死は2000人を超えていることから新規治療法が望まれる。気管支喘息患者において、誘発喀痰中のトロンビン、TAT、組織因子などが健常者に比べ有意に上昇していることから、喘息患者では気道が過凝固の状態となっており、その結果さらなる炎症の増悪や気道リモデリングに関わっていると考えられている。また、線溶抑制因子である Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)が喘息における気道炎症を悪化させ、気道過敏性の亢進やリモデリングに関わっていることや、凝固抑制因子である活性化プロテインC(Activated protein C, APC)がマウス喘息モデルにおいて、Th2 サイトカインによる気道炎症を抑制し、喘息病態の軽減に関わっていることなどが報告され、凝固・線溶系因子が単に凝固線溶を担うだけではなく、さまざまな病態に関与していることが明らかとなり、今後の新たな治療への応用が期待されている。

トロンボモジュリン(Thrombomodulin, TM)は、主に血管内皮細胞上に存在するトロンビン結合タンパクであり、トロンビン・TM複合体がプロテインCを活性化することで抗凝固作用を発揮する、凝固制御系因子である。ヒトTMは557残基のアミノ酸から成り、5つの領域(レクチン様ドメイン、6個連続するEGF様ドメイン、糖鎖結合ドメイン、細胞膜貫通ドメイン、細胞質ドメイン)で構成されている。TMの機能として、①トロンビン・TM複合体としてプロテインCを活性化する、②トロンビン・TM複合体としてThrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)を活性化する、③トロンビンの血栓促進的作用を失活させる、④High mobility group box 1 protein (HMGB1)を中和・不活化させる、⑤レクチン様ドメインの直接的な抗炎症作用、などがある。

樹状細胞は抗原特異的エフェクターT細胞の誘導を制御することにより、アレルギー感作に重要な役割を果たしている。樹状細胞にはさまざまな表面マーカーが発現しており、その特徴により大

分類として骨髄系樹状細胞(myeloid dendritic cell, mDC)、形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC)に分類され、mDCはアレルギー反応に対して促進的に作用し、pDCはアレルギー反応に対して抑制的に作用するといわれている。mDCはさらに、CD1c (=blood dendritic cell antigen 1, BDCA-1)を発現するtype 1 mDC (mDC1)とTM (=CD141, BDCA-3)を発現するtype 2 mDC (mDC2)に分類されている。mDC1とmDC2の機能の違いについてはいまだ不明な点が多いが、TMの発現の有無がmDCの機能を変化させている可能性がある。

今回我々は、TMが気管支喘息や樹状細胞に対してどのような効果があるのかを検討した。

【方法】

6週齢のBALB/cマウスを用いて卵白アルブミン(ovalbumin, OVA)と水酸化アルミニウムを腹腔内投与して感作、その後OVA吸入を行い、喘息モデルを作成した。TMとして、ヒト組換え型可溶性トロンボモジュリン(ART-123)を使用、OVA吸入の1時間前にTMを、対照群には生食を吸入させた。4日間OVA吸入を行った後に気道過敏性、気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中の好酸球、IgE、Th2 cytokineを測定し、肺の組織学的な検討を行った。

またBALB/cマウスの大腿骨より骨髄を採取、GM-CSFを加えて樹状細胞を採取した後TMを加え3日間培養、TM陽性樹状細胞とTM陰性樹状細胞をmagnetic microbeadsで分離した。さらに、それぞれにOVAを加えて2日間培養し、BALB/cマウスの尾静脈より投与、7日後よりOVA吸入を行い、喘息モデルを作成し、気道過敏性、BALF中および血液中サイトカイン、組織などを検討した。

さらに気管支喘息患者中の末梢血よりTM陽性樹状細胞を測定し、重症度や呼吸機能検査、血中IgEなどとの相関を検討した。

【結果】

TM投与群において気道過敏性の亢進、BALF中の好酸球数、IgE、Th2 cytokineはcontrol群と比較して有意に抑制されていた。組織学的な検討でもTM投与群の方が気管支への炎症細胞浸潤が軽度であった。

TM陽性樹状細胞投与群は、Positive control群およびTM陰性樹状細胞群と比較して、気道過敏性の亢進、BAL中の好酸球数、IgE、Th2 cytokineは有意に抑制されていた。組織学的な検討でもTM陽性樹状細胞投与群の方が気管支への炎症細胞浸潤が軽度であった。また、TM陰性樹状細胞投与群ではPositive control群より増悪していた。

気管支喘息患者中の末梢血より測定したTM陽性樹状細胞の数は、重症度や血中IgEなどとは相関が見られなかったものの、呼吸機能検査として1秒率の値とは有意に負の相関を示していた。

【結論】

マウス喘息モデルにおいて経気道的なTMの投与により気管支喘息の病態を軽減させることができたが、そのメカニズムとして、TM投与により樹状細胞のimmunogenicな機能をtolerogenicな機能に変化させたことが病態の軽減につながったと考えられた。