

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Up-regulation of cysteinyl leukotriene 1 receptor by interleukin-13 enables human lung fibroblasts to respond to leukotriene C₄ and produce eotaxin (インターロイキン13によるシステイニルロイコトリエン1受容体の増強はヒト肺線維芽細胞をロイコトリエン C₄ に反応させることが可能となり、エオタキシンを産生させる)

琉球大学大学院医学研究科生体制御系専攻

氏名 知花 和行 (印)

研究の目的：気管支喘息において Cysteinyll
leukotriene (CysLT) は気道平滑筋の収縮、
粘液分泌、気道粘膜の浮腫など炎症を惹起す
ることが報告され、その重要性が認識されて
いる。しかし、in vivo においてロイコトリ
エン受容体拮抗薬 (LTRA) が気道への好酸球
浸潤を抑制すると報告され、好酸球の気道へ
の浸潤に CysLT が関わっていることが示唆
されているがその詳細は分かっていない。一
方、線維芽細胞は Th2 サイトカインの刺激
により chemokine を産生し、好酸球を気道
へ遊走させることが示され、気管支喘息にお
ける重要な細胞であることが認識されてきて
いる。これまでに CysLT 受容体 (CysLTR) が
線維芽細胞上に存在しているか否かの報告
はなく、CysLT の線維芽細胞に対する作用は
不明であった。CysLT が線維芽細胞から
eotaxin の産生を増強させるか否かを調べそ
のメカニズムを検討した。また、得られた上
清の好酸球遊走活性を検討した。

方法	:	ヒト肺線維芽細胞	(HFL-1)	を	6	また												
は		12-well	culture	plate	に	播き、												
leukotriene	(LTC ₄)	、	Interleukin	(IL)-13	を													
単独	、	または	共に	刺激	した。	48時間後の上清												
を	回収	し、	ELISA	で	eotaxin	産生を測定した。												
さらに		eotaxin	産生	が	LTRA	で抑制できるか												
検討	した。	24、	48時間	後の	CysLT1R	のmRNA												
発現	を	定量的	real-time	PCR	で	検討し、48時												
間	後の	CysLT1R	の	蛋白	発現	をフローサイトメ												
トリー	で	検討	した。	得	られた	上清の好酸球遊												
走	活性	も	検討	した。														
結果	:	LTC ₄	単独	では	eotaxin	産生は増強さ												
れ	ない	が、	IL-13	単独	で	eotaxin	産生は増強											
され	、	さらに	LTC ₄	との	共刺激	、	または	IL-13	の									
24	時間	前	処理	によ	って	その	産生	が	さらに	増強								
した	。	LTRA	で	前	処理	して	お	くと	eotaxin	の								
産	生	増	強	は	抑	制	さ	れた	。	HFL-1	は	無	刺	激	状	態		
に	お	い	て	も	低	い	レ	ベ	ル	の	CysLT1R	mRNA	の	発				
現	は	認	め	る	も	の	の	、	蛋	白	発	現	は	認	め	ず	、	IL-13
に	よ	る	刺	激	に	よ	っ	て	CysLT1R	mRNA	発	現	は	増				

強	さ	れ	、	蛋	白	発	現	を	認	め	た	。	好	酸	球	遊	走	活	性						
は	L	T	C	₄	、	I	L	-	1	3	単	独	刺	激	の	上	清	で	増	強	さ	れ	、		
さ	ら	に	L	T	C	₄	と	の	共	刺	激	に	よ	っ	て	そ	の	遊	走	は					
さ	ら	に	増	強	し	た	。	L	T	C	₄	単	独	で	も	弱	い	が	直	接	的				
な	好	酸	球	遊	走	活	性	を	認	め	、	さ	ら	に	e	o	t	a	x	i	n	を			
介	し	た	よ	り	強	力	な	好	酸	球	遊	走	活	性	を	認	め	た	。						
L	T	R	A	前	処	理	に	よ	り	そ	の	遊	走	活	性	は	抑	制	さ	れ					
た	。																								
考	察	：	L	T	C	₄	は	I	L	-	1	3	存	在	下	で	は	e	o	t	a	x	i	n	産
生	を	増	強	さ	せ	た	。	I	L	-	1	3	が	線	維	芽	細	胞	に						
C	y	s	L	T	1	R	を	発	現	さ	せ	、	L	T	C	₄	に	対	す	る	感	受	性		
を	獲	得	さ	せ	る	こ	と	が	そ	の	メ	カ	ニ	ズ	ム	の	1	つ	と						
し	て	考	え	ら	れ	た	。	好	酸	球	遊	走	は	弱	い	L	T	C	₄	の					
直	接	作	用	お	よ	び	、	e	o	t	a	x	i	n	産	生	を	介	し	た	間	接			
作	用	が	あ	り	、	こ	れ	ら	は	と	も	に	L	T	R	A	で	抑	制	可					
能	で	あ	っ	た	。	気	管	支	喘	息	患	者	に	お	い	て	は	健	常						
人	で	は	問	題	の	な	い	細	胞	が	C	y	s	L	T	に	感	受	性	を	有				
し	て	い	る	可	能	性	が	あ	り	、	病	態	形	成	に	関	わ	る	こ						
と	が	示	唆	さ	れ	た	。	L	T	R	A	は	こ	れ	ら	の	気	管	支	喘					
息	の	病	態	に	有	効	で	あ	る	と	考	え	ら	れ	た	。									

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	* 課程博 第	号	氏名	知花 和行
		平成 15 年 5 月 7 日		
論文審査委員	主査教授	須加原 一博		
	副査教授	田中 勇悦		
	副査教授	松崎 吾朗		
(論文題目)				
Up-Regulation of Cysteinyl Leukotriene 1 Receptor by IL-13 Enables Human Lung Fibroblasts to Respond to Leukotriene C ₄ and Produce Eotaxin				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に対し、その研究に至る背景、論文の内容とその学術的水準、研究の成果とその意義などを慎重に審査し、次のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
Cysteinyl leukotriene (以下、CysLTs) は気管支喘息において気管支収縮、粘液分泌、気道過敏性亢進に関与している。これらの効果以外に LTD ₄ の吸入により喀痰中の好酸球が増加したという報告、またロイコトリエン受容体拮抗薬によって気道への好酸球浸潤が抑制されたことが報告されており CysLTs が気道への好酸球浸潤にも何らかの影響があることが示唆されていた。しかし、CysLTs 単独で好酸球を遊走させるか否かは報告によって結果が異なっており、また、CysLTs によって chemokine が産生されるか否かは検討されていなかった。今回、肺線維芽細胞を用い、CysLTs が好酸球炎症に関わる機序を検討した。				
2. 研究内容				
1) LTC ₄ は肺線維芽細胞に対し、単独では eotaxin の産生増強は認めなかったが、IL-13 で増強された eotaxin 産生をさらに増強させた。				

備考 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書きとすること。

2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。

3 * 印は記入しないこと。

論文審査結果の要旨

(2)

- 2) ロイコトリエン受容体拮抗薬であるpranlukast, montelukastはLTC₄で増強されたeotaxin産生を抑制した。
- 3) 肺線維芽細胞をIL-13で24時間前刺激しておくこと、LTC₄単独でもeotaxin産生が認められた。
- 4) 肺線維芽細胞は低いレベルのCysLT1R mRNAを発現していたが蛋白レベルでは確認できなかった。IL-13によってCysLT1R mRNA発現が増強し、蛋白レベルでも認められた。
- 5) 培養上清中の好酸球遊走活性はLTC₄単独でも認められるが、IL-13と共刺激で得られた上清の遊走活性が最も強かった。これはpranlukastおよびeotaxin中和抗体で抑制可能であった。

これらの結果は、CysLTsは直接的な好酸球遊走活性のみならずeotaxinを介したより強力な間接作用がある事が明らかとなった。IL-13は肺線維芽細胞に新たにCysLT1Rを発現させ、感受性を獲得することがその機序の一つであると考えられた。CysLTsは既知の機序に加え、好酸球を浸潤させる事により、喘息をより難治化させている可能性がある。

3. 研究成果の意義と学術的水準

CysLTs が喘息における好酸球浸潤にも関わっていることが明らかになった。そのメカニズムの一つとして、IL-13は肺線維芽細胞にCysLT1Rを発現増強させることが示唆された。本研究はCysLT1Rの発現調節によってCysLTsに対する感受性が変化しうることを示し、気管支喘息患者における難治化の原因の解明に一端を開き、国際的にも高く評価されるものであると判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。