

学位授与番号：甲 1067 号

氏 名：溜 雅人

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 3 月 14 日

学位論文名：

The optimal age for epicutaneous sensitization following tape-stripping in BALB/c mice.

（BALB/c マウスにおけるテープストリッピング手技による経皮膚感作モデルの最適年齢に関する研究）

学位論文審査委員長：教授 朝比奈昭彦

学位論文審査委員：教授 嘉糠洋陸 教授 黒坂大太郎

論文要旨

氏名	溜 雅人	指導教授名	井田 博幸
----	------	-------	-------

主論文

The optimal age for epicutaneous sensitization following tape-stripping in BALB/c mice.

(BALB/c マウスにおけるテープストリッピング手技による経皮膚感作モデルの最適年齢に関する研究)

Masato Tamari, Keisuke Orimo, Kenichiro Motomura, Ken Arae, Akio Matsuda, Susumu Nakae, Hirohisa Saito, Hideaki Morita, Kenji Matsumoto

Allergy International. 2018年 67巻 3号 p. 380-387

要旨

【背景・目的】

食物由来蛋白が湿疹皮膚へ直接接触することが、経皮膚感作の主要因と考えられている。生体内における食物アレルギーの病態の一層の解明のためには、病態解析に最適な経皮膚感作マウスモデルが必要である。しかしながら、根本的な問題点としてマウスにおいて経皮膚感作が誘導される最適な週齢は知られていない。本研究では食物アレルギーの経皮膚感作の最適週齢および、その機序を明らかにすることを目的とする。

【方法】

1, 3, 8, 24 週齢の野生型 BALB/c 雌マウスの背部皮膚に剃毛, 除毛, テープストリッピング処置を施行する。20 mg/ml の Ovalbumin (OVA) 溶液 20 ml をしみ込ませた Finn-Chamber をテープストリッピング後のマウスの背部に週に 3 日間, 計 3 週間曝露させることで感作を誘導する。経腹腔 OVA 負荷後に体温を測定する。血清 OVA 特異的 IgE 抗体価, 脾臓細胞からの OVA 依存的なサイトカインは ELISA で測定する。所属リンパ節へ遊走した樹状細胞, ランゲルハンス細胞の数は FITC 標識 OVA と Flow cytometry で定量する。背部皮膚における mRNA 発現レベルは qPCR で測定する。

【結果】

経腹腔 OVA 負荷によって 4 つの週齢群全てで有意な体温低下を示した。体温低下の程度, 血清 OVA 特異的 IgE 抗体価, 脾臓細胞培養上清中の OVA 依存的な Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL13) 産生量, 所属リンパ節における FITC 標識 OVA を取り込んだ樹状細胞数, ランゲルハンス細胞数は加齢に伴って増加した。テープストリッピングによって TSLP や IL-25 ではなく IL-33 のみで mRNA の発現が有意に誘導され, 加齢に伴って増大した。

【結論】

24 週齢のマウスで最大の樹状細胞遊走, Th2 への偏向, 抗原特異的 IgE 抗体産生, 抗原負荷による体温低下を示した。この結果には皮膚由来 IL-33 が主要な役割を担っていると推測される。

学位論文審査結果の要旨

溜雅人氏の学位請求論文は主論文 1 編 1 冊よりなり、主論文は、”The optimal age for epicutaneous sensitization following tape-stripping in BALB/c mice” (BALB/c マウスにおけるテープストリッピング手技による経皮膚感作モデルの最適週例に関する研究)と題するもので、2018年に *Allergology International* 誌 (IF=3.194) に発表されております。指導教授は小児科学講座の井田博幸教授です。

平成 30 年 2 月 19 日、公開審査会が、嘉糠洋陸教授、黒坂大太郎教授のご臨席の下で行われ、溜氏による研究概要の発表に続いて、口頭審査を実施しました。

席上では、多くの質問やコメントが提示されました。その主なものを挙げますと、

経口投与のデータを示していないのに、実験方法が食物感作モデルとして適切と言えるか、IL-33 の作用機序のターゲットは樹状細胞だけでよいか、免疫応答における樹状細胞以外の細胞の関与をどう考えるか、IL-33 の産生細胞は実験により確認できているか、実験結果は加齢によってテープストリッピングによる皮膚の壊れ方が違うことを反映しているだけではないか、1 週齢のマウスでも同一条件における感作が可能と言えるか、T 細胞の反応は OVA 特異的なものとしてよいか、BALB/c 以外のマウスでも検討しているか、Spearman 順位相関分析を行っているのに線形回帰曲線を用いて論じてよいのか、などです。

それらに対して、溜氏は、これまでの自身の実験データや、文献的な考察を基に的確に回答し、有意義な議論が行われました。

その後、嘉糠洋陸教授、黒坂大太郎教授と慎重に審議した結果、溜氏の研究は、氏の提示した実験系では週齢の高いマウスほど経皮感作されやすく、その機序として表皮細胞による IL-33 の産生誘導が積極的に関与することが示唆されており、アトピー性皮膚炎のように搔破が加わった湿疹病変の、とくに成人における経皮膚感作のモデルとなり得る点で新規性があり、学位の授与に十分に値する内容であると判断いたしました。また、thesis 中に一部、図の体裁の書き換えや実験方法の追記、単純な記載ミスの修正などが指摘されましたが、直ちに適切な修正が行われましたことをご報告いたします。