



# Beneficial effects of Galectin-9 on allergen-specific sublingual immunotherapy in a *Dermatophagoides farinae*-induced mouse model of chronic asthma

著者	池田 征樹
著者(英)	Ikeda Masaki
学位名	博士(医学)
学位授与機関	川崎医科大学
学位授与年度	平成28年度
学位授与年月日	2017-03-17
学位授与番号	35303甲第651号
URL	<a href="http://doi.org/10.15111/00001851">http://doi.org/10.15111/00001851</a>

氏名(本籍) <sup>いけだ まき</sup>池田 征樹 (長野県)

学位の種類 博士(医学)

学位授与番号 甲第 651 号

学位授与日付 平成 29 年 3 月 17 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学位論文題目 Beneficial effects of Galectin-9 on allergen-specific sublingual immunotherapy in a *Dermatophagoides farinae*-induced mouse model of chronic asthma

審査委員 教授 石原 克彦 教授 藤本 亘 教授 杉原 尚

#### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

池田大学院生は先行研究で、ヒトの病態と近似した喘息マウスモデルを開発した [KMJ42(1):1-7]。BALB/c を用いたモデルで、抗原をヒト喘息の主要なアレルゲンであるダニ (*Dermatophagoides farinae*) の抗原 (Df) 抽出液とし、感作はアジュバント無しで頻回に経鼻投与する。本法により血清の Df 特異的 IgE と IgG1 の産生と気道の過敏性が誘導され、Df の経鼻再曝露により早期喘息反応としての気道抵抗性が誘導される。気管支洗浄液 (BALF) 中には IL-5、IL-13、好酸球が増加する。また、感作時の Df 投与の頻度の差に応じて重症度の異なる喘息病態を誘導できることを明らかにしている。

学位論文では、この喘息モデルを用いてアレルゲン特異的舌下免疫療法 (SLIT) の効果を検討した。重症喘息を誘導する条件である週 5 回 5 週間の Df 感作を行った後に、Df を舌下に週 5 回 2 週間投与し (SLIT)、Df を再曝露したところ、SLIT 無しと比較して早期喘息反応の軽症化傾向はあるものの有意差はなかった。しかし、免疫調節活性を有する動物レクチンであるガレクチン 9 (Gal-9) 加えて SLIT を行うと、気道の過敏性、早期喘息反応、血清 Df 特異的 IgE、BALF 中の好酸球数、IL-5、IL-13 が有為に減少した。また、Gal-9 の追加は組織学的に肺における好酸球浸潤と粘液分泌を顕著に抑制した。この治療効果の機序に関連する変化として BALF 中の Treg と TGF  $\beta$  1 の増加を認め、抗 CD25 抗体を用いた Treg の除去により TGF  $\beta$  1 の増加と SLIT の喘息治療効果が消失した。

独自に開発した喘息マウスモデルにおいて、Gal-9 をアジュバントとする SLIT が Treg を誘導し

て喘息を軽症化させることを明らかにした。ヒトの喘息に対する SLIT の効果増強法として有用な知見を提供する重要な論文である。

### 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査発表会においては、丁寧に準備されたスライドを用い、背景と実験方法、結果とその考察が適切に発表された。

ヒトの喘息の治療では部分的な有効性のみが報告されている SLIT を、独自に開発した気管支喘息マウスモデルに行い、Df 単独の SLIT と比較して、Df に Gal-9 を加えた方が高い治療効果を示すことを明らかにした。また、Gal-9 の添加により BALF 中の Treg の誘導と TGF  $\beta$  1 の産生が亢進していることを見出だした。さらに、抗 CD25 抗体を用いた Treg 除去実験により TGF  $\beta$  1 産生量が低下したことから、Gal-9 による Treg 誘導増強作用が治療効果増強に重要な役割を果たしていることを証明した。

論文では TGF  $\beta$  1 産生細胞についての解析結果は示されていなかった。しかし、追加実験として、脾臓細胞の Df と Gal-9 による試験管内刺激により誘導された細胞内 Foxp3 陽性の Treg が TGF  $\beta$  1 を産生していることを確認した結果を提示した。論文完成後も自身の研究課題の疑問点解明に向けて継続的に取り組んでいることがわかる。

SLIT に用いる Df の量が感作時の鼻腔への投与量と比べて少量に設定されている根拠や Gal-9 の使用量をどのように決定したかとの質問に対しては、いずれも予備実験を行い検討したと答えた。実際の実験手技に関する BALF の採取量や気道抵抗性測定法の侵襲性についても、実際に自分自身で行ったこととして詳細に答えていた。

その他、舌下投与した Gal-9 の吸収・体内動態や最初に Gal-9 の機能として報告された好酸球走化因子活性との関連性といった未解決の疑問点はいくつか存在するものの、Gal-9 の Treg 誘導増強作用を介してマウス喘息モデルにおける SLIT の治療効果が促進されたという機序は明確に証明されており、臨床的意義も高い。

以上により、本研究は学位授与に値するものと判断された。