

氏名（本（国）籍）	鄭 境 淑（大韓民国）
主 指 導 教 員 名	東京農工大学 教授 松 田 浩 珍
学 位 の 種 類	博士（獣医）
学 位 記 番 号	獣医博甲第332号
学 位 授 与 年 月 日	平成23年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学 位 論 文 題 目	A Study on Endogenous Control Mechanism in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis in NC/NgaTnd Mice (NC/NgaTnd マウスを用いたアトピー性皮膚炎発症 における内因性制御機構の関与とその病因解析に関する研究)
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 深 田 恒 夫 副査 帯広畜産大学 教 授 猪 熊 壽 副査 岩 手 大 学 教 授 安 田 準 副査 東京農工大学 教 授 松 田 浩 珍 副査 岐 阜 大 学 教 授 前 田 貞 俊

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年注目される Peroxisome proliferative-activated receptor (PPAR) γ は、核内受容体スーパーファミリーに属するタンパク質であり、転写因子としても機能している。PPAR γ は 9-cis-レチノイン酸をリガンドとし核内受容体の一種であるレチノイド X 受容体とヘテロ二量体を形成し、DNA 上の PPAR 応答領域に結合、様々な遺伝子の発現を制御することが知られている。PPAR γ は主に脂肪組織に分布して脂肪細胞分化などに関与したり、インスリンによる脂肪細胞への糖の取り込みを促進したりすることから、インスリン抵抗性改善薬の標的分子でもある。一方で、炎症性細胞や血管内皮細胞などにも発現しており、特に免疫系細胞の機能を抑制することから、動脈硬化症、炎症性腸疾患、または多発性硬化症などの様々な炎症性疾患モデルにおいて、炎症の内因性制御分子であると報告されている。このような過去の研究成果より、PPAR γ リガンド（作働薬）の全身投与がアトピー性皮膚炎（atopic dermatitis, AD）の臨床症状を改善する可能性に着目し、その制御のメカニズムを含めて解明を試みたのが本研究である。本研究では、アトピー性皮膚炎のモデルマウスである NC/NgaTnd マウスを使用し、PPAR γ が樹状細胞（dendritic cell, DC）の調節を介して、AD の病態発現過程における内因性制御因子として機能するかどうかを検証している。

第1章では、主要組織適合抗原複合体 (major histocompatibility complex, MHC) クラス II, CD80,

CD86, 及び OX40L などの共刺激分子の DC での発現を制御することから, PPAR γ の特異的なリガンド (作働薬) の1つであるロシグリタゾン (rosiglitazone, RSG) が DC の T 細胞を活性化する能力を抑制することを示した。Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)によって誘導される OX40L, MHC class II, CD86, thymus and activation-regulated chemokine, eotaxin 2, および macrophage-derived chemokine などの DC における発現も, RSG 処理により抑制されることを明らかにしている。また, TSLP によって促進されるインターロイキン-6, nuclear factor- κ B1 および κ B2 を含む炎症誘導性分子の遺伝子発現も, RSG の処理によって抑制されることを示した。すなわち, アレルギー性炎症の抗原提示過程における, PPAR γ の抑制因子として機能を証明した。

第2章では, RSG の全身投与が, NC/NgaTnd マウスの掻痒行動を減弱させ, AD の発症を遅延させることを明らかにした。まだ皮膚炎を発症していない生後5週齢のマウスに7週間治療すると, 臨床的および組織学的に皮膚炎が緩和するとともに, DC の遊走と成熟が効果的に制御されることが示されている。TSLP の影響を受ける DC が, AD の初期段階において重要な役割を果たしている Langerin 陽性の表皮 DCであることを, 免疫組織化学的手法を用いて明確にしている。一方, すでに症状が確立した AD に対しては, RSG の投与が有効性を示さないことを提示した。これらの研究結果は, PPAR γ がアレルギー反応の初期段階で重要な抑制因子となる可能性を示すものである。

マトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase, MMP) は基底膜細胞外マトリックスを経由する DC の遊走に不可欠な細胞外マトリックス分解酵素であり, アレルギー反応における DC の遊走において重要な役割を果たす因子である。AD 患者から得られた皮膚や血漿中で, MMP-9 の増加が報告されている。

第3章では, まず MMP-9 欠損 NC/NgaTnd マウスから骨髄由来樹状細胞 (bone marrow-derived cultured-dendritic cell, BMDC) を作成し, MMP-9 が TSLP の刺激に伴う DC の遊走に不可欠であることを明らかにした。本研究の結果は, PPAR γ 作働薬が TSLP によって誘導される MMP-9 の産生および DC の遊走を減少させることを示すものである。NC/NgaTnd マウスの皮膚培養法を用いて, 黄色ぶどう球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 由来のペプチドグリカン誘発性の TSLP の発現が, PPAR γ の活性化により抑制されることを明らかにした。*S. aureus* の菌体成分は, スーパー抗原として AD の臨床症状を悪化させることから, *S. aureus* 刺激による TSLP の増加は, DC の活性化とそれに伴う AD の発症を誘導する可能性が考えられる。本研究により, PPAR γ が AD の病態初期形成に重要な免疫学的事象における, 抑制性の調節因子であることが提起された。

皮膚バリアの機能障害が指摘される AD 患者の皮膚では, ケラチノサイトが抗原や刺激物により TSLP を産生しやすいと考えられている。また, ケラチノサイトから放出される TSLP は, 皮膚における DC の成熟や分化を誘導し, DC が抗原提示細胞としてその機能を発揮するリンパ節への遊走に必須の MMP-9 産生を促進する。さらに, 活性化された DC はケモカインを分泌し炎症部位への白血球の集積を誘導する。本研究で得られた結果より, AD の初期段階において, PPAR γ が, DC の成熟およびそれにより誘導される様々な機能を制御するとともに, ケラチノサイトの TSLP 産生や TSLP 誘導性免疫反応を抑制する内因性制御因子として重要な役割を果たすことが明らかにされた。すなわち, AD の発症初期段階において治療標的分子としての PPAR γ の重要性を提起した研究論文である。

審 査 結 果 の 要 旨

Peroxisome proliferative-activated receptor (PPAR) γ は, 核内受容体に属する転写因子で, 免疫細胞にも発現し細胞機能を調節することによって, 様々な炎症性疾患において抑制機能を発揮する。本研究では, アトピー性皮膚炎 (AD) 自然発症モデル NC/NgaTnd マ

ウスを用いて、皮膚の thymic stromal lymphopoietin (TSLP) 産生及び TSLP により活性化され樹状細胞 (DC) の初期病態形成への関与のメカニズムを解析, その過程に PPAR γ が内因性制御因子として機能することを検証した。

まず, PPAR γ の特異的作働薬であるロシグリタゾン (RSG) が, TSLP により誘導される DC 成熟マーカーや共刺激分子の発現を制御することを明らかにした。また, TSLP はサイトカインやケモカインの遺伝子発現を促進したが, RSG はそれを抑制した。このことは, 抗原提示過程において, PPAR γ が抑制因子として働く可能性を示唆している。

次に RSG の全身投与が, NC/NgaTnd マウスの掻痒行動を減弱させ, AD の発症を遅延させることを発見した。このとき, DC の遊走と成熟が効果的に制御されていた。一方, すでに発症した AD に対して, RSG は無効であった。マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 9 は細胞の遊走に重要な役割を果たす。そこで MMP9 欠損 NC/NgaTnd マウスから骨髄由来 DC を作成し, TSLP の刺激に伴う DC の遊走に MMP9 が不可欠であることを示した。また, NC/NgaTnd マウスの皮膚培養法により, AD 増悪因子である黄色ぶどう球菌由来ペプチドグリカンが TSLP の産生を誘導し, PPAR γ の活性化により抑制されることを明らかにした。PPAR γ は, AD の初期病態形成に関与する事象において, 抑制性の調節因子として機能する可能性が示された。

本研究では, AD の初期段階において PPAR γ が, DC の成熟及びそれにより誘導される機能を調節するとともに, TSLP の産生やこれによって亢進する反応の内因性制御因子として重要な役割を果たすことを AD 自然発症モデルを駆使して詳細に検証しており, AD の発症初期段階における治療標的分子としての有用性を示した。

以上について, 審査員全員一致で本論文が岐阜大学連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : PPAR γ -mediated suppression of dendritic cell function prevents the onset of atopic dermatitis in NC/Tnd mice
著 者 名 : Jung, K., Tanaka, A., Fujita, H., Matsuda, A., Oida, K., Karasawa, K., Okamoto, N., Ohmori, K., Jee, Y., Shin, T., and Matsuda, H.
学術雑誌名 : Journal of Allergy and Clinical Immunology
巻・号・頁・発行年 : In press

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Topical application with a new NF- κ B inhibitor improves atopic dermatitis in NC/NgaTnd mice
著 者 名 : Tanaka, A., Muto, S., Jung, K., Itai, A., and Matsuda H.
学術雑誌名 : Journal of Investigative Dermatology
巻・号・頁・発行年 : 127 (4) 855-863, 2007
- 2) 題 目 : Oral supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724 prevents development of atopic dermatitis in NC/NgaTnd mice possibly by modulating local production of IFN- γ

- 著者名：Tanaka, A., Jung, K., Benyacoub, J., Prioult, G., Okamoto, N., Ohmori, K., Blum, S., Mercenier, A., and Matsuda H.
学術雑誌名：Experimental Dermatology
巻・号・頁・発行年：18 (12) 1022–1027, 2009
- 3) 題 目：A novel NF- κ B inhibitor improves glucocorticoid sensitivity of canine neoplastic lymphoid cells by up-regulating expression of glucocorticoid receptors
著者名：Matsuda, A., Tanaka, A., Muto, S., Ohmori, K., Furusaka, T., Jung, K., Karasawa, K., Okamoto, N., Oida, K., Itai, A., and Matsuda, H.
学術雑誌名：Research in Veterinary Science
巻・号・頁・発行年：89 (3) : 378–382, 2010
- 4) 題 目：Retinal degeneration and *rd1* mutation in NC/NgaTnd mice—a human atopic dermatitis model
著者名：Karasawa, K., Tanaka, A., Jung, K., Matsuda, A., Okamoto, N., Oida, K., Ebihara, N., Ohmori, K., and Matsuda, H.
学術雑誌名：Current Eye Research
巻・号・頁・発行年：In press