

# 学位論文要旨

氏名 山田 悠介

題目：好酸球増多症を示す新規突然変異マウス“Yama マウス”の確立と疾患モデルへの応用

## 論文要旨：

好酸球は骨髄で分化・成熟する顆粒球の一種で、白血球中に約 1-5%程度の割合で存在し、細胞質内に含まれる特殊顆粒を放出することで組織傷害を起こすことが知られている。しかし、近年では、好酸球がサイトカインなどの産生により免疫調節機構や恒常性機能にも関与していることが示唆されている。好酸球の活性化および増殖は、ヘルパー2T (Th2) 細胞が産生するインターロイキン (IL) -5 を介した経路のみ報告されており、不明な点が多い。

現在、末梢血中の好酸球が増加するモデルマウスとしては蠕虫感染モデルマウス、過敏症モデルマウス、および IL-5 トランスジェニックマウスが用いられており、これらのマウスはいずれも人為的処置が必要であり IL-5 の発現増加により好酸球の増加を示す。我々は、従来のモデルマウスとは異なり突然変異による好酸球増多症を示すマウスを発見したため、本論文では新たな好酸球増多症マウスの性状解析とマウスの疾患モデルへの応用の可能性について検討を行った。

第一章では、末梢血中の好酸球が増加した好酸球増多症を示す新規突然変異マウス“Yama マウス”の確立を行った。市販の ICR マウスから偶発的に末梢血中の好酸球数が多い個体を発見し、兄妹交配により近交系マウスを確立した。本マウスは“Yama マウス”と命名され、好酸球増多症を示すことが確認された。6 週齢の Yama マウスにおける末梢血中の好酸球数は ICR マウスの約 30 倍であり、Yama マウスには明らかな病変は認められなかった。ICR マウスと Yama マウスの骨髄、脾臓、腸間膜リンパ節における IL-5 発現には有意差が認められなかった。Yama マウスにおける好酸球増多症は、IL-5 発現増強以外のメカニズムによることが明らかになった。本マウスの好酸球増多因子を解明することで、新たな因子を発見できる可能性がある。

Yama マウスは人為的処置を行わずに好酸球増多症を示し、明らかな病変を形成しない。そこで、好酸球が重要とされるアレルギー性疾患のモデルマウスに用いることができると考え、第二章ではアレルギー性皮膚炎 (AD) モデルの作製を試みた。マウスの耳介にジニトロフルオロベンゼンを塗布することにより AD を誘導した。Yama マウスでは既存のモデルマウスと比較して、重度の線維化および高度な好酸球浸潤を伴う AD を示した。線維化に重要なサイトカインである形質転換増殖因子 (TGF) - $\beta$  の発現は既存のモデルマウスにおいて増加したのに対し、Yama マウスでは増加が認められなかった。一方で、線維化メディエーターの 1 つである IL-4 の発現は Yama マウスで有意に増加した。好酸球が IL-4 を産生することから、Yama

マウスのADにおける線維化は好酸球の寄与が大きいと考えられる。さらに、慢性化したADでは真皮線維化がAD病態の増悪に関連しているといわれている。Yamaマウスを用いたADモデルは重度な線維化を伴うADを誘導できることから、慢性期のADにおける線維化メカニズムの解明、および新たな治療薬の開発につながる研究に用いることができる可能性が示された。

第二章において、Yamaマウスに疾患を誘導した際に線維化が誘導されやすい可能性が考えられたため、慢性疾患のモデルマウスの作製を試みた。第三章では、尿細管間質線維症(TIF)が特徴的であり線維化が予後の悪さと相関している慢性腎臓病(CKD)のモデルマウスを作製した。既存の薬物誘導性CKDモデルは、人のCKDと同様に血清尿素窒素(BUN)とクレアチニンの上昇が認められるが、線維化が軽症であるという欠点があるため、Yamaマウスを用いたモデルマウスを作製することで欠点を克服できると考えられた。マウスにアデニンを投与することによりCKDを誘導した。Yamaマウスでは、既存のモデルマウスと比較して重度の線維化および高度な好酸球浸潤を伴うCKDが誘導された。血清学的検査において、Yamaマウスは既存のモデルマウスよりBUNおよびクレアチニン濃度が有意に上昇した。線維化および好酸球に関連するサイトカイン発現の分析では、YamaマウスにおいてTGF- $\beta$ 、IL-4、IL-6の発現が増加した。これらのサイトカインのうち、TGF- $\beta$ とIL-4は好酸球が分泌し、YamaマウスCKDモデルでは好酸球が顕著に浸潤したことから、CKDにおいても好酸球が線維化に寄与している可能性が示唆された。Yamaマウスでは既存のCKDモデルより重度のTIFを伴うCKDが誘導できることを示した。YamaマウスのCKDモデルでは、従来の特徴をより重度に示しつつ欠点を克服したモデルマウスとなった。YamaマウスCKDモデルを用いることで、CKDにおける線維化メカニズムの解明、および新たな治療薬の開発につながる研究を行うことができる可能性が示唆された。

本研究により、IL-5の発現増加を伴わずに遺伝的好酸球増多症を示す新たな近交系マウスが確立され、本マウスは様々な疾患モデルマウスとして有用であることが示された。本マウスを用いることにより、好酸球の活性化メカニズムの解明あるいは疾患の病態解明に関して、より発展的な研究を行うことができると考える。

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	山田 悠介
審査委員	主査：山口大学 教授 森本 将弘
	副査：鹿児島大学 教授 三好 宣彰
	副査：山口大学 教授 日下部 健
	副査：山口大学 教授 加納 聖
	副査：山口大学 准教授 櫻井 優
題目	好酸球増多症を示す新規突然変異マウス“Yama マウス”の確立と疾患モデルへの応用

### 審査結果の要旨：

山田 悠介氏の博士課程における研究は、好酸球増多症を示す新規突然変異マウス“Yama マウス”の確立と性状解析、また同マウスを用いて従来の欠点を補う新規の疾患マウスモデルの作製である。

好酸球は近年では、サイトカインなどの産生により免疫調節機構や恒常性機能にも関与していることが示唆されているが、不明な点も多い。これまでに遺伝的な原因によると思われる好酸球増多症を示すマウスを発見し、維持している。そこで、本研究では新たな好酸球増多症突然変異マウスの確立とその性状解析、さらに好酸球が関連する疾患でのモデルマウスへの応用の可能性について検討を行った。

第一章では、末梢血中の好酸球が増加した好酸球増多症を示す新規突然変異マウス“Yama マウス”の確立を行った。市販の ICR マウスから偶発的に末梢血中の好酸球数が多い個体を発見し、兄妹交配により近交系マウスを確立した。本マウスは“Yama マウス”と命名され、好酸球増多症を示すことが確認された。6 週齢の Yama マウスにおける末梢血中の好酸球数は ICR マウスの約 30 倍である。また、Yama マウスには明らかな病変は認められなかった。ICR マウスと Yama マウスの骨髄、脾臓、腸間膜リンパ節における IL-5 発現には有意差が認められなかった。Yama マウスにおける好酸球増多症は、IL-5 発現増強以外のメカニズムによることが明らかになった。Yama マウスの好酸球増多因子を解明することで、新たな因子を発見できる可能性がある。

Yama マウスは人為的処置を行わずに好酸球増多症を示し、明らかな病変を形成しない。そこで、好酸球が重要とされるアレルギー性疾患のモデルマウスに用いることができると考え、第

(別紙様式第 10 号)

二章ではアレルギー性皮膚炎 (AD) モデルの作製を試みた。従来の AD モデルでは線維化が軽度であり、重症が見られないという欠点があった。マウスの耳介にジニトロフルオロベンゼンを塗布することにより AD を誘導した。Yama マウスでは既存のモデルマウスと比較して、重度の線維化および高度な好酸球浸潤を伴う AD を示した。線維化に重要なサイトカインを検討したところ、IL-4 産生増加による線維化であることが確認できた。

第三章では慢性腎臓病モデル (CKD) マウスの作製を試みた。慢性腎臓病では尿細管間質線維症が特徴的であり線維化が予後の悪さと相関しているとされている。既存の薬物誘導性 CKD モデルは、人の CKD と同様に BUN とクレアチニンの上昇が認められるが、線維化が軽症であるという欠点があるため、Yama マウスを用いたモデルマウスを作製することで欠点を克服できると考えられた。マウスにアデニンを投与することにより CKD を誘導した。Yama マウスでは、既存のモデルマウスと比較して重度の線維化および高度な好酸球浸潤を伴う CKD が誘導された。血清学的検査において、Yama マウスは既存のモデルマウスより BUM およびクレアチニン濃度が有意に上昇した。線維化および好酸球に関連するサイトカイン発現の分析では、Yama マウスにおいて TGF- $\beta$ 、IL-4、IL-6 の発現が増加した。

これら二つのモデル動物では、線維化に関するサイトカインの発現に違いがあり、疾患ごとに線維化のメカニズムを検討する必要性が示された。

以上の結果により、Yama マウスは好酸球増多症を解析する上で有用なツールとなると考えられた。また、同マウスを用いて従来のモデルマウスに比べてより人の病態に類似した新しい疾患モデルを作製できた。これらの疾患モデルは、AD や CKD の研究に寄与する有用なモデルであると考えられる。

以上により本論文は、博士 (獣医学) の学位論文にふさわしい価値があると認められる。