

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 松浦 寛

哺乳類には生体成分としてキチンは存在しないが、キチン分解酵素であるキチナーゼが存在し、またキチナーゼ以外に、キチナーゼファミリータンパク質として、キチナーゼの触媒部位の酸性アミノ酸残基に変異が生じキチナーゼ活性を失ったキチナーゼ様タンパク質が存在する。キチナーゼ、キチナーゼ様タンパク質ともに、外来抗原に対する曝露機会が多い肺と胃において発現量が高く、それら臓器を標的とする疾患で発現が誘導されることが知られているが、病態時における生理的役割は明らかにされていない。本論文は、マウス、ヒトに共通して発現するキチナーゼ様タンパク質のうち、肺で高い発現が認められる BRP-39 / YKL-40 の呼吸器疾患における生理的役割を解析したもので、序論に続く 3 章より構成されている。

序論で背景を述べた後、第 1 章では BRP-39 の気管支喘息における役割について解析している。BRP-39 は気道上皮細胞や肺胞マクロファージが産生することが示された後、卵白アルブミンによって Th2 炎症反応を惹起したマウス喘息モデルにおいて、野生型マウスに比べ、BRP-39 遺伝子欠損 (BRP-39K0) マウスでは、抗原提示と T 細胞分化に関わる樹状細胞 (CD) の肺への集積およびナイーブ T 細胞の活性化に関わる共刺激分子 CD40/CD86 の発現が減少し、BRP-39 は抗原提示とナイーブ T 細胞活性化に寄与する可能性が示された。また、BRP-39 遺伝子欠損マウスでは、抗原特異的 IgE 産生も抑制されることが示された。さらに、喘息の重症化に関わる Th2 サイトカインである IL-13 を気道上皮細胞に過剰発現させた IL-13TG マウスと BRP-39K0 マウスを交配して IL-13TG/BRP-39K0 マウスを作製し、表現型を IL-13TG マウスと比較したところ、IL-13TG/BRP-39K0 マウスでは、IL-13TG マウスで亢進した肺組織の炎症や線維化が有意に抑制され、BRP-39 は喘息の病態生理において、抗原提示、T 細胞活性化、IgE 産生といったアレルギー性炎症に加え、気道炎症の繰り返しによって起こる構造的変化である気道リモデリングにも寄与する分子であることが明らかとなり、IL-13 のエフェクター機能を担う分子であることが示された。また、IL-13TG/BRP-39K0 マウスでは炎症細胞のアポトーシス亢進が観察され、脾細胞を用いた *in vitro* 試験でも、BRP-39 が抗アポトーシス作用を有する分子であることが示された。

第 2 章では、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) に着目し、たばこ煙を長期間曝露して得られる病態モデルマウスを用いて、BRP-39 の役割を解析している。たばこ煙を長期間曝露した野生型マウスでは、肺胞壁が壊れる結果、平均肺胞径が拡大し、肺気腫を発症するが、BRP-39 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比べて、平均肺胞径がさらに拡大し、肺気腫がより進行することが示された。また、BRP-39 遺伝子欠損マウスでは、アポトーシスの進行が確認され、アポトーシス進行が気腫化の進行を早めることが示された。さらに、たばこ煙を曝露した野生型マウスの肺では気道上皮細胞や、肺胞マクロファージでの BRP-39 の発現が確認され、IL-18 の受容体欠損マウスの肺組織では、BRP-39 の発現が有意に低下する一

方で、BRP-39 遺伝子欠損マウスの肺組織中 IL-18 濃度には変化がないことから、BRP-39 は IL-18 シグナル依存的に産生される分子であることが示された。また、ヒトサンプルを用いた解析で、喫煙者の肺組織中の肺胞マクロファージ、気道上皮細胞において BRP-39 のヒトオルソログである YKL-40 の発現量が増加していることが示され、血清中 YKL-40 量は COPD を罹患していない喫煙者と比較し、COPD を罹患している喫煙者では有意に高いことが示された。

第 3 章では、急性肺障害に着目し、高濃度酸素を曝露して急性肺障害を惹起した病態モデルマウスを用いて、BRP-39 の役割を解析している。BRP-39 遺伝子欠損マウスでは野生型マウスと比較して、高濃度酸素負荷時に肺胞キャピラリー透過性の亢進、肺胞洗浄液中への炎症細胞浸潤、ケモカイン産生亢進と生存率の低下、肺胞 II 型上皮細胞ならびに気道上皮細胞のアポトーシスが亢進することが示された。さらに、気道上皮細胞における BRP-39 の役割を明らかにする目的で、内因性の BRP-39 の影響を排除し、肺の気道上皮細胞においてのみヒト由来の YKL-40 を産生する BRP-39KO/YKL-40TG マウスを作出し、表現型を BRP-39 遺伝子欠損マウスと比較した結果、BRP-39 遺伝子欠損マウスで確認されたいずれの表現型も BRP-39KO/YKL-40TG では回復することが確認され、BRP-39 は、気道上皮細胞において高濃度酸素負荷条件下の酸化障害、DNA 損傷、炎症反応、細胞死に対して保護的な役割を果たしていることが示された。

以上、本論文は、気管支喘息、COPD、急性肺障害について病態モデルマウスを用いて、BRP-39 遺伝子欠損マウスと野生型マウスの病態発症時の表現型の違いから、呼吸器疾患における BRP-39 の生理的役割を明らかにし、患者サンプルにおける YKL-40 の発現解析結果から、BRP-39/ YKL-40 がバイオマーカー候補となることを示したものであり、これらの結果は学術上応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。