

学位論文審査の要旨

申請者は、*in vivo* および *in vitro* 実験系を駆使することにより、酸化植物油の摂取がアレルギー反応を増悪化させる新たな可能性を見出した。以下に本学位論文の審査結果を示す。

近年、気管支喘息や花粉症をはじめとするアレルギー疾患の患者数が急速に増加していることが報告されており、この罹患率増加の要因を解明することは、本疾患の発症とその増悪化の予防対策を講じるうえで極めて重要である。今日までに、酸化植物油の摂取が生体内の酸化ストレスを亢進すること、ならびにアレルギー疾患の増悪化には酸化ストレスが関与することが報告されてはいるものの、アレルギー疾患罹患率の増加要因としての酸化植物油の摂取と、アレルギー疾患との関連性やその作用機序の解明に関する報告例については、皆無に等しいのが現状であった。本研究では、我々が日常的に食事から摂取する可能性が高い酸化油脂が有するアレルギー反応への影響と作用機序の解明を試みた。

まず、申請者は酸化植物油の摂取がアレルギー反応を増悪化させるか否かについて、遅延型のアレルギー反応を示す接触性過敏反応 (**contact hypersensitivity: CHS**)、即時型のアレルギー反応を示す能動皮膚アナフィラキシー (**active cutaneous anaphylaxis: ACA**) および即時型と遅延型の二相性のアレルギー反応を示すジニトロフルオロベンゼン (**DNFB**) 誘発性皮膚のマウスモデルを用いて検討した。用いた酸化植物油は、オリーブ油を長期間、室温で自然酸化させることにより、ヒドロペルオキシド量の指標となる過酸化値 (**peroxide value: POV**) が高値を示すものを試料とし、上記 3 種のアレルギー反応の評価を試みた。その結果、いずれのアレルギー反応も酸化オリーブ油によって増悪化されることが認められた。加えてアレルギー反応の増悪化に関与する酸化植物油中の成分を明らかにするために、POV 以外にも、遊離脂肪酸量およびアルデヒド量のそれぞれの指標となる酸価およびチオバルビツール酸価が高値を示すオリーブ油を調製して検討したほか、オリーブ油とは脂肪酸組成が異なる他の植物油についても、CHS に及ぼす影響について検討を行った。その結果、酸化植物油による CHS の増悪化には、主にヒドロペルオキシドが関与している可能性が極めて高く、一方、遊離脂肪酸、アルデヒド類、脂肪酸組成の差異などの関与は低いことが推察された。

次に、申請者は酸化オリーブ油による CHS 増悪化の作用機序を明らかにするために、CHS の感作相および惹起相の炎症性サイトカイン発現に及ぼす酸化オリーブ油の影響について検討を行った。その結果、酸化オリーブ油投与群および対象群

の感作相における IL-12 および IL-18 発現量は共に、経日的な上昇が観察され、その後感作 7 日目に、酸化オリーブ油投与群で IL-18 のみに有意な発現量の増加が観察された。次に、CHS の惹起相に及ぼす酸化オリーブ油の影響を検討したところ、酸化オリーブ油投与群では惹起を行う前から、IL-18 発現量の増加と惹起後の IFN- γ の増加に加え、耳介腫脹の亢進が認められた。従って、酸化オリーブ油は、CHS 感作相において IL-18 発現の増加を介して IL-12 による Th1 分化を促進させると共に、惹起相における IFN- γ の産生量を亢進することによって、結果として耳介腫脹を亢進させているものと推察した。

最後に、申請者は酸化オリーブ油による IL-18 発現量増大の作用機序の解明に加え、この増加した IL-18 による T 細胞亜集団分布の変化を検討した。まず、脾臓細胞中の IL-18 の転写因子である AP-1 および IL-18 のプロセシング酵素である caspase-1 の両活性を測定したところ、いずれの活性も酸化オリーブ油による増加が認められた。次に、酸化オリーブ油は CHS の感作相において、血中およびリンパ節中の IL-18 発現を増加させることで、IL-12 存在下での T 細胞の分化・増殖の亢進が起こり、それに伴いヘルパー T 細胞および細胞障害性 T 細胞のいずれの T 細胞数も増加させていた。また、ヘルパー T 細胞の Th1/Th2 バランスを調べたところ、酸化オリーブ油投与群で Th1 への偏向傾向が認められた。さらに、抗原刺激によるヘルパー T 細胞の IFN- γ 産生は、酸化オリーブ油の投与によって増加したことから、酸化オリーブ油は抗原特異的なヘルパー T 細胞の分化・増殖を促進させ、CHS 惹起時における抗原刺激による IFN- γ の産生を促進するものと考察した。

以上の結果を総合すると、本研究では、摂取した酸化オリーブ油は、リンパ管を介して吸収後、感作相における抗原提示細胞中で AP-1 および caspase-1 の活性化によって、耳介中の IL-18 産生量を増加させることが示唆された。この増加した IL-18 は、IL-12 によるナイーブ T 細胞から Th1 への分化および増殖を促進し、抗原特異的な Th1 を増加させることにより、惹起時の抗原刺激による IFN- γ 産生もまた亢進させることで、CHS を増悪化させることが明らかとなった。

本研究では、アレルギー反応の増悪化因子としての酸化油脂摂取といった環境要因によって、実際にアレルギー反応が増悪化すること、その増悪化は IL-18 が増大し、抗原特異的な Th1 応答を促進することによって起こることを初めて明らかにした。本研究成果はアレルギー疾患の発症および増悪化の原因解明に貢献すると共に、感作相での IL-18 発現量の増加がアレルギー症状を増悪化させることから、将来 IL-18 を指標としたアレルギー疾患の早期発見や増悪化の予防対策に繋がることが期待される。

以上の観点から、本論文は博士（薬学）の学位論文として十分に相応しいものと認定した。