

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
紀本有実子	主査 教授 竹 中 洋
	主査 教授 窪 田 隆 裕
	副査 教授 田 窪 孝 行
	副査 教授 佐 野 浩 一
	副査 教授 玉 井 浩
主論文題名 Essential Role of Monocytes in the <i>in vitro</i> Production of IL-4 and Nonspecific IgE Antibody by Peripheral Blood Lymphocytes from Mice Sensitized <i>s.c.</i> Once with Cedar Pollen (スギ花粉抗原で1回皮下感作したマウスの末梢血リンパ球による <i>in vitro</i> での非特異的 IgE と IL-4 の産生には、単球が必須である)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>花粉症の発症とスギ花粉特異的 IgE 抗体産生が良く相関しているが、その前に生体で生じる total IgE 産生のメカニズムなど不明な点が多い。申請者の研究目的は、スギ花粉抗原に曝露された後の初期生体反応を明らかにすることである。</p> <p>《方 法》</p> <p>6～7 週齢雄の BALB/c 野生型マウス、BALB/c IFN-γ $-/-$ と BALB/c IL-4 $-/-$ にスギ花粉抗原を腹腔内、尾静脈内、鼻粘膜内または皮下に投与した。1次刺激後 7、10、14 日後に採血し、2次刺激では1次刺激後 14 日に抗原を皮下投与し 7 日後に採血した。半数のマウスから血清を得、残りのマウスから末梢血単核細胞 (PBMC) を採取した。後者は、さらに、パーコール密度勾配遠心とセルソーターで、単球群、リンパ球群、顆粒球群等に分け、これをさまざまな組み合わせで培養し、培養液中の total IgE およびスギ花粉特異的 IgE、IL-4 および IFN-γ 量を ELISA 法により定量した。</p> <p>《結 果》</p> <p>(1) IFN-γ $-/-$ マウスにおいて、腹腔内投与 10 日目に IgE が上昇し、また 2 次刺激後には、4 種類の投与経路で IgE が著明に上昇し、その程度は、野生型マウスとほぼ同様であった。したがって、血清中の IgE 産生機構には、IFN-γ は関与しないと考えられた。</p> <p>(2) IL-4 $-/-$ マウスにおいては、いずれの投与経路においても、1 次刺激 2 次刺激を通じて、血清中に total およびスギ花粉特異的 IgE はほとんど検出されず、IL-4 は IgE 産生に必須であった。</p> <p>(3) スギ花粉抗原で 1 回皮下感作後 PBMC を採取し、パーコール密度勾配遠心等で細胞群に分け、それらを種々の組み合わせで培養した場合、1 次刺激後 14 日では単球群とリンパ球群を合わせて培養した場合にのみ、培養液中の total IgE 量が増加した。2 次刺激後 7 日では、リンパ球群さえあれば培養液中の total IgE 量が増加した。</p> <p>(4) IFN-γ は無感作マウスでは主にリンパ球群から産生され、スギ花粉で 1 回感作されたマウスでは無感作群の約 10 分の 1 に低下し、2 回感作では約 100 分の 1 になった。また、1 回感作マウスの総 PBMC からは多量の IL-4 が検出されたが、リンパ球群のみでは検出されず、単球群とリンパ球群を組</p>	

み合わせると、多量の IL-4 が分泌された。2 回感作マウスでは IL-4 値は無感作とほぼ同レベルに戻った。

《考 察》

今回申請者は、アジュバントを使わずにスギ花粉を 4 種類の経路(腹腔内、尾静脈、鼻腔粘膜あるいは皮下)で、野生型マウス、IFN- γ -/- と IL-4 -/- に投与した。その結果、野生型および IFN- γ -/- マウスでのみ血清 total IgE が上昇し、IL-4 -/- マウスでは、いずれの経路においても、1 次および 2 次刺激後、IgE はほとんど検出されなかった。すなわち、total IgE 産生に IL-4 が必須であることを意味している。そこで、どの細胞群が、IgE のクラススイッチと IgE 産生に必須な IL-4 の産生に関与するかを検討するために、PBMC を採取し、パーコール密度勾配遠心とセルソーターによって、単球・リンパ球・顆粒球に分け、これらをさまざまに組み合わせて培養し、培養液中のサイトカインと total IgE 量を定量した。その結果、スギ花粉抗原で 1 回皮下感作されたマウス由来の PBMC をスギ花粉存在下に培養すると、IL-4 と total IgE 抗体が産生されたが、リンパ球のみでは産生されなかった。しかし、リンパ球に単球群を加えると、IL-4 と total IgE 抗体が産生されることがわかった。これらの結果より、初期間感作時の IL-4 と total IgE 抗体産生に単球が必須であることが示唆された。つまり、①単球が、抗原の自己非自己を識別している、あるいは IgM から IgE へのクラススイッチに関与している可能性がある。②単球がリンパ球から IL-4 の放出を刺激するような、何らかのサイトカインを分泌しているかもしれない。

また、IFN- γ は、B 細胞に対する IL-4 の役割と拮抗するという報告や、両者は、アレルギーへの関与の時期が異なるという報告もある。今回の我々の実験では、IFN- γ -/- マウスにおいて、腹腔内投与 10 日後に total IgE の上昇が見られ、また 2 次刺激後にはいずれの投与経路でも野生型と同様な上昇がみられたことから、IFN- γ は total IgE 産生にはほとんど関与しないと考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	紀 本 有 実 子
論文審査担当者		主 査 教 授 竹 中 洋	
		副 査 教 授 窪 田 隆 裕	
		副 査 教 授 田 窪 孝 行	
		副 査 教 授 佐 野 浩 一	
		副 査 教 授 玉 井 浩	
主論文題名			
<p>Essential Role of Monocytes in the <i>in vitro</i> Production of IL-4 and Nonspecific IgE Antibody by Peripheral Blood Lymphocytes from Mice Sensitized <i>s.c.</i> Once with Cedar Pollen (スギ花粉抗原で1回皮下感作したマウスの末梢血リンパ球による <i>in vitro</i> での非特異的 IgE と IL-4 の産生には、単球が必須である)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>花粉症の発症とスギ花粉特異的 IgE 抗体産生が良く相関している。しかし、スギ花粉抗原に曝露された後の初期の生体反応は明らかではない。申請者は、野生型マウス、BALB/c IFN-γ -/-と BALB/c IL-4 -/-にスギ花粉抗原を腹腔内、尾静脈内、鼻粘膜内または皮下に投与し、7、10、14 日後に採血した。2次刺激では、1次刺激後14日目に抗原を皮下投与し7日後に採血した。半数のマウスからは血清を得、残りのマウスからは末梢血単核細胞(PBMC)を採取し、後者は、さらに、パーコール密度勾配遠心法やセルソーターで、単球群、リンパ球群、顆粒球群等に分け、さまざまに組み合わせて培養し、培養液中の total およびスギ花粉特異的 IgE、IL-4 および IFN-γ 量を ELISA 法により定量した。その結果、</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) IFN-γ -/-マウスにおいて、腹腔内投与10日目に total IgE が上昇した。また2次刺激後には、4種類の投与経路で total IgE が著明に上昇し、その程度は、野生型マウスとほぼ同様であった。 2) IL-4 -/-マウスにおいては、いずれの投与経路においても、1次および2次刺激後、血清中に total およびスギ花粉特異的 IgE はほとんど検出されなかった。 3) スギ花粉抗原で1回皮下感作後 PBMC を採取し、細胞群に分け、それらを種々の組み合わせで培養した場合、1次刺激では単球群とリンパ球群を合わせて培養した場合にのみ、培養液中の total IgE 量が増加した。2次刺激では、リンパ球があれば培養液中の total IgE 量が増加した。 4) IFN-γ は無感作マウスでは主にリンパ球群から産生され、スギ花粉で1回感作されたマウスでは無感作群の約10分の1に、2回感作後約100分の1に低下した。また、1回感作マウスの PBMC から多量の IL-4 が検出されたが、リンパ球群のみでは認められず、単球群とリンパ球群を組み合わせると、多量の IL-4 が検出された。2回感作マウスでは IL-4 値は無感作とほぼ同レベルに戻った。 <p>これらの結果より、初期感作時の IL-4 と total IgE 産生がスギ花粉特異的 IgE の産生に先行し、それらの産生には単球が必須であることが示唆された。すなわち、単球が、抗原の自己非自己を識別している、あるいは IgM から IgE へのクラススイッチに関与している可能性を示唆しており、本研究は、アレルギー疾患の病因解明と新しい治療法の開発のために非常に重要である。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p>			

(主論文公表誌)

Journal of Interferon and Cytokine Research 27(12): 1019-1029 , 2007