



Title	ハプテン結合表皮細胞由來の分子を組み込んだリポソームによる接触過敏症の誘導と抑制
Author(s)	横関, 博雄
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35234
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	よこ	ぜき	ひろ	お
学位の種類	横	関	博	雄
学位記番号	医	学	博	士
学位授与の日付	第	7229	号	
学位授与の要件	昭和61年3月25日			
学位研究科	医学研究科	内科系専攻		
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ハプテン結合表皮細胞由來の分子を組み込んだリポソームによる 接触過敏症の誘導と抑制			
論文審査委員	(主査)	教 授 吉川 邦彦		
	(副査)	教 授 岸本 忠三 教 授 濱岡 利之		

論文内容の要旨

(目的)

接触過敏症は、ハプテン塗布あるいはハプテン結合細胞の皮下注射によって誘導される。しかし、これらの方針を用いる場合、抗原と免疫担当細胞との間におこる反応を解析するためには、余りにも多くの問題点が内蔵されている。そこで、より単純化されたモデル抗原系として、リポソームをハプテンが結合する細胞の代用として用い、ハプテン結合表皮細胞から得た界面活性剤可溶性タンパク質を組み込んだリポソームを作製し、マウス接触過敏症における表皮細胞膜タンパクの役割を解析する。特に、正常表皮においては、Langerhans細胞表面上にのみ存在し、接触過敏症の誘導に重要な役割を果すと考えられているIa抗原の、接触過敏症における役割解明を試みる。

(方法ならびに成績)

(方法) 1. TNP結合表皮細胞抽出物の調製

BALB/cマウス尾皮膚をトリプシン処理し、表皮細胞を得た。 3×10^7 個表皮細胞を、10mMトリニトロベンゼンスルフォン酸ソーダを用いて、TNP化表皮細胞を調製した。十分洗浄後、 1×10^7 個のTNP化表皮細胞に、0.5%デオキシコール酸液を1mℓ加え、室温で30分間かくはんし、その後3000 rpm、40分間遠心沈殿を行い、上清をTNP結合表皮細胞抽出物としてリポソームに組み込んだ。

2. リポソームの調製

卵黄レミチン $100 \mu\text{g} / 100 \mu\text{l}$ 、コレステロール $50 \mu\text{g} / 50 \mu\text{l}$ 、オクチルグルコシド $400 \mu\text{g} / 200 \mu\text{l}$ を $10 \text{m}\ell$ 梨型フラスコに入れて混和し、これにクロロホルムを加えて総量 $1 \text{m}\ell$ としたのち、ロータリーエバポレーターで溶媒を蒸散させて、フラスコ壁にうすい膜を形成した。梨型フラスコに蛋白量10

$\mu\text{g}/\text{m}\ell$ のTNP化表皮細胞抽出物を $1\text{m}\ell$ 添加し, ボルテックスミキサーで混和した。混和した液を透析チューブに移し, リン酸緩衝食塩水 (PBS) で3日間透析した。

3. リポソームによる免疫

BALB/cマウス背部皮下, 腹腔内, 静脈内に総量 $0.2\text{m}\ell$ のPBSに浮遊した種々の濃度のリポソームを注射した。注射後6日目に $20\mu\ell$ の1%TNCBを耳介に塗布し, 塗布24時間後に耳介腫脹を計測した。(成績) $200\mu\text{g}$ のリポソーム (リン脂質で表現) を皮下注射した場合に, 最も強い接触過敏症を誘導し得た。この接触過敏症は, 1%トリニトロクロロベンゼン (TNCB) 耳介塗布24~48時間後に, 耳介腫脹のピークを示す反応で, 局所に多数のリンパ球を主体とする单核球の浸潤を示す反応であった。又, この接触過敏症は, 抗原特異性を認め, 免疫後6日目をピークとし, 14日目まで耳介腫脹を起こし得る反応であった。リポソームの投与経路による感作の違いを検討したが, 接触過敏症は, リポソームの皮下注射, 腹腔内注射によってのみ誘導でき, 静脈内注射では誘導できなかった。さらに, リポソーム皮下投与6日後のリンパ節細胞, 脾細胞を調整し, 5×10^7 個を正常マウスに静注し同時に, $20\mu\ell$ の1%TNCBを耳介に塗布し, 耳介腫脹を測定することにより, リポソームによる接触過敏症の受動転嫁を試みた所, 転嫁し得た。また転嫁時に, 転嫁細胞を抗Thy 1, 2 抗体と補体で処理した所, 転嫁し得なかったことより, このリポソームによる接触過敏症は, T細胞が関与した反応であると考えられた。次に, 表皮細胞を, A.TH anti-A.TL血清 (抗Ia抗体) と補体で処理したのち, TNP化し, 可溶化後, リポソームに組み込み正常マウスに皮下投与した。このリポソーム (Ia-リポソーム) の皮下注射によっては, 接触過敏症を誘導し得ないばかりでなく, リポソーム投与6日後に7%TNCBを塗布し, 経皮的に再感作を試みたが, 接触過敏症を誘導できなかった。このことより, Ia-リポソームの投与によって, 免疫抑制が誘導されたと考えられた。Ia-リポソームの皮下投与による免疫抑制の可能性を明らかにするため, 受動転嫁を行った。この免疫抑制は受動転嫁可能であり, 転嫁細胞を抗Thy 1, 2 抗体と補体で処理することにより転嫁不能となったことから, Ia-リポソーム投与によりサプレッサーT細胞が誘導されたと考えられた。

(総括)

1. ハプテン結合表皮細胞から得た界面活性剤可溶性タンパク質を組み込んだリポソームを正常マウスに皮下投与することにより, 接触過敏症を誘導し得た。この接触過敏症はハプテン特異性をもちT細胞により受動転嫁可能な反応で, ハプテン結合表皮細胞によって誘導された接触過敏症と同様長期にわたって過敏状態を持続出来る反応であった。
2. 表皮細胞を抗Ia血清と補体で処理し, Ia抗原除去したハプテン結合表皮細胞抽出物をリポソームに組み込み正常マウスに皮下投与した所, 接触過敏症を誘導せず, 免疫抑制を誘導した。
3. 表皮細胞上のIa抗原は, 接触過敏症の誘導, 抑制において, 正負のシグナルとしての役割を果すと考えられる。

論文の審査結果の要旨

アレルギー性接触性皮膚炎は、皮膚科の臨床において最もポピュラーな疾患の一つであるだけでなく、免疫学的に遅延型アレルギー反応のモデル疾患としても重要である。しかしその機序の詳細は、未だ完全には解明されていない。本研究は抗原物質を組み込んだリポソームを用いて反応を誘導、抑制したものであり、接触過敏症における、表皮細胞膜タンパク質、特にIa抗原の役割を解明すると同時に今後の接触アレルギー反応解析に有用な実験系を確立した点で意義があり、学位論文として十分価値を有するものであると認められる。