Osaka University Knowledge Archive

Title	Immunopharmacological actions of an extract isolated from inflamed skin of rabbits inoculated with Vaccinia virus (NeurotropinTM) —II . Restorative effect on immune responses through the recovery of IL-2 production In aging mice
Author(s)	吉井, 春夫
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37479
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【55】

氏名・(本籍)	吉井春夫（よしいはるお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9314 号
学位授与の日付	平成2年8月8日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Immunopharmacological actions of an extract isolated from inflamed skin of rabbits inoculated with Vaccinia virus (Neurotropin™) —II. Restorative effect on immune responses through the recovery of IL-2 production in aging mice （ワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚組織抽出物（ノイロトロピン™）の免疫薬理学的作用－Ⅱ．ＩＬ－２産生の回復を介する老齢マウスの免疫低下に対する回復作用）
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之 (副査) 教授 平野 俊夫　教授 大河内寿一

論文内容の要旨

〔目　的〕

老化に伴い免疫能，特にＴ細胞性免疫能が低下することはよく知られている。加齢に伴い高発する感染症，自己免疫疾患，又は癌の発症の一因はこうした免疫能の低下によるものと考えられている。従って，老化に伴う免疫低下の回復は加齢に伴い高発するこれら疾患の発症阻止につながる可能性が考えられる。一方，鎮痛・抗アレルギー薬として臨床的に使用されているワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚組織抽出物（ノイロトロピン）は，近年ＡＩＤＳ関連疾患（ＡＲＣ）等の免疫不全にも有効性を示し，また実験動物においてもＴ細胞を介する免疫調節作用が明らかにされている。本論文ではノイロトロピンが老化に伴うＴ細胞性免疫の低下を回復するかどうかをＢＡＬＢ／ｃマウスをモデルに検討した。

〔方　法〕

1）動物；2カ月齢及び１２カ月齢の雌性ＢＡＬＢ／ｃマウスを静岡実験動物農業協同組合より購入した。2）遅延型過敏（ＤＴＨ）反応；左足蹠に羊赤血球（ＳＲＢＣ）1×10^7個を注射後，４日目に1×10^8個の同抗原を右足蹠に注射し，２４時間後の両足蹠の腫脹の差を反応強度とした。3）抗体産生細胞（ＰＦＣ）数の測定；2×10^8個のＳＲＢＣを静脈内に免疫後，４日目に脾臓中の抗ＳＲＢＣ－ＰＦＣをCunninghamらの方法に従って測定した。4）マイトジェン反応；脾細胞5×10^5個／0.2mlに終濃度2 μg/mlのＣｏｎＡ，２０μg/mlのＰＨＡあるいは２０μg/mlのＬＰＳをそれぞれ添加し７２

時間培養した。培養終了8時間前に^{3}H－ thymidine （^{3}H－TdR）を加え細胞内に取り込まれた放射活性を測定した。5）ＩＬ－2産生能及びＩＬ－2に対する反応性；1×10^{7}個／2.0mlの脾細胞に終濃度2μg/mlのCon Aを添加し20時間培養後，上清のＩＬ－2活性を測定した。一方，ＩＬ－2に対する反応性は回収細胞1×10^{5}個／0.2mlにrecombinantマウスＩＬ－2（r－ＩＬ－2）終濃度50 units/ml を添加し，更に22時間培養（4時間パルス）後，細胞内に取り込まれた^{3}H－TdRの放射活性を測定した。6）ＩＬ－2活性；5×10^{3}個のＩＬ－2依存性マウスＴ細胞株HL－1細胞への^{3}H－TdR（24時間培養，4時間パルス）の取り込み量により測定した。7）ＩＬ－1産生能；チオグリコレート誘導腹腔浸出細胞（2×10^{6}個）からプラスチックディッシュ付着細胞を分離し，これに終濃度20μg/ml のＬＰＳを添加し24時間培養後，上清のＩＬ－1活性を測定した。8）ＩＬ－1活性；ＢＡＬＢ／ｃマウスの胸腺細胞（1.5×10^{6}個，20μg/mlPHA)に対するco-stimulator活性として測定した。

〔結　果〕

1）各月齢マウスの免疫能のモニタリング；先ず，6，9，12，16及び19カ月齢のＢＡＬＢ／ｃマウスの免疫能をＰＦＣ反応及びＤＴＨ反応を指標に調べた結果，ＰＦＣ反応は12カ月齢で既に若齢（2カ月齢）に比して60％に低下しており16カ月齢では25％まで低下したが，19カ月齢では更なる低下は認められなかった。一方，ＤＴＨ反応は12カ月齢では若齢レベルを維持したが，16カ月齢では約50％，19カ月齢では20％に低下した。2）ＰＦＣ及びＤＴＨ反応に及ぼすノイロトロピンの長期投与の影響；若齢の2カ月齢，免疫能が低下し始める13カ月齢及び免疫低下が明確な16カ月齢より3カ月間，生理食塩水又は10及び20mg／kg／dayのノイロトロピンを週に3回腹腔内に投与した。ノイロトロピンは2カ月齢からの投与では両反応に有意な影響を及ぼさなかったが，13カ月齢及び16カ月齢からの投与（10mg／kg／day）でＤＴＨ反応を有意に回復した。同様の傾向は20mg/kg/dayでも認められた。一方，10mg／kg／day のノイロトロピンは13カ月齢からの投与でＰＦＣ反応を有意に回復したが，16カ月齢からの投与ではその作用は認められなかった。3）回復メカニズムの解析；13カ月齢からの3カ月間投与の系で各種免疫パラメータに及ぼす影響を検討した結果，10mg／kg／dayのノイロトロピンはＴ細胞マイトジェン（Con A及びＰＨＡ）反応及びＩＬ－2産生能の低下を回復したが，有意な低下が認められなかったＬＰＳ反応及びＩＬ－2に対する反応性に対しては影響を与えなかった。また，マクロファージのＩＬ－1産生能の低下に対しても20mg／kg／day で有意な回復作用を示した。

〔総　括〕

以上の結果より，ノイロトロピンは加齢に伴う免疫低下，特にＴ細胞機能を主にＩＬ－2産生能の低下の抑制を介して，回復することが示唆された。従って，ノイロトロピンは老化による免疫低下の回復を介して，加齢に伴い高発する感染症，自己免疫疾患あるいは癌の発症を阻止できる可能性が考えられる。

論文審査の結果の要旨

老化に伴い免疫能，特にＴ細胞性免疫能が低下することはよく知られている。こうしたＴ細胞性免疫の低下にＩＬ－２産生能の低下が重要な役割を果たしていることが示唆されている。本論文では鎮痛・抗アレルギー薬として臨床的に使用されているワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚組織抽出物（ノイロトロピン）が老化に伴い低下する免疫能に如何なる影響を与えるかを検討した。その結果，ノイロトロピンは免疫能が低下し始める時期からのＢＡＬＢ／ｃマウスへの投与で *in vivo* のＴ細胞性免疫反応の低下を有意に回復することが明らかになった。更に，そのメカニズムを解析した結果，ＩＬ－２産生能の低下を著明に回復することによりＴ細胞の増殖反応性低下を阻止し，老化に伴うＴ細胞性免疫反応を回復することが判明した。以上のことから本論文は既に臨床応用され安全性が確認されているノイロトロピンがＩＬ－２産生の回復を介して老化免疫を制御する可能性を示唆した点で学位論文に値すると思われる。