



Title	The absence of IgE antibody-mediated augmentation of immune responses in CD23-deficient mice
Author(s)	藤原, 弘士
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39650">https://hdl.handle.net/11094/39650</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	藤 原 弘 士
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 2 0 0 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 5 月 16 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	The absence of IgE antibody-mediated augmentation of immune responses in CD23-deficient mice (CD23欠損マウスにおけるIgE抗体による免疫反応の増強効果の欠如)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岸本 忠三 (副査) 教 授 濱岡 利之 教 授 北村 幸彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 【 目 的 】

CD23 (Fc  $\epsilon$  RII) 及びその可溶性分子の機能としては、IgE抗体産生の調節、IgE抗体依存性の抗原提示や細胞障害、B細胞の増殖誘導、胚中心性B細胞のアポトーシスの抑制、胸腺細胞の分化等、実に多彩な機能が提唱されてきた。今回我々は、これらのうちの何れがCD23の生体内における真の機能あるいは重要な機能であるのかを明らかにするため、CD23欠損マウス作製しその解析を行なった。

## 【 方法ならびに成績 】

- 1) CD23欠損マウスの作製：ターゲッティングベクターの作製は、CD23染色体遺伝子のエクソン2, 3, 4を含む約4.1kbの断片を使用し、エクソン4にネオマイシン耐性遺伝子を挿入、5'側にHSV-TK遺伝子を連結して行った。ES細胞 (E14-1) にこの遺伝子を導入し、G418とgancyclovirによる positive and negative selection の結果相同期組み換えを起こした6個のES cloneを単離した。このうちの3個において germline transmission が確認され、これらを用いてCD23欠損マウスを作製した。
- 2) リンパ球の分化：CD23欠損マウスにおいて脾臓、リンパ節、骨髓、末梢血のリンパ球のCD23, IgM, IgD, CD21, B220, CD4, CD8, CD3, Thy1.2, T-cell receptor  $\alpha\beta$ , IL-2 receptor  $\alpha$  chainなどの各種表面抗原の発現をFACSで解析したが、CD23の欠失以外何ら正常マウスのものと変わらなかった。また、非免疫時の各クラスの血清抗体価も両者で差は認められなかった。
- 3) B細胞増殖活性：in vitro で脾臓の small resting B細胞を抗IgM抗体やIL-4, LPSで刺激したときの増殖能に変化は認められなかった。
- 4) 抗体産生能 (a) *Nippostrongylus brasiliensis* (Nb) 感染：マウスにNbを感染させ血清IgE値を測定したが、正常マウスとCD23欠損マウスにおいて差は認められなかった。(b) 胸線依存性抗原での免疫時の抗体産生：Dinitrophenylovalbumin (DNP-OA) 抗原をCFAや水酸化アルミニウムゲルをアジュバントとして用いマウスを免疫し、抗原特異的な各クラスの抗体価を測定してみたが、IgEクラスを含む全てのクラスにおいて両者に差は

認められなかった。

- 5) 胚中心形成 : DNP - OA 抗原で免疫したマウスの脾臓切片を peanut agglutinin, 抗IgM抗体, 抗thy1.2抗体を用い免疫組織染色を行なったがCD23欠損マウスの胚中心形成には変化は認められなかった。
- 6) IgE抗体依存性の抗原特異的抗体産生の増強 : DNP特異的なモノクローナルIgE抗体を40  $\mu$ g静注, その1時間後に, DNP - OA抗原20  $\mu$ gをさらに静注し, そしてその3週間後にOA特異的な抗体価(IgG1クラス)を測定した。正常マウスにおいてはDNP - OA抗原を静注するのみでは抗体は検出されなかったが, あらかじめDNP特異的なIgE抗体を静注しておくと有意な抗体価が得られた。一方CD23欠損マウスにおいてはDNP特異的なIgE抗体を静注しておいてもOA特異的な抗体価は検出できなかった。これは抗原 - IgE複合体をCD23が取り込んだ結果その抗原がT細胞に効率よく提示されているためと考えられる。これらより, CD23はIgE抗体依存性の抗原特異的抗体産生の増強に必須な分子であるとわかった。

#### 【総括】

以上, これまで主として *in vitro* でCD23に関して提唱してきた多くの機能はCD23欠損マウスでは認められなかった。これはマウスとヒトの種差のためなのか, 生体内では他の分子によって代償されているためなのか, あるいはかって *in vitro* でCD23に関して提唱してきたいくつかの機能は生体内での真の機能を反映したものではなかったためなのかもしれない。しかしながらCD23の本質的な機能がIgE抗体依存性の抗原特異的抗体産生の増強であることがCD23欠損マウスにおいて確認された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は成熟B細胞, 樹状突起細胞, そして少なくともヒトではマクロファージ上にも発現するII型の膜貫通型糖蛋白であるCD23 (Fc  $\epsilon$  RII : 低親和性のIgE受容体) の生体内での機能を明らかにするため, マウス胚性幹細胞を用いたジーンターゲッティング法によるCD23欠損マウスの作製とその解析を行ったものである。

これまでこのCD23及びその可溶性分子の機能として, IgE抗体産生の調節, IgE抗体依存性の抗原提示や細胞障害, B細胞の増殖誘導, 胚中心性B細胞のアポトーシスの抑制, 胸線細胞の分化等, 実に多彩な機能提唱してきた。しかしながら, これらのうちのいずれが生体内における真の機能あるいは重要な機能であるのかは明らかではなかった。

そこで本研究において, その本質的な機能を解明すべくCD23欠損マウスが作製され解析が行われた。その結果多くの予想に反しこのマウスは正常のリンパ球分化を示し, B細胞増殖能や Germinal center 形成も障害されることとはなかった。またCD23欠損マウスにおいて *Nippostrongylus brasiliensis* 感染時のIgE産生も変化を認めず, Freund's adjuvant や alum をアジュvantとして用いたときの胸腺依存性抗原に対する抗体産生もIgEクラスを含む全てのクラスにおいて障害されることとはなかった。しかしながら, CD23欠損マウスにおいてはIgE抗体による抗原特異的抗体産生の増強効果が欠如しており, この機能に関してはCD23は必須の分子であることが明らかとなった。

以上, 本研究はCD23の生体内での機能についての重要な知見を多く含んでおり, 非常に意義深いものである。よって本研究は学位の授与に十分であると考えられる。