



Title	実験的大腸炎に対する免疫グロブリン療法の治療効果 および免疫学的作用機序の研究
Author(s)	新谷, 奈保子
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40883">https://hdl.handle.net/11094/40883</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	新 谷 奈 保 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 5 3 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 2 月 18 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	実験的大腸炎に対する免疫グロブリン療法の治療効果および免疫学的作用機序の研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 真弓 忠範 (副査) 教 授 馬場 明道 教 授 山元 弘 教 授 溝口 正

## 論 文 内 容 の 要 旨

免疫グロブリン ( $\gamma$ -グロブリン) 製剤は、ヒト血漿成分から分離した免疫グロブリン G (IgG) 分画を濃縮したものであり、従来低  $\gamma$ -グロブリン血症に対する補充療法として臨床応用されていた。しかし、自己免疫疾患の一つである特発性血小板減少性紫斑病に対する免疫グロブリン大量療法の有効性が報告されて以来、免疫調整剤としての作用が注目されるようになった。これまでに、免疫異常が関与していると考えられている全身性エリテマトーデスや川崎病など様々な疾患に対して免疫グロブリン大量療法が試みられ、有効性が報告されている。しかしながら、これらの疾患に対し、免疫グロブリンがどのような機序で作用するのかはまだ明らかにされていない部分が多い。潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis ; UC) は主として大腸粘膜が侵される原因不明の炎症性腸疾患である。治療としては、サラゾスルファピリジン (サラゾピリン)、副腎皮質ステロイド剤などが用いられてきたが、これらの薬剤で本症の治療を行っても、抵抗性を示す症例が存在する。近年、UC 患者に対し、免疫グロブリン療法が試みられ、抵抗性の患者においても有効例が認められることが報告されている。しかし、他の疾患と同様に免疫グロブリンの UC に対する作用機序は明らかでない。そこで本研究では、実験的大腸炎を用いて免疫グロブリン療法の有効性を確立し、その作用機序について免疫学的側面から検討を行った。

実験的大腸炎の一つであり、UC と類似した病変が認められる DSS 誘発ラット大腸炎モデルを用いて、IgG の治療効果、その際の大腸粘膜局所での炎症性サイトカイン産生および免疫担当細胞の動態に対する効果を検討した。その結果、同種 (ラット) IgG は、血便の発生および潰瘍の形成を有意に抑制した。このことより、免疫グロブリン療法は DSS 大腸炎において有効であることが明らかになった。また、大腸炎モデル大腸粘膜局所において、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  産生の上昇が認められたが、同種 IgG はこれら炎症性サイトカインの大腸粘膜局所での産生を抑制する傾向を示した。さらに、同種 IgG は大腸粘膜における免疫担当細胞の増加を抑制した。これらの抑制は、異種 (ヒト) IgG では認められなかったが、*in vitro* でのラット大腸粘膜固有層単核細胞を用いた検討では、同種、異種 (ヒト) IgG とともにサイトカイン産生を抑制した。以上のことより、IgG は免疫担当細胞の大腸粘膜での増加を抑制し、その結果として、それらの細胞から産生される炎症性サイトカインの低下が認められたのではないかと考えられた。

さらに詳しく、IgG の作用機序を検討するためには、免疫担当細胞の大腸粘膜での増加を、IgG がどのような機序で抑制するのか検討する必要がある。そこで DSS 大腸炎ではどのように免疫担当細胞が増加するのかを知るために、DSS 大腸炎の発症メカニズムについて検討を行った。その結果、DSS を取り込んだマクロファージが DSS 大腸炎マウス由来の T 細胞を活性化すること、またこれらの T 細胞は IL-2 および IFN- $\gamma$  を産生することが明らかになった。さらに DSS を取り込ませたマクロファージで prime した DSS 大腸炎マウス由来の T 細胞を正常マウスに移入し、DSS を投与すると、DSS のみを投与したマウスと比較して、便潜血度の上昇および生存率の低下が認められた。また、この作用は CD4<sup>+</sup> T 細胞を除去して移入したとき、認められなくなった。これらのことより、DSS 大腸炎の発症/増悪には CD4<sup>+</sup> (ヘルパー) T 細胞が関与していると考えられた。

最後に IgG の作用機序の検討として、DSS を取り込んだマクロファージによる T 細胞の活性化に対する作用を検討した。その結果、同種 IgG は用量依存的に T 細胞の活性化を抑制したが、異種 IgG は抑制効果を示さなかった。また、同種 IgG の F(ab')<sub>2</sub> フラグメントは、有意差はなかったものの、インタクト IgG と同様に T 細胞の活性化を抑制する傾向を示したが、Fc フラグメントは、逆に T 細胞を活性化した。さらに、同種 IgG が T 細胞とマクロファージのどちらに作用しているのかを明らかにするために、IgG とそれぞれの細胞をプレインキュベーションした。その結果、同種 IgG と T 細胞とをプレインキュベーションしたときにのみ T 細胞の活性化抑制作用が認められた。以上のことより、同種 IgG は F(ab')<sub>2</sub> フラグメントを介して T 細胞に結合することにより、DSS を取り込んだマクロファージによる T 細胞の活性化を抑制することが示唆された。

以上をまとめると、DSS 大腸炎において DSS を取り込んだマクロファージは T 細胞を活性化し、活性化された T 細胞はサイトカインを産生して、細胞性免疫を誘導することにより、炎症さらには潰瘍を誘発することが示唆された。免疫グロブリンは、マクロファージが T 細胞を活性化するのを抑制することにより、活性化 T 細胞による一連の免疫反応の誘導を阻害し、DSS 大腸炎の発症抑制に作用していると考えられた。

これらのことを踏まえ、免疫グロブリン療法の潰瘍性大腸炎への作用機序として、T 細胞の活性化抑制効果が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

潰瘍性大腸炎は主として粘膜を侵し、しばしばびらんや潰瘍を形成する大腸の原因不明のび慢性非特異性炎症と定義されている。近年、この潰瘍性大腸炎患者に対して、免疫グロブリン療法が試みられ、種々薬剤に抵抗性の患者に対しても有効例が認められることが報告されている。しかし、他の疾患と同様に免疫グロブリンの潰瘍性大腸炎に対する作用機序は明らかではない。そこで著者は、免疫病変についての検討がよく行われているデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 大腸炎が免疫グロブリン療法の免疫学的効果を検討する上で適当なモデルであると判断し、本実験的大腸炎を用いて免疫グロブリン療法の有効性を確立し、その免疫学的側面から種々検討を行った。その結果以下のデータが得られた。

1) DSS 誘発大腸炎に IgG を投与した結果、同種 IgG は潰瘍および便潜血の発生を有意に抑制し、また病理組織学的にも改善がみられた。さらに同種 IgG は、免疫担当細胞の大腸粘膜での増加を抑制した。

2) DSS 大腸炎の発生機序を明らかにするため、DSS を取り込んだマクロファージの役割について検討を行ったところ、本マクロファージが T 細胞を活性化することを明らかにした。さらに、活性化された T 細胞は IL-2 および IFN- $\gamma$  を産生し、この T 細胞を DSS の投与とともにマウスに移入すると、DSS 大腸炎が増悪されることを確認した。

3) 同種 IgG は DSS を取り込んだマクロファージによる T 細胞の活性化を抑制することを見出した。さらに、この作用には少なくとも F(ab')<sub>2</sub> フラグメントが必要であることが判明した。また、IgG はマクロファージではなく T 細胞側に作用することにより抑制していることを確認した。

以上の事実より、DSS 大腸炎において DSS を取り込んだマクロファージは T 細胞を活性化し、活性化された T 細胞

はサイトカインを産生し、細胞性免疫を誘導することにより、炎症さらには潰瘍を誘発することが示唆された。免疫グロブリンは、マクロファージがT細胞を活性化する段階を抑制することにより、活性化T細胞による一連の免疫反応の誘導を阻害し、DSS大腸炎の発症抑制に作用していると考えられた。

以上、本論文は免疫グロブリン療法の潰瘍性大腸炎に対する有効性を確立するとともにその作用機序を明らかにしており、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものとする。