

Title	Peripheral Blood T Lymphocytes and Basophils, Freshly Isolated from House-Dust-Mite-Sensitive Patients, Produce Interleukin-4 in Response to Allergen-Specific Stimulation
Author(s)	越智, 宏
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40936
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	越智 宏 ^{ひろし}
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 13314 号
学位授与年月日	平成 9 年 5 月 30 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	Peripheral Blood T Lymphocytes and Basophils, Freshly Isolated from House-Dust-Mite-Sensitive Patients, Produce Interleukin-4 in Response to Allergen-Specific Stimulation (ダニに感作されているアレルギー患者末梢血由来 T リンパ球及び好塩基球は、アレルゲン特異的な刺激により IL-4 を産生する)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

[目的]

Interleukin-4 (IL-4) は B 細胞での IgE クラススイッチを誘導し、さらにはナイーブ T 細胞に作用して Th2 への分化を誘導することが明らかにされていることから、アレルギー性疾患発症機構において重要な役割を果たしていると考えられている。事実、これまでアレルギー患者末梢血から、IL-4 を産生する Th2 クローンが有意に高い頻度で樹立されること、あるいは炎症局所で IL-4 産生細胞が増加していることが示されている。また、近年 T 細胞以外にも好塩基球あるいは肥満細胞が IL-4 を産生することが確認されたが、アレルギー性疾患発症機構における、これら好塩基球及び肥満細胞の IL-4 産生細胞としての役割は未だ明確ではない。

そこで我々は、共培養系を用いた高感度なバイオアッセイ法を確立し、その手法を用いてアレルギー患者末梢血中において、アレルゲン特異的な刺激により IL-4 を産生する Th2 タイプ T 細胞及び好塩基球の存在を直接的に確認すること、さらには IL-4 産生細胞としての能力、及び性質を両細胞間で比較することにより、発症機構における Th2 タイプ T 細胞及び好塩基球それぞれの IL-4 産生細胞としての役割を明らかにすることを目的として検討を行った。

[方法ならびに成績]

ダニアレルゲンに対して感受性を示す 42 人のアレルギー性疾患(喘息、アトピー性皮膚炎及びアレルギー性鼻炎)患者由来末梢血から、パーコール比重遠心法、及び磁気ビーズを用いた negative selection 法により、リンパ球画分及び好塩基球画分を単離した。それぞれの画分の細胞 population は flowcytometry 及び May-Grunwald/Giemsa 染色により確認した。リンパ球画分は 65-75% の T 細胞、5-10% の B 細胞、15-20% の単球及び 5% 程度の NK 細胞より構成されていた。好塩基球画分の好塩基球の割合は 30-70% であり、残りはほとんどが小型のリンパ球及びわずかな単球よりなり、好中球は 5% 以下、好酸球はほとんど確認できなかった。得られたリンパ球画分及び好塩基球画分をダニ extract を用いて刺激し、次にヒト IL-4 に応答して増殖する指示細胞 (CT.h4S) と共培養し、指示細胞の増殖を指標とすることで、アレルゲン特異的な刺激によりリンパ球及び好塩基球から産生される IL-4 を高感度に検出することが可能であった。血清中で高いダニ特異的 IgE 値 (RAST Score ≥ 3) を示す患者のリンパ球及び好塩基球は、アレルゲ

ン特異的刺激により IL-4 を産生した。抗 CD3 抗体、及び抗 IgE 抗体を用いた結果から、リンパ球画分及び好塩基球画分中の IL-4 産生細胞は、それぞれ主に T 細胞及び好塩基球であると考えられた。低いダニ特異的 IgE 値 (RAST Score=2) を示す患者及び正常人のリンパ球及び好塩基球からは、ダニ特異的刺激による IL-4 産生は確認できなかった。一方、高いダニ特異的 IgE 値 (RAST Score=5) を示す患者のなかで、血中総 IgE 高値 (RIST>2000IU/ml) を示し、ダニを含む複数のアレルゲンに対して高い RAST 値を示す (多感作) 一群の患者においては、リンパ球からのダニ特異的刺激による IL-4 産生が確認できなかった。

次にリンパ球と好塩基球との間で、IL-4 産生細胞としての性質の違いを検討した。用いた細胞数及び割合からリンパ球と好塩基球それぞれ同一細胞数あたりの IL-4 産生能を換算した場合、好塩基球からのダニ特異的刺激による IL-4 産生能は、リンパ球の 20~500 倍であった。単一細胞あたりの産生量の違い、及びダニアレルゲンに応答する細胞の頻度の違いが考えられる。また、好塩基球は低濃度 (1-10 ng/ml) のダニ extract に応答し、IL-4 を産生するのに対し、リンパ球からの IL-4 の産生には高い濃度 (1-10 μ g/ml) のアレルゲンを必要とした。

[総括]

アレルギー患者末梢血中には、アレルゲン特異的な刺激により IL-4 を産生する T 細胞及び好塩基球が存在する。血中総 IgE 高値を示す多感作の患者リンパ球からは、ダニアレルゲン特異的刺激による IL-4 産生が確認できなかったことは、多感作患者において、好塩基球を含む T 細胞以外の IL-4 産生細胞の重要性を示唆するものとする。好塩基球と T 細胞との間で、IL-4 産生細胞としての性質の違いを比較した場合、IL-4 産生に必要な抗原濃度、及び同一細胞数あたりの IL-4 産生量に大きな差異が確認された。アレルギー性疾患発症機構において、T 細胞はリンパ節等の秩序だった細胞環境下で IL-4 産生細胞として機能し、好塩基球あるいは肥満細胞は、炎症局所において単独で多量の IL-4 を産生し、局所のアレルギー性炎症の惹起に関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は、まず微量なヒト IL-4 産生を検出することができる好感度なバイオアッセイ法を確立し、アレルギー患者末梢血中に、アレルゲン特異的な刺激により IL-4 を産生する T 細胞及び好塩基球が存在することを、初めて直接的に証明した点が評価される。また、その手法を用いることにより、これまで非生理的な刺激による検討に限られていた状況から、T 細胞と好塩基球との間で、アレルゲン刺激という生理的な条件下での IL-4 産生細胞としての能力及び性質の違いを比較することを可能とした。その結果、好塩基球は T 細胞に比較して、低濃度のアレルゲンに反応して多量の IL-4 を産生することが示された。この結果は、好塩基球からの IL-4 産生の重要性を明らかにした点で重要である。本論文は、実際のアレルギー患者末梢血中の T 細胞及び好塩基球をできるだけ生体内の状態を保ったままで、しかも生理的な刺激の条件下で議論した点で高く評価されるべきである。

以上のことから本論文は学位の授与に値するものと考えられる。