

(62)

氏名(生年月日) ^{ハヤシ} 林 - ^{アノ} 安 ^{ドウ} 藤 ^{アキ} 明 ^コ 子
 本 籍
 学位の種類 博士(医学)
 学位授与の番号 乙第2021号
 学位授与の日付 平成12年12月15日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
 学位論文題目 **Absence of interleukin-4 enhances germinal center reaction in secondary immune response**
 (インターロイキン-4欠損は二次免疫応答における胚中心反応を増強する)
 論文審査委員 (主査) 教授 小林 楨雄
 (副査) 教授 溝口 秀昭, 伊藤 達雄

論文内容の要旨

〔目的〕

胚中心はB細胞の分化成熟の場として知られている。抗原刺激によって胚中心B細胞は記憶細胞あるいは形質細胞前駆細胞に分化する。胚中心の大きさや数は液性免疫応答の程度に関連していると思われる。遺伝子欠損マウスを使った研究から胚中心形成に必須の因子は少しずつ明らかになってきたが、胚中心の大きさや数を調節している機構に関しては、あまり多くは明らかになっていない。今回、胚中心の大きさや数の調節に、IL-4が関与するか否かを検討した。実験的にIL-4遺伝子欠損マウスを用い、可溶性蛋白抗原卵白アルブミンに対する二次抗原応答でのリンパ節・胚中心の形態変化を観察した。

〔対象および方法〕

IL-4^{-/-}、IFN- γ ^{-/-}およびwild-type (WT) BALB/cマウスの足蹠皮下に200 μ g 卵白アルブミン(OVA)をFreund's complete adjuvant (FCA)と共に投与した。投与後28日後に20 μ gのOVAを足蹠皮下に投与し二次抗原刺激とした。水酸化アルミニウムゲル(Alum)をアジュバントと同様の投与を行った。二次刺激後2週間までの膝窩リンパ節の組織学的検討およびマウスの血清についてELISA法により抗原特異的抗体価の測定を行った。

リンパ節は4%パラホルムアルデヒドで固定後、パラフィンに包埋し薄切標本とした。胚中心細胞をPNAレクチンで組織化学染色し、リンパ節、胚中心の面積および胚中心の個数を計測した。免疫組織化学のためには、未固定でOCT-compoundに包埋凍結した

後、薄切標本を作製した。抗CR1/2および抗CD23モノクローナル抗体の免疫染色を行った。

〔結果〕

血清中の抗体価を調べると、WTマウスと比べIL-4^{-/-}マウスではIgG抗体価が高かった。IgGサブクラスではIgG2a、IgG2b、IgG3が高く、IL-4^{-/-}マウスではTh1タイプの抗体応答が亢進していた。

リンパ節の大きさと胚中心の数は、OVA/FCA投与のIL-4^{-/-}マウスで、ともに著しく増大していた。IL-4^{-/-}マウスでは、腫大した胚中心の出現と共に、小型胚中心の数の増加が顕著であった。IFN- γ ^{-/-}マウスでは胚中心の数の増加は認められず、加えてWTマウスに比し胚中心は小さい傾向を示した。

IL-4^{-/-}マウスの胚中心内濾胞樹状細胞の分布を示すCR1/2およびCD23陽性領域をみると、著しく胚中心数が増加した7日目では、小型の胚中心ではCR1/2は陽性であったがCD23は陰性であった。

〔考察〕

胚中心B細胞の分化成熟においてIL-4は重要な役割を果たしていることは知られている。IL-4^{-/-}マウスを用いた実験ではパイエル板胚中心に関する研究があり、パイエル板における胚中心が見られなくなるという報告がある。本研究ではIL-4欠損マウスではリンパ節内に胚中心数が増加し、Th1タイプの抗体応答が増強することが示された。IL-4は胚中心の形成においては必須ではなく、Th1タイプの抗体応答においては抑制的に働くものと思われた。

CD23陽性領域を持つ胚中心は一次抗原刺激後の後

期より出現する。このことから、IL-4^{-/-}マウスにおいて、著しく数が増加した7日目の小型胚中心は、CD23 陽性領域を含まず、二次刺激後に新たに形成されたものであると考えられた。

〔結論〕

本研究では、二次免疫応答において胚中心の数および胚中心の大きさの調節においてIL-4は重要な役割を果たすことが示唆された。

論文審査の要旨

本論文は、液性免疫応答に関連すると考えられる胚中心形成の調節機構の解明のため、IL-4 遺伝子欠損マウスを用い、二次抗原応答でのリンパ節・胚中心の形態変化を検討したものである。

IL-4^{-/-}、IFN- γ ^{-/-}、wild type BALB/c マウスの皮下に卵白アルブミンを投与し、28 日後に二次抗原刺激を行い、刺激後2週間までのリンパ節を組織学的に検討した。リンパ節の大きさと胚中心の数は、IL-4^{-/-}マウスで、ともに著しく増大していた。IL-4^{-/-}マウスの胚中心内樹状細胞の分布を示すCR 1/2、CD23 陽性領域をみると、著しく増加した7日目の小型胚中心ではCR 1/2は陽性であったが、CD23は陰性で、これらは二次刺激後に新たに形成されたものと考えられた。

二次免疫応答における胚中心の数および大きさの調節に、IL-4が重要な役割を担うことを明らかにしたもので、学術上価値ある論文と認める。

主論文公表誌

Absence of interleukin-4 enhances germinal center reaction in secondary immune response (インターロイキン-4 欠損は二次免疫応答における胚中心反応を増強する)

Immunology Letters Vol 73 No 1 35-41 頁 (2000年7月27日発行) 安藤明子, 増田昭博, 山川光徳, 熊沢義雄, 笠島 武

副論文公表誌

- 1) 胚中心形成とIL-4. 臨免疫 31(2):125-128(1999) 安藤明子, 笠島 武
- 2) 反応性リンパ濾胞胚中心及び腫瘍性濾胞でのCD3 陽性 T 細胞の分布—特に CD23 陽性 FDC の分布との関連について—. 日網会誌 32(4):341-347 (1992) 安藤明子, 笠島 武, 武雄康悦, 西川俊郎
- 3) Differences between germinal center T cells and T-zone T cells in the early events induced by injection of bacterial superantigen (胚中心 T 細胞と T-zone T 細胞での細菌性スーパー抗原投与時の初期応答性の違い). Dendritic Cells 6:31-33 (1996) 安藤明子, 熊沢義雄, 笠島 武
- 4) The localization of lymphokines in murine germinal centers (マウス胚中心内リンフォカインの局在). Adv Exp Med Biol 329:371-376 (1993) 笠島 武, 安藤明子, 武雄康悦, 西川俊郎
- 5) An unusual regressive germinal center, the 'FDC-only lymphoid follicle', in lymph nodes of organ transplant recipients (特殊な胚中心の退縮, 臓器移植後のリンパ節内に見られる濾胞樹状細胞だけからなるリンパ濾胞). Am J Surg Pathol 23(5):536-545 (1999) 山川光徳, 池田郁雄, 増田昭博, 榎本浩子, 安藤明子, 笠島 武
- 6) Two different cutaneous lymphoid disorders (二つの異なる皮膚リンパ球腫). Dendritic Cells 2:33-40 (1993) 笠島 武, 安藤明子, 西川俊郎, 村田恭子
- 7) Natural killer cells in the germinal center (胚中心内NK細胞). Dendritic Cells 4:113-116 (1994) 池田郁雄, 増田昭博, 安藤明子, 笠島 武
- 8) Cytokines in germinal centers of murine nodes: an immunocytochemical study (マウス胚中心内サイトカイン:免疫組織化学的検討). Dendritic Cells 4:19-23 (1994) 笠島 武, 安藤明子
- 9) Lymphoid cells and dendritic cells in transplanted hearts: An immunohistochemical study of three cases (移植心の中のリンパ球と樹状細胞:3症例についての免疫組織化学的検討). Dendritic Cells 10:31-35 (2000) 西川俊郎, 笠島 武, 増田昭博, 安藤明子, 金田良夫, 小林慎雄
- 10) 悪性リンパ腫—研究経緯と本学の悪性リンパ腫について—. 東女医大誌 62(2):97-106 (1991) 笠島 武, 安藤明子, 西川俊郎, 相羽元彦, 河上牧夫