



THE INDUCTION OF MHC CLASS II ANTIGENS ON RAT BRONCHIAL EPITHELIAL CELLS BY INTERFERON-GAMMA AND ITS EFFECT ON ANTIGEN PRESENTATION

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 須田, 隆文 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/997

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 144号	学位授与年月日	平成 5年 3月26日
氏 名	須 田 隆 文		
論文題目	<p>THE INDUCTION OF MHC CLASS II ANTIGENS ON RAT BRONCHIAL EPITHELIAL CELLS BY INTERFERON - GAMMA AND ITS EFFECT ON ANTIGEN PRESENTATION (ラット培養気道上皮細胞におけるインターフェロン・ガンマによる MHC クラス II 抗原の誘導と抗原提示能の検討)</p>		

医学博士 須田 隆文

論文題目

THE INDUCTION OF MHC CLASS II ANTIGENS ON RAT BRONCHIAL EPITHELIAL CELLS BY INTERFERON-GAMMA AND ITS EFFECT ON ANTIGEN PRESENTATION

(ラット培養気道上皮細胞におけるインターフェロン・ガンマによる MHC クラス II 抗原の誘導と抗原提示能の検討)

論文の内容の要旨

(目的) MHC class II 抗原は、本来マクロファージなどの免疫担当細胞上に発現しており、抗原提示などの T 細胞の活性化に関わっている。また、近年、種々の病態において上皮系細胞にも class II 抗原の発現が誘導されることが明らかとなり、その意義が注目されてきた。しかし、気道上皮における class II 抗原の発現とその機能については未だ十分に解明されていない。本研究では、気道上皮細胞における class II 抗原の発現とその調節、ならびに気道上皮細胞に発現した class II 抗原の免疫学的な役割を明らかにする目的で、ラット培養気道上皮細胞を用いて、interferon- γ (IFN- γ) が class II 抗原の発現に与える影響を検討するとともに、class II 抗原を発現した気道上皮細胞の抗原提示能についても検討を加えた。

(方法) 1) Fisher ラットの気管から protease 処理にて気道上皮細胞を採取し、各種成長因子等を添加した F-12 無血清培地を用いて、collagen gel 上で培養した。2) 培養気道上皮細胞 (BE) に各種濃度の rat recombinant IFN- γ を添加した後、collagenase、trypsin-EDTA 処理にて遊離細胞とし、抗ラット Ia 抗体 (OX6) を用いたフローサイトメトリー法と免疫染色で class II 抗原の発現を検討した。3) ovalbumin (OVA) 100 μ g + Freund's complete adjuvant を Fisher ラットの足底に皮下注射し、2～4 週後に膝窩リンパ節を採取、付着細胞を除いた後、抗ラット IgG で処理された affinity column を通し、OVA 感作 T 細胞を得た。BE を IFN- γ 1000 U/ml で 3 日間処理した後、OVA を 16 時間パルスし、抗原添加 BE とした。続いて酸素処理にて遊離細胞とし、3000 R の放射線照射後、OVA 感作 T 細胞と 3 日間 co-culture した。その後 [3 H]-thymidine を添加、16 時間後に cell harvester にて培養細胞を回収し、液体シンチレーションカウンタで [3 H]-thymidine の取り込みを測定 (cpm) した。抗原提示能は、抗原添加 BE の取り込みと抗原非添加 BE の取り込みの差を Δ cpm として表した。

(結果) 1) BE は class II 抗原を発現していなかったが、IFN- γ 添加によってその発現が誘導された。本抗原の発現は、IFN- γ の濃度依存性に増強し、1000 U/ml の濃度では 85% 以上の BE が class II 抗原陽性となった。また、IFN- γ による class II 抗原の誘導は、添加後 24 時間以内から認められ、96 時間で最大となった。2) OVA 感作 T 細胞 (2×10^5 /well) と BE を各比率で培養した場合の Δ cpm 値は、IFN-treated BE では、5548 (T 細胞:BE=200:1)、9450 (20:1)、2435 (2:1) であった。一方、untreated BE は、411 (200:1)、824 (20:1)、911 (2:1) であった。以上より、IFN-treated BE は、OVA をパルスすることにより OVA 感作 T 細胞を増殖させることが示された。

(考察ならびに結語) 今回の検討では、ラット気道上皮細胞の初代培養系において、IFN- γ が濃度依存性に class II 抗原の発現を誘導、増強させることが明らかとなった。更に、IFN- γ を添加し class II 抗原を発現させた BE は、OVA 感作 T 細胞に OVA を提示することが示された。いわゆる non-professional な抗原提示細胞に発現した class II 抗原の機能については、抗原提示能をもつとする報告や、むしろ抗原特異的に T 細胞の増殖を抑制するとした指摘がなされ、一致した見解は示されていない。しかし、今回の結果から、class II 抗原を発現した気道上皮細胞は、in vitro において抗原提示細胞として機能しうることが証明された。従って、気道局所で IFN- γ の産生をもたらす気道炎症などの種々の病態において、気道上皮細胞の class II 抗原の発現が増強し、抗原提示などの機能を通じて T 細胞を活性化することが推測された。以上より、外来性の病原体や抗原に対する肺の防御機構において、気道上皮細胞は、単に物理的バリアとしてではなく、気道局所の免疫応答に積極的に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

非リンパ系細胞、とくに上皮系細胞の膜上へのクラス II 抗原の発現の意義と、その調節機構に関しては不明な点が多く、その解明が待たれているところである。そこで本申請者は、気道上皮細胞におけるクラス II 抗原の発現に及ぼす interferon- γ (IFN- γ) の影響を解析し、さらにクラス II 抗原陽性気道上皮細胞の免疫学的機能、とくに抗原提示能を解明しようとした。

審査委員会において、申請者によりなされた口頭発表と論文内容について審査した結果、本論文の特徴として次の点が評価された。

1. ラットの気道上皮細胞 (BE) の単離と培養を、各種成長因子等を添加して特別に調整した F-12 無血清培養液と collagen gel を用いておこなっており、その純度、生存率、活性度などはいずれの点においてもほぼ適切であると判断された。また、in vitro 系におけるクラス II 抗原発現の解析法および、クラス II 抗原陽性上皮細胞の抗原提示能の解析法は、いずれも精度、再現性に関して適切であると判断された。
2. 無処理の BE はクラス II 抗原を発現していなかったが、一定量 (10~1000u/ml) の IFN- γ を添加すると濃度依存性に 24 時間以内に発現ははじめ、96 時間目にピークに達し約 85% 以上が陽性となることから、BE は IFN- γ 添加によりクラス II 抗原を発現することを明らかにした。
3. 液性抗原 (ovalbumin; OVA) 感作 T 細胞を同抗原添加・IFN- γ 処理 BE とともに培養し、T 細胞の抗原特異的増殖反応を解析した結果、IFN- γ 処理 BE は、OVA 抗原をパルスすることにより OVA 感作 T 細胞を活性化することを見だし、IFN- γ によって処理されたクラス II 抗原陽性 BE は抗原提示能を発揮することを明らかにした。

以上の所見より申請者は、IFN- γ 添加によってラット BE の膜上にクラス II 抗原が発現され、さらに、このようなクラス II 抗原陽性 BE が抗原感作 T 細胞に対し抗原提示能を発揮する機構があることを主張した。

以上の結果は、気道炎症の際のさまざまな病態において、BE と T 細胞は細胞間共同作用を惹起すること

を示唆し、気道局所の防御反応の機構を解明する上にきわめて意義あることと判断され、高く評価された。

また、審査の過程において、申請者の発表と関連して次の点に関し質疑がなされた。

1. BE の膜上に IFN- γ レセプターは存在するか,
2. 気管以外の気道の各部位から得られた BE も同様の機能を発揮するか,
3. germ free 条件下で飼育された新生仔ラットの BE にも同様の機能があるか,
4. 用いられた BE はどのような細胞学的特徴を示すか,
5. OVA 感作 T 細胞として用いた標品の純度と生存率はどの程度か,
また、T 細胞亜群の分離実験を試みたか,
6. BE 膜上のクラス II 抗原の回転・代謝速度はどの程度か,
7. 抗原提示能に関し BE の活性を肺泡マクロファージや樹状細胞と比較したか,
8. OVA 以外の抗原を用いて、BE の抗原特異的抗原提示能を検索したか,
9. 補体非依存性抗原提示能を BE が発揮する根拠について,
10. 抗原提示能の検索において、BE や OVA 感作 T 細胞由来のサイトカインの関与の有無を検索したか,

以上の質問に対する申請者の解答はほぼ適切であり、博士（医学）の学位授与に相応しいものと審査委員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山 下 昭

副査 教授 白 澤 春 之 副査 教授 吉 田 孝 人

副査 助教授 本 郷 輝 明 副査 講師 鈴 木 一 也