



Fc  $\epsilon$  receptor II / CD23+ lymphocytes in atopic dermatitis. III. Aberrant control in the in vitro expression of Fc  $\epsilon$  R II / CD23 on peripheral blood T cells in atopic dermatitis

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: 作成者: 坂本, 泰子 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1422">http://hdl.handle.net/10271/1422</a>

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	医博論第 145号	学位授与年月日	平成 5年 3月 9日
氏名	坂本 泰子		
論文題目	<p>Fcε receptor II/CD23<sup>+</sup> lymphocytes in atopic dermatitis. III. Aberrant control in the in vitro expression of FcεR II/CD23 on peripheral blood T cells in atopic dermatitis                      (アトピー性皮膚炎における Fcε レセプター II/CD23<sup>+</sup>リンパ球. III. アトピー性皮膚炎末梢血 T細胞での FcεR II/CD23 の in vitro 発現における異常調節)</p>		

医学博士 坂本 泰子

論文題目

Fc $\epsilon$  receptor II/CD23<sup>+</sup> lymphocytes in atopic dermatitis. III. Aberrant control in the in vitro expression of Fc $\epsilon$  RII/CD23 on peripheral blood T cells in atopic dermatitis

(アトピー性皮膚炎における Fc $\epsilon$  レセプター II/CD23<sup>+</sup>リンパ球. III. アトピー性皮膚炎末梢血 T 細胞での Fc $\epsilon$  RII/CD23 の in vitro 発現における異常調節)

論文の内容の要旨

アトピー性皮膚炎 (AD) 患者では、種々の免疫異常が随伴してみられるが、病因に関与している要因のひとつとして IgE 抗体産生系の異常が考えられている。近年、IgE Fc 部分に対する低親和性受容体 (Fc $\epsilon$ -RII) の研究が進み、B 細胞 Fc $\epsilon$  RII 発現はインターロイキン 4 (IL-4)、インターフェロン  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) によって調節されていること、可溶性 Fc $\epsilon$  RII が B 細胞を分化、成熟させ IgE の産生を制御することがわかってきた。一方、Fc $\epsilon$  RII 陽性 T 細胞 (T $\epsilon$  細胞) は AD 患者末梢血に数%認められ、皮膚病変部にも浸潤してくることより病態への関与が推測されている。本研究では in vitro における Fc $\epsilon$  RII 陽性リンパ球、特に T $\epsilon$  細胞の出現を、AD 患者と非アトピー性湿疹患者、健常人につき比較検討を行った。

対象として重症 AD 患者 11 名、軽症 AD 患者 11 名、アトピー歴のない湿疹患者 5 名、健常人 15 名を選び、ヘパリン加採血した末梢血より Ficoll 比重遠沈法で単核球を分離した。10<sup>6</sup>個/ml に調整した細胞浮遊液をリコンビナントインターロイキン 2 (rIL-2)、リコンビナント IL-4 (rIL-4) あるいはフィトヘマグルチニン P (PHA-P) 5  $\mu$ g/ml の存在下で数日間培養した。また、PHA-P 5  $\mu$ g/ml であらかじめ 3 日間培養し、その後細胞を洗浄してから rIL-2 を加えさらに 1, 4 あるいは 7 日間培養した。Fc $\epsilon$  RII 発現に及ぼす影響をみるため、プロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)、リコンビナントインターフェロン  $\alpha$  (rIFN- $\alpha$ )、リコンビナント IFN- $\gamma$  (rIFN- $\gamma$ ) を IL-4 と同時に添加し培養を行った。いずれの実験も、これらのサイトカイン、マイトジュン無添加群を対照として比較検討した。FITC 標識モノクローナル抗 Fc $\epsilon$  RII 抗体 (H107) と PE 標識抗 Leu4 (CD3)、抗 Leu2a (CD8)、抗 Leu3a (CD4) あるいは抗 Leu16 (CD20) 抗体を用いて培養後の細胞を二重染色し、フローサイトメーター (FACScan) を用いて 1 $\times$ 10<sup>4</sup>個の細胞につき抗原発現、蛍光強度を解析した。

rIL-4 100U/ml あるいは PHA 添加により、AD 患者、湿疹患者、健常人のいずれにおいても、無添加時に比べ T 細胞、B 細胞ともに有意に多くの Fc $\epsilon$  RII 陽性細胞が誘導され、T 細胞中では 5~7% に達した。rIL-2 1U/ml 単独では T 細胞上への Fc $\epsilon$  RII を誘導できなかったが、あらかじめ PHA で刺激した後に rIL-2 1U/ml を添加すると PHA 単独群に比し有意に高値の T $\epsilon$  細胞が誘導された。rIL-4, PHA で誘導される T $\epsilon$  細胞の割合は、AD 患者では多く出現する傾向にあったものの、患者群との間に有意差は認められなかった。しかし、T $\epsilon$  細胞について CD8/CD4 比を調べたところ、AD 患者では正常人と比べて CD8 T $\epsilon$  細胞が有意に多く誘導された。rIL-4 と同時に PGE<sub>2</sub> (10<sup>-6</sup>, 10<sup>-8</sup>M)、rIFN- $\alpha$  (100, 500U/ml)、

rIFN- $\gamma$  (100,500U/ml) を添加したところ、rIFN- $\gamma$  500U/mlのみが AD 患者および健常人において T $\epsilon$  細胞を含む Fc $\epsilon$ R II 陽性細胞の誘導を抑制した。

T $\epsilon$  細胞は重症 AD 患者の末梢血中に数%認められるものの、湿疹患者、健常人の末梢血には出現しない。本研究では、in vitro では PHA, IL-4, PHA+IL-2により、AD 患者、健常人において同程度に T $\epsilon$  細胞が誘導されること、IFN- $\gamma$  が IL-4の作用を抑制することが明らかとなった。このことより AD 患者では insitu で T $\epsilon$  細胞が容易に誘導される状態にあると推定され、その要因として種々の抗原刺激あるいは皮膚におけるサイトカイン産生、調節の異常が考えられた。また、CD8 陽性 T細胞での Fc $\epsilon$ R II 発現異常が存在することは、T細胞のサブセットにアトピー素因にもとづく異常が存在することを示唆した。

### 論文審査の結果の要旨

難治性皮膚疾患の一つとして知られるアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis, AD) の病因はきわめて多元的で、その解明が待たれている所である。最近では種々の免疫異常が随伴するところから免疫学的病因論が提唱され、とくに IgE 抗体産生異常が注目されている。申請者はこれまでに、AD 患者において病状の進展にともない Fc $\epsilon$ R II<sup>+</sup>・CD8<sup>+</sup>T 細胞が末梢血中および AD 皮膚組織内に増加することを見だし、IgE 抗体産生性 B細胞の機能と AD の病態の変化に影響を及ぼすことを提唱した (副論文)。本研究において申請者は、AD 患者における Fc $\epsilon$ R II<sup>+</sup>リンパ球 (T $\epsilon$  細胞) の出現と、各種のサイトカインの影響について解析し、非アトピー性湿疹患者および健常人と比較検討した。

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. 材料として AD 患者、非アトピー性湿疹患者および健常人の末梢血から単核細胞群を Ficoll 比重遠沈法で分離し、各種のサイトカインやマイトジェンを添加して Fc $\epsilon$ R II<sup>+</sup>T 細胞の出現率に対する影響を検索した。細胞膜上の Fc $\epsilon$ R II (CD23)、CD3、CD8、CD4、CD20の各種膜抗原表現型の解析は、それぞれに対する特異的抗体を用いた flow cytometry (FACScan) で行っている。この際用いた材料や、解析法、判定法等はいずれも本研究目的を解明する上で適切であると判断された。
2. T $\epsilon$  細胞は重症 AD 患者の末梢血中には数%存在する。しかし、IL-4 (100U/ml)、あるいは PHA を添加すると、AD 患者、湿疹患者、健常人のいずれにおいても Fc $\epsilon$ R II<sup>+</sup>T 細胞および B細胞が有意に増加した。その際、T $\epsilon$  細胞の CD8/CD4 比が高値を示し、CD8<sup>+</sup>T $\epsilon$  細胞の増加が示唆された。さらに、IFN- $\gamma$  (500U/ml) を添加すると、このIL-4 の T $\epsilon$  細胞誘導作用が抑制された。
3. IL-2 (IU/ml) の添加では、PHA 刺激を併用すると T $\epsilon$  細胞の有意の増加が認められた。このような所見から申請者は、IL-4、PHA、IL-2+PHA の添加により、AD 患者と健常人において T $\epsilon$  細胞が in vitro で誘導されること、IFN- $\gamma$  は IL-4 のこの作用を抑制することを結論し、AD 患者では容易に T $\epsilon$  細胞の誘導が起りやすい状態に陥っていると推論している。審査委員会では、このような見解は、AD 発症の機序を免疫学的異常の立場から解明する上で示唆に富むものとして高い評価が与えられ、今後の研究の発展が期待された。

審査の過程において、次のような質疑が申請者に出された。

1. ADと湿疹患者の皮膚組織の組織学的相違について、とくに浸潤する免疫系細胞の種類について
2. 培養条件、とくに添加血清の違いによる影響はないか
3.  $Fc\epsilon RI$ と $Fc\epsilon RII$ の構造的な違いと、IgE分子に対する結合親和性の違いについて
4. IgE分子が $T\epsilon$ 細胞に結合した場合、どのような現象が起こり、ADの進展とどのように関連するのか
5. 用いたT細胞、及びB細胞におけるIL-2レセプタ、IL-4レセプタの発現を検討したか
6. 用いたAD及び湿疹患者に対する前治療（とくに、ステロイド系薬物投与）の末梢血リンパ球に対する影響について
7.  $T\epsilon$ 細胞上の $Fc\epsilon RII$ 分子とクラスII抗原の複合体形成の可能性と、抗原提示能の有無について
8. 血中IgE増加を示すAD患者は $Fc\epsilon RII^+$ T細胞の増加が見られるか
9. マイトゲン（PHA-P）添加により $Fc\epsilon RII^+$ 細胞が増加する理由について
10. AD患者の皮膚に浸潤したT細胞がIL-4やIFN- $\gamma$ を異常産生する可能性について
11.  $T\epsilon$ 細胞とB細胞の細胞間共同作用はどこで、どのようにして起こるか

以上の諮問に対し、申請者はほぼ適切な解答を行ったので、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと審査委員全員で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山下 昭

副査 教授 高田 明和 副査 教授 馬場 正三

副査 教授 吉見 輝也 副査 助教授 小出 幸夫