



Formation of antigenic quinolone photoadducts on Langerhans cells initiates photoallergy to systemically administered quinolone in mice

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大島, 昭博 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1610

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 333号	学位授与年月日	平成13年 2月23日
氏名	大島昭博		
論文題目	<p>Formation of antigenic quinolone photoadducts on Langerhans cells initiates photoallergy to systemically administered quinolone in mice (マウスにおいて全身投与されたキノロンに対する光アレルギーはランゲルハンス細胞上の抗原性をもつキノロン光産物の形成により起こる)</p>		

博士(医学) 大島 昭 博

論文題目

Formation of antigenic quinolone photoadducts on Langerhans cells initiates photoallergy to systemically administered quinolone in mice

(マウスにおいて全身投与されたキノロンに対する光アレルギーはランゲルハンス細胞上の抗原性をもつキノロン光産物の形成により起こる)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

キノロン系抗菌剤であるフルオロキノロン(FQ)は本邦ではニューキノロンと呼ばれ、臨床的に広く使用されているが、その副作用として光線過敏症が知られている。日光過敏症の原因は薬剤によるものが最多で、FQは本邦における薬剤性光線過敏症の最も頻度の高い薬剤である。FQ光線過敏症には光毒性によるものと光アレルギー性によるものがあり、多くのFQの場合、光アレルギー性機序により発症すると考えられる。光アレルギー性は光線過敏性薬剤の多くに共通の特性である光ハプテンとしての性格、すなわち紫外線照射下で近傍の蛋白と共有結合し完全抗原となるという性質により起こると考えられる。実際に本剤の光アレルギーは長波長紫外線(UVA)照射下でランゲルハンス細胞(LC)がFQによる光修飾を受けることにより始まる遅延型過敏反応である。この研究ではマウスに全身投与されたFQが*in vivo*においてUVA照射下でLCに結合可能であり、光アレルギー性FQ光線過敏症においてFQ光産物を担うLCが抗原提示細胞となり得るかどうかが検討する。

〔材料ならびに方法〕

FLRX光アレルギーの感作、惹起：代表的なFQであるフレロキサシ(FLRX)をBALB/cマウス腹腔内投与後(i.p.)、腹部剃毛部にUVAを照射、またはFLRX溶液に浮遊させた表皮細胞(EC)にUVA照射してFLRX光修飾ECを作製し、マウスに皮下投与して感作する。惹起はFLRX i.p.後、耳翼にUVAを照射して(FLRX/UVA)行い、照射24時間後の耳の厚さを測定した。

FLRX/UVA処理マウスEC及びLC上のFLRX光産物の存在：FLRX/UVA処理マウス耳翼よりEC浮遊液を作製し、FQ特異的モノクローナル抗体および抗I-A^d抗体を用いて、蛍光顕微鏡およびフローサイトメトリ解析にてEC及びLC上のFLRX光産物の存在を確認した。

*In vivo*で形成されたFLRX光修飾LCに対する感作T細胞の増殖：FLRX光修飾EC皮下投与で感作したマウスより感作5日後にリンパ節細胞を採取し、免疫マグネティックビーズによってCD4陽性細胞を得た。またFLRX/UVA処理マウス耳翼よりLCを豊富に含むEC浮遊液(LC-EC)を作製し、感作リンパ節CD4陽性細胞とともに*in vitro*で培養し、感作T細胞の増殖程度を³H-チミジンの取り込みにより測定した。

FLRX/UVA処置マウスECのインターロイキン(IL)-1 α 産生および増殖：FLRX/UVA処置マウスECを72時間培養し、培養上清中に含まれるIL-1 α 濃度をELISA法により測定し、³H-チミジンの取り込みにより同ECの増殖程度を測定した。

〔結果〕

FLRX光アレルギーの感作、惹起：FLRX i.p.及びUVA照射、FLRX光修飾ECの皮下投与のいずれでもFQ

光アレルギーが誘導、惹起可能であった。惹起UVA量が2から8J/cm²の時に著明な反応が見られたが、12J/cm²の照射では反応が有意に減弱した。ECを抗I-A^d抗体および補体処理後、FLRX光修飾ECの皮下投与で感作を行うと、反応が有意に減弱した。

EC及びLC上のFLRX光産物の存在：EC及びLC上にはFLRX i.p.単独にもある程度、FLRX光産物が形成されたが、FLRX/UVA処置に比してFLRX光産物量は有意に少なかった。EC上にはFLRX i.p.24時間後に3から6J/cm²のUVA照射をした場合に最も有効にFLRX光産物が形成された。FLRX/UVA処置にて形成されたFLRX光修飾LCの割合及び蛍光強度はUVA照射直後より48時間後の方が低かった。

FLRX光修飾LCに対する感作T細胞の増殖：FLRX/UVAマウスLC-ECに対するT細胞増殖反応は未処理群およびFLRX i.p.単独投与群の反応より有意に著しく、4J/cm²のUVA照射を行った場合に最も盛んに増殖した。この反応はLC-ECを抗I-A^d抗体および補体で前処理することで有意に抑制された。尚、FLRX i.p.単独投与群の反応は、未処理群のそれと比べて有意差がなかった。

FLRX/UVA処置マウスECのIL-1 α 産生および増殖：FLRX/UVA処置マウスECの培養上清中のIL-1 α 濃度はFLRX i.p.量依存性に低下したが、ECの増殖程度はFLRX/UVA処置をすることによっても変化が生じなかった。

[考察]

FLRX i.p.およびUVA照射、またはFLRX光修飾ECの皮下投与にいずれの感作法においてもFLRX光アレルギーが誘導、惹起可能で、この感作にはLCが必要であることが示唆された。マウスにi.p.されたFLRXは、皮膚へのUVA照射にてLCに共有結合すると考えられ、この結合は薬剤投与後24時間後にUVAを照射した場合に最も著明であった。FLRX/UVA処置にてin vivoで形成されたFLRX光修飾LCの割合はUVA照射直後より48時間後の方が低く、光抗原をもつLCは通常のハプテンと同様、リンパ節へ移動するのではないかと考えられた。FLRX i.p.後、適量のUVAを照射することで、はじめてLC上に抗原性をもつFLRX光産物が形成され、このFLRX光修飾LCによってFLRX光抗原が提示されると考えられた。

[結論]

光アレルギー性薬剤性光線過敏症において、LCが抗原提示細胞となることが強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

ニューキノロン抗菌剤であるフルオロキノロン(FQ)の副作用として光線過敏症が知られている。この光線過敏症はFQの種類により光毒性、または光アレルギーの機序により発症する。しかし、多くのFQは光アレルギーを引き起こすことが知られている。FQによる光アレルギーはその光ハプテンとしての性質が関与する。すなわち、本剤は長波長紫外線(UVA)照射下で蛋白と共有結合することにより、遅延型過敏反応を惹起する。実際、マウスにおいてFQで光修飾した表皮細胞(EC)を皮下接種することにより、FQに対する光アレルギーを誘導できる。本研究では、FQをマウスに全身投与後UVA照射することによりEC、特に抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞(LC)がin vivoでFQにより光修飾を受けT細胞を感作し得るかどうかを検討した。この目的のため、申請者らは本邦で最も高頻度に光アレルギーを起こすFQであるフレロキサシン(FLRX)をBALB/cマウス腹腔内投与(i.p.)後、剃毛した腹部皮膚にUVA照射して感作した。また、FLRX溶液にECを浮遊させ、UVA照射して作製したFLRX光修飾ECを皮下接種することに

よってもマウスを感作した。光アレルギーの惹起はFLRX i.p.後、耳翼にUVAを照射(FLRX/UVA)することで行い、UVA照射24時間後の耳の厚さを測定することにより、判定した。得られた主な結果は以下の通りである。

(1)FLRX i.p.後、皮膚をUVA照射した場合、およびFLRX光修飾ECを皮下接種した場合のいずれも、光アレルギーを誘導できた。UVAの至適照射量は2~8J/cm²であった。(2)FLRX光修飾ECを抗I-A^d単クローン抗体と補体で処理した後皮下接種すると光アレルギーを誘導できなかったことから、EC中のLCが感作に必要であることが示唆された。(3)FQ光修飾細胞上のFQ共通構造を認識する単クローン抗体であるST-Q-9を用いて、FLRX/UVA処置後のEC上のFLRX光産物量を測定したところ、FLRX i.p.投与後24時間後に3~6J/cm²のUVAを照射した場合に最も有効にこの光産物が認められた。また、FLRX光修飾LCはUVA照射直後より48時間後の方が少なく、FLRX光産物を持つLCは速やかにリンパ節に移動すると考えられた。(4)FLRX光修飾ECで感作したマウスのCD4⁺リンパ節T細胞をFLRX/UVA処置マウスのECから分離したLCで刺激したところ、4J/cm²のUVA照射で最も良く増殖性反応を示した。また、この反応はLC細胞を抗I-A^d単クローン抗体と補体で除去することで阻害された。(5)FLRX/UVA処置マウスECの培養上清中のIL-1 α 濃度はFLRX i.p.量依存的に低下すること、およびFLRX/UVA処置はケラチノサイトの増殖に影響を与えなかったことにより、ケラチノサイトはCD4⁺T細胞の増殖性反応に関与しないことが示唆された。

以上より、申請者らはFQ全身投与によって惹起される光アレルギーにおいてLCが抗原提示細胞として重要な役割を果たすことを示唆した。

審査委員会では、FQの全身投与によるFQ光アレルギーの惹起に、LCがin vivoで重要な役割を果たしていることを証明した点を高く評価した。

以上の研究に対し、審査委員会では以下の質疑を行った。

- 1) ランゲルハンス細胞の分離法は妥当か
- 2) キノロンは皮膚に蓄積するか
- 3) キノロンの血中濃度と至適光アレルギー惹起濃度との関係について
- 4) 過剰なUVA照射で光アレルギーが低下する理由は
- 5) UVAはキノロンと蛋白を共有結合させないか
- 6) ランゲルハンス細胞の再分布に要する時間は
- 7) 光アレルギー反応局所の組織像について
- 8) 試験管内でのT細胞増殖反応にCD4⁺T細胞を用いた理由
- 9) FLRX/UVA処置マウスECの培養上清中のIL-1 α 濃度がFLRX i.p.量依存的に低下した理由は
- 10) T細胞の光ハプテンの認識機構について
- 11) 光ハプテンと共有結合する蛋白について
- 12) 光ハプテンと共有結合した蛋白のランゲルハンス細胞内でのprocessingの機構について
- 13) この光アレルギー反応にマウスの系統差はあるか
- 14) この光アレルギーに抗体は関与しないか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 小 出 幸 夫
副査 梅 村 和 夫 副査 大 橋 弘 幸