

新生児・乳児期における好塩基球表面IgEならびにCD38抗原発現とその機能的意義

著者	谷内江 昭宏
著者別表示	Yachie Akihiro
雑誌名	平成8(1996)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	1995-1996
ページ	8p.
発行年	1997-03
URL	http://doi.org/10.24517/00051178



新生児・乳児期における好塩基球表面 IgE
ならびに CD38 抗原発現とその機能的意義

(研究課題番号 07670847)

平成7年度～平成8年度科学研究費補助金 (基盤研究C)

研究成果報告書

平成9年3月

研究代表者 谷内江 昭 宏

(金沢大学医学部助教授)

はしがき

最近、気管支喘息やアトピー性皮膚炎など小児アレルギー疾患は顕著な増加傾向にあり、その要因を究明することや疾患の病態を正確に理解することは重要な課題となっている。特に、乳幼児期における喘鳴を伴う気管支炎やアトピー性皮膚炎は難治性であり若い両親の精神的負担となることが多く、病態の理解に基づいた適切な治療法の開発が望まれる。

一方、近年アレルギー性炎症に関する免疫学的、分子生物学的知見の蓄積は著しい。特に、IgEの高親和性受容体分子やその発現機構に関する研究がすすみ、アレルギー感作機構に関する理解が飛躍的に増大した。また、アレルギー性炎症を増強するT細胞の制御機構に関わるT細胞亜群やサイトカインの役割も明らかにされつつある。しかし、新生児・乳児期においてはこれらT細胞の機能は十分でなく、生後早期のアレルギー感作の成立にはT細胞以外の補助的な制御機構が存在することが予想される。

本研究では主として、新生児・乳児の末梢血好塩基球表面でのIgE結合と、高親和性受容体発現をフローサイトメトリーを駆使して検討した。また、その発現調節機構に関して新生児臍帯血中の好塩基球を用いて検討した。さらにアレルギー感作に関与するT細胞機能を明らかにするために、新生児期・乳児期におけるT細胞サイトカイン産生能やB細胞免疫グロブリン産生調節機構に関する研究も同時に施行した。得られた結果より、抗原特異的免疫能が未成熟で、T細胞機能が十分に発達していない乳児期において、好塩基球をはじめとするinnate immune systemによるアレルギー感作成立機序が存在する可能性が強く示唆された。

研究組織

研究代表者：谷内江昭宏（金沢大学医学部助教授）

研究経費

平成7年度：	1,000千円
平成8年度：	1,300千円
計	2,300千円



3000-55148-9
金沢大学附属図書館

研究発表

1) 学会誌等

1. Seki, H., Iwai, K., Kanegane, H., Konno, A., Ohta, K., Ohta, K., Yachie, A., Taniguchi, N., Miyawaki, T.
Differential protective action of cytokines on radiation-induced apoptosis of peripheral lymphocyte subpopulations.
Cellular Immunology 163: 30-36, 1995
2. Yachie, A., Konno, A., Ohta, K., Wada, T., Seki, H., Taniguchi, N., Miyawaki, T.
Delineation of producing ability of IgG and IgA subclasses by naive B cells in newborn infants and adult individuals.
Clin. Exp. Immunol. 102:204-209, 1995
3. Nakao, S., Takamatsu, H., Yachie, A., Itoh, T., Yamaguchi, M., Ueda, M., Shiobara, S., Matsuda, T.
Establishment of CD4⁺ T cell clone recognizing autologous hematopoietic progenitor cells from a patient with immune-mediated aplastic anemia.
Exp. Hematol. 23: 433-438, 1995
4. Kawashima, A., Kimura, A., Katsuda, S., Sumita, R., Yachie, A., Nonomura, A., Nakanishi, I.
Pulmonary vasculitis with hypereosinophilia and episodic pulmonary hypertension: report of three siblings.
Pathol. Int. 45: 66-74, 1995
5. Kanegane, H., Kasahara, Y., Niida, Y., Yachie, A., Sugii, S., Takatsu, K., Taniguchi, N., Miyawaki, T.
Expression of L-selectin (CD62L) discriminates Th1- and Th2-like cytokine-producing memory CD4⁺ T cells.
Immunology 87: 186-190, 1996
6. Kawano, M., Muramoto, H., Tsunoda, S., Koni, I., Mabuchi, H., Yachie, A., Miyawaki, T.
Absence of CD69 expression on peripheral eosinophils in episodic angioedema and eosinophilia.
Am. J. Hematol. 53: 43-45, 1996
7. Konno, A., Nunogami, K., Wada, T., Yachie, A., Suzuki, Y., Takahashi, N., Suzuki, T., Miyamoto, D., Kiso, M., Hasegawa, A., Miyawaki, T.
Inhibitory action of sulfatide, a putative ligand for L-selectin, on B cell proliferation and Ig production.
Int. Immunol. 8: 1905-1913, 1996.
8. Yoshikawa, H., Maruta, T., Yokoji, H., Takamori, M., Yachie, A., Torii, Y.

Degos' disease: radiological and immunological aspects.

Acta. Neurol. Scand. 94: 353-356, 1996

9. Hashimoto, S., Tsukada, S., Matsushita, M., Miyawaki, T., Niida, Y., Yachie, A., Kobayashi, S., Iwata, T., Hayakawa, H., Matsuoka, H., Tsuge, I., Yamadori, T., Kunikata, T., Arai, A., Yoshizaki, K., Taniguchi, N., Kishimoto, T.
Identification of Bruton's tyrosine kinase (btk) gene mutations and characterization of the derived proteins in 35 X-linked agammaglobulinemia families: nationwide study of btk deficiency in Japan.
Blood 88: 561-573, 1996
10. Kurashima, K., Numata, M., Yachie, A., Sai, Y., Ishizaka, N., Fujimura, M., Matsuda, T., Ohkuma, S.
The role of vacuolar H⁺-ATPase in the control of intragranular pH and exocytosis in eosinophils.
Lab. Invest. 75: 689-698, 1996
11. Kawano, M., Tsunoda, S., Koni, I., Mabuchi, H., Muramoto, H., Yachie, A., Seki, H.
Decreased expression of 20-kD homologous restriction factor (HRF20, CD59) on T lymphocytes in Epstein-Barr virus (EBV)-induced infectious mononucleosis.
Clin. Exp. Immunol. in press 1997
12. 谷内江昭宏、谷口 昂
免疫蛍光法
免疫実験操作法、南江堂、東京
2: 765-769, 1995
13. 谷内江昭宏、谷口 昂
フローサイトメトリー
免疫実験操作法、南江堂、東京
2: 777-785, 1995
14. 東馬智子、今野昭宏、笠原善仁、和田泰三、谷内江昭宏
アレルギー疾患にみられる好塩基球 IgE 結合状態のフローサイトメトリー法による評価
アレルギー 45: 627-636, 1996
15. 和田泰三、谷内江昭宏
免疫機能検査
小児内科、東京医学社、東京
1997 印刷中

2) 口頭発表等

1. 斉藤剛克、太田和秀、五十嵐登、谷内江昭宏、山上正彦、谷口昂

- 肺出血を繰り返し、肺胞および腎糸球体に IgM の沈着を認めた 1 症例
第30回小児腎臓病学会 1995年6月 横浜
2. 和田泰三、谷内江昭宏、関秀俊、金兼弘和、宮脇利男、谷口昂
EB ウイルスのリンパ球亜群感染による臨床像の多様化の検討
平成7年度北陸腸内細菌研究会 1995年7月 富山
 3. Kasahara, Y., Yachie, A., Taniguchi, N., Miyawaki, T.
Involvement of reactive oxygen intermediates in Fas-mediated acceleration of neutrophil apoptosis.
9th International Congress of Immunology 1995, 6 San Francisco
 4. 今野昭宏、東馬智子、谷内江昭宏、宮脇利男、谷口昂
乳幼児期における末梢血好塩基球結合 IgE の定量とその臨床的意義
第45回日本アレルギー学会 1995年10月 浦安
 5. 東馬智子、今野昭宏、谷内江昭宏、宮脇利男、谷口昂
喘息発作を繰り返す乳幼児における末梢血好塩基球結合 IgE の定量とその臨床的意義
第32回日本小児アレルギー学会 1995年11月 神戸
 6. 笠原善仁、今野昭宏、太田邦雄、和田泰三、谷内江昭宏、関秀俊、谷口昂、宮脇利男
Fas 抗原誘導好中球アポトーシスにおける活性酸素の意義
第25回日本免疫学会 1995年11月 東京
 7. 今野昭宏、谷内江昭宏、和田泰三、太田邦雄、笠原善仁、関秀俊、谷口昂、宮脇利男
L-セレクチン・リガンド、sulfatide によるBリンパ球分化の抑制
第25回日本免疫学会 1995年11月 東京
 8. 東馬智子、和田泰三、今野昭宏、谷内江昭宏、谷口昂
乳幼児喘息発作と気管支喘息発症との関連
第1回金沢アレルギー研究会 1995年12月 金沢
 9. 谷内江昭宏、今野昭宏、東馬智子、和田泰三、谷口昂
末梢血好塩基球表面 IgE 結合とその血清 IgE 依存性増強について
第99回日本小児科学会学術集会 1996年4月 熊本
 10. 谷内江昭宏、今野昭宏、太田和秀
悪性萎縮性丘疹症 (Degos' syndrome) の一例
第255回日本小児科学会北陸地方会 1996年6月 富山
 11. Kasahara, Y., Wada, T., Niida, Y., Ohno, I., Yachie, A., Seki, H., Miyawaki, T., Taniguchi, N.
Human lymphoproliferative disease with Fas mutation.
ASBMB/ASIP/AAI joint meeting 1996 June New Orleans
 12. 羽田千奈美、伊藤和子、犀川太、谷内江昭宏、小泉晶一
ループスアンチコアグラント (LA) 陽性で、溶血性貧血、TTP 様症状をくりか

えした一例

第255回日本小児科学会北陸地方会 1996年6月 富山

13. 和田泰三、金田尚、布上孝志、新井田要、大野一郎、笠原善仁、谷内江昭宏、関秀俊、谷口昂

EBV 感染が病態形成に関与したFas 異常症の兄妹例

第6回EB ウイルス感染症研究会 1996年6月 東京

14. 今野昭宏、斉藤友治、谷内江昭宏、笠原善仁、大野一郎、太田和秀、和田泰三、布上孝志、関秀俊、谷口昂、宮脇利男

小児急性感染症（ウイルス、細菌）にみられる末梢血単核細胞におけるインターフェロン誘導性 MxA 蛋白の動態

第24回日本臨床免疫学会総会 1996年9月 東京

15. 布上孝志、太田和秀、今野昭宏、和田泰三、谷内江昭宏、笠原善仁、関秀俊、谷口昂

経過中に IgA 腎症を併発した免疫グロブリン異常症の一例

第24回日本臨床免疫学会総会 1996年9月 東京

16. 金田尚、福田晃子、布上孝志、西村良成、和田泰三、新井田要、金兼弘和、大野一郎、笠原善仁、谷内江昭宏、関秀俊、小泉晶一、谷口昂

CD7-CD4+ T 細胞の異常増殖を認めた慢性活動性 EBV 感染症の一例

第28回日本小児感染症学会 1996年11月 東京

17. 和田泰三、谷内江昭宏、東馬智子、今野昭宏、笠原善仁、布上孝志、関秀俊、羅智靖

小児末梢血好塩基球表面の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) 発現とIgE による発現増強

第26回日本免疫学会 1996年11月 横浜

18. 笠原善仁、和田泰三、布上孝志、大野一郎、新井田要、谷内江昭宏、関秀俊、宮脇利男、谷口昂

ヒトリンパ球増殖症候群における Fas 抗原変異

第26回日本免疫学会 1996年11月 横浜

19. Wada, T., Kasahara, Y., Toma, T., Konno, A., Seki, H., Niida, Y., Koizumi, S., Ra, C., Yachie, A.

IgE-dependent augmentation of surface FcεRIα expression on neonatal basophils.

AAAAI/AAI/CIS joint meeting 1997 Feb. San Francisco

研究成果

学会誌等の 1- 3, 5-7, 10, 11 の別冊をもって代える。以下にその概要を記す。

1) 末梢血中のリンパ球領域には強くIgEを結合する細胞群が存在し、マルチカラー解析によるとこのような細胞はCD3⁻,CD20⁻,CD16⁻ で非リンパ球と推定された。さらに、

IgE を強く結合する細胞をセル・ソーターにより単離するとそのほとんどが好塩基球であることが明らかになった。したがって、以下の解析ではパーコール比重遠心法による単離操作を行なうことなしで、全血を用いたフローサイトメトリー法により好塩基球表面抗原の解析を施行した。

2) 好塩基球表面に結合するIgE の蛍光強度は、血清中 IgE 濃度とよく相関した。しかし、低濃度領域では濃度依存性の結合増強が認められたが、IgE 濃度が 300 ng/ml 程度に達すると、蛍光強度はほぼ一定となり、IgE 結合が飽和していると考えられた。正常対照群に比し、アレルギー疾患群では好塩基球結合 IgE は高値を示したが、その多くは血清 IgE 高値を反映していると考えられた。しかし、一部の乳児例では IgE が低値にも関わらず IgE 結合が比較的高値を示す症例があり、好塩基球表面 IgE 結合が血清 IgE 濃度のみにより規定されていない可能性が示唆された。

3) 新生児血清中には IgE がほとんど検出されず (< 10 ng/ml)、臍帯血中にも IgE を結合する細胞は検出できなかった。形態学的には臍帯血末梢血中に好塩基球が含まれることは明らかであり、血清 IgE が極めて低値であるためにフローサイトメトリーによる検出が不可能であると考えられた。そこで、新生児臍帯血を過剰の濃度の IgE と共に反応させ、高親和性 IgE 受容体への IgE 結合を *in vitro* で再現した。短時間の培養で、新生児臍帯血中に IgE を強く結合する細胞群が出現、これらはセル・ソーターを用いた検討により好塩基球であることが確認された。しかし、その発現の程度は成人やアレルギー疾患を有する小児に比し著しく低かった。また、IgE 結合細胞の出現は温度依存性であり、4℃での培養ではごくわずかの発現しか認められなかった。

4) 新生児臍帯血には高親和性 IgE 受容体、FcεRI を発現する細胞が存在することが単クローン抗体を用いた検討により明らかとなった。FcεRI 発現は年齢依存性に増加し、また血清 IgE 濃度とよく相関した。好塩基球表面 IgE 結合とは極めて強い相関を示し、好塩基球表面の IgE 結合が FcεRI 発現の程度により強く規定されていることが示唆された。

5) 好塩基球表面 FcεRI 発現は高濃度の IgE と培養することにより著明に増強した。このような増強は温度依存性であり、また長期培養によりさらに増強された。蛋白合成阻害剤を添加し検討すると、短期培養による受容体発現増強は阻害されないが、長期培養による増強は著明に低下した。また、mRNA 発現を PCR 法により検討すると、FcεRIα 鎖 mRNA の構成的な発現が認められ、IgE との培養によってもその発現程度に著明な増加は観察されなかった。これらの事実より、新生児臍帯血中好塩基球は低濃度の表面 FcεRI を発現し、IgE 結合によりその膜発現が安定化する機構が存在すると考えられた。

6) 新生児期リンパ球機能の検討では、B細胞による IgG サブクラス産生誘導が成人メモリー T細胞の添加によって可能となることを示した。また、IL-4 添加により B細胞の放射線抵抗性が亢進することより、B細胞分化や免疫グロブリン産生における IL-4 の重要性が細胞死の制御の観点からも明らかにされた。すなわち、B細胞により IgE 産生のためにはその分化や生存に関わる種々のサイトカインの存在と、そのようなサイトカインを産生する特定の T細胞亜群の存在が重要であることが確認された。一方、アレルギー反応に関与するサイトカイン産生が、メモリー T細胞の特定の亜群により行なわれていることも示した。これらの事実から、新生児・乳児期においては T細胞を介した IgE 産

生の誘導や、アレルギー反応の増強はおこりにくいのではないかと考えられた。

以上のような知見は、新生児・乳児期におけるアレルギー性炎症の成立機序に関していくつかの重要な示唆を与えてくれる。すなわち、この時期においては抗原刺激に伴い反応する、いわゆる「innate immunity」の役割が極めて重要であり、その後の個体の免疫反応の性質を規定する可能性が考えられる。アレルギー体質を有し、IgE産生が誘導され易い個体においては、当初の低濃度のIgE産生が好塩基球／肥満細胞によるTh2サイトカインの産生やB細胞分化誘導を促し、アレルギー反応の増幅が生体内で進行する可能性が示唆された。今後さらにサイトカイン産生の制御機構を中心に検討すると共に、この観点から難治性アレルギー疾患の予防やあらたな治療の可能性に関して研究を続ける必要がある。