

全血法を用いた好酸球表面抗原発現の検討

著者	谷内江 昭宏
著者別表示	Yachie Akihiro
雑誌名	平成5(1993)年度 科学研究費補助金 一般研究(C) 研究成果報告書
巻	1992-1993
ページ	9p.
発行年	1994-03
URL	http://doi.org/10.24517/00051179



全血法を用いた好酸球表面抗原発現の検討

研究課題番号 04670583

平成5年度科学研究費補助金（一般研究C）

研究成果報告書

平成6年3月

研究代表者 谷内江 昭 宏

（金沢大学医学部助手）

は し が き

近年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎等、種々のアレルギー性炎症疾患の病態形成に好酸球が重要な役割を果たすことが明かになってきた。特に、炎症局所に遊走した好酸球は、種々の化学伝達物質や組織傷害性顆粒蛋白を放出し、炎症組織に損傷を与えることが知られている。一方、好酸球の骨髄幹細胞からの分化、成熟に関しても複数のサイトカインの関与が明かにされている。好酸球表面には種々の表面抗原が発現されており、なかでも CD11b などの接着関連抗原は好酸球活性化と共にその発現が増強することが知られている。さらに、CD69 抗原は炎症局所での活性化された好酸球でのみ選択的に発現することが示唆されており、その発現には他の接着関連抗原とは異なる機能的意義がある可能性がある。これらの表面抗原の解析は、好酸球の活性化の指標として有用であると考えられるが、その目的で分離好酸球を用いるには多量の検体採取が必要であり、また比重遠心法では特定の比重分画のみを選択的に採取する可能性や、分離操作により表面抗原の変化を誘導する可能性もある。

本研究では末梢全血を用いて、好酸球表面抗原発現を解析し、その臨床的意義を検討した。特に、CD11b, CD69 抗原などの発現を種々のアレルギー疾患、好酸球増多性疾患で検討し、正常者における抗原発現と比較検討した。これら好酸球表面抗原発現の調節機構を明かにするために、種々のサイトカインの及ぼす影響を、末梢全血を用いた培養系で検討した。さらに、これらの成果をふまえて、新生児・乳児期におけるアレルギー性炎症の発症機序を解明するために、この時期の T リンパ球によるサイトカイン産生調節機構をスーパー抗原刺激系を用いて検討中である。

研究組織

研究代表者：谷内江 昭宏（金沢大学医学部助手）

研究経費

平成4年度：	1、400千円
平成5年度：	800千円
計	2、200千円

研究発表

1) 学会誌等

1. Yachie, A., Takano, N., Ohta, K., Uehara, T., Fujita, S., Miyawaki, T., Taniguchi, N.
Defective production of interleukin-6 in very small premature infants in response to bacterial pathogens.
Infect. Immun. 60:749-753, 1992.
2. Ohta, K., Takano, N., Seno, A., Yachie, A., Miyawaki, T., Yokoyama, H., Tomosugi, N., Kato, E., Taniguchi, N.
Detection and clinical usefulness of urinary interleukin - 6 in the diseases of the kidney and the urinary tract.
Clin. Nephrol. 38:185-189, 1993.
3. Morise, T., Takeuchi, Y., Takeda, R., Karayalcin, U., Yachie, A., Miyawaki, T.
Increased plasma endothelin levels in Kawasaki disease: a possible marker for Kawasaki disease.
J. Vascul. Dis. Sep. 719-723, 1993
4. Tsuji, T., Nibu, R., Iwai, K., Kanegane, H., Yachie, A., Seki, H., Miyawaki, T., Taniguchi, N.
Efficient induction of immunoglobulin production in neonatal naive B cells by memory CD4⁺ T cell subset expressing homing receptor L-selectin.
J. Immunol. in press, 1994.
5. 市村 藤雄、旭 満里子、古瀬 裕、前田 大蔵、埜崎 定子、竹田 和喜、平戸久美子、立花 誉司、中島 恵美、谷内江昭宏
気管支喘息と喘息治療薬
月刊薬事 34:167-180、平成4年
6. 谷内江昭宏、和田 英男、岩井 和之、太田 和秀、関 秀俊、市原 強、宮脇 利男、谷口 昂、前川 尚三
乳児過好酸球症候群 (HES) の一例
アレルギーの臨床 13:430-433、平成5年
7. 谷内江昭宏、東馬智子、宮脇利男、谷口 昂
好酸球表面 CD11b 抗原の発現と好酸球の活性化

日本臨床 51:593-597、平成5年

8. 瀬沢 英幸、瀬野 晶子、大野 高史、谷内江昭宏、関 秀俊
谷口 昂、清酒 外文、高野 信彦、赤尾 信明、近藤力王至
好酸球性心外膜炎を呈した犬回虫症の1例
小児科臨床 46:2591-2594、平成5年
 9. 谷内江昭宏、宮脇利男
メモリー細胞
内科 71:1307、平成5年
 10. 丹生龍太郎、谷内江昭宏、榊原 方枝、太田 和秀、関 秀俊
宮脇利男、谷口 昂
急性骨髄性白血病寛解導入中に発症した toxic shock syndrome
の1例：急性期炎症性サイトカイン値の変動
日本臨床免疫学会会誌 16:376-382、平成5年
 11. 谷内江昭宏、丹生龍太郎、宮脇利男
メモリーT細胞はスーパー抗原に反応しなくなる
臨床免疫 25:1211-1216、平成5年
 12. 丹生龍太郎、谷内江昭宏、宮脇利男
新生児スーパー抗原刺激リンパ球活性化の特異性
臨床免疫 印刷中 平成6年
- 2) 口頭発表等
1. 谷内江昭宏、東馬 智子、辻 隆男、谷口 昂、赤尾 信明
近藤力王至、洲崎 健、村上 巧啓
Toxocara canis 感染により著明な好酸球増多を認めた2症例
第4回日本アレルギー学会春季臨床集会 1992年 4月 東京
 2. 東馬 智子、谷内江昭宏、谷口 昂
末梢血好酸球表面のCD11bならびにCD69抗原発現と好酸球活性化
第4回日本アレルギー学会春季臨床集会 1992年 4月 東京
 3. 住田 亮、岩井 和之、西尾 夏人、辻 隆男、新谷 尚久、上原
貴博、金兼 弘和、谷内江昭宏、関 秀俊、小泉 晶一、谷口 昂
好酸球増多を伴った原発性肺高血圧症の同胞例
第95回日本小児科学会 1992年 5月 松山
 4. 齊藤 友治、谷内江昭宏、丹生龍太郎、辻 隆男、上原 貴博、

宮脇 利男、谷口 昂、上野 康尚

周産期における母体血ならびに新生児末梢血中 IL-6 値の変動とその臨床的意義

第20回臨床免疫学会 1992年 9月 大宮

5. 谷内江昭宏、東馬 智子、谷口 昂、洲崎 健、村上 巧啓
好酸球増多症における表面CD69抗原発現とその臨床的意義について

第42回日本アレルギー学会 1992年 10月 仙台

6. 谷内江昭宏、丹生龍太郎、辻 隆男、宮脇 利男、谷口 昂
新生児CD4⁺T細胞のスーパー抗原に対する応答の特異性

第22回日本免疫学会総会 1992年 11月 名古屋

7. 谷内江昭宏、辻 隆男、丹生龍太郎、岩井 和之、宮脇 利男
谷口 昂

新生児未熟B細胞のIgGおよびIgA産生誘導—L-selectin陽性メモリーCD4⁺T細胞による調節

厚生省特定疾患免疫不全症候群調査研究班 1993年1月 東京

8. 岩井 和之、辻 隆男、丹生龍太郎、谷内江昭宏、宮脇 利男
谷口 昂

伝染性単核症活性化T細胞のFas抗原、bcl-2発現とアポトーシス死

厚生省特定疾患免疫不全症候群調査研究班 1993年1月 東京

9. 谷内江昭宏、辻 隆男、岩井 和之、和田 英男、関 秀俊
宮脇 利男、谷口 昂

Hypereosinophilic syndrome (HES) における好酸球表面CD69抗原発現と形態学的特徴

第96回日本小児科学会 1993年 4月 横浜

10. 辻 隆男、谷内江昭宏、丹生龍太郎、岩井 和之、宮脇 利男
谷口 昂

メモリーCD4⁺T細胞亜群(CD45RO⁺, TQ1⁺)による新生児B細胞のIgG, IgA産生細胞への分化誘導

第96回日本小児科学会 1993年 4月 横浜

11. 丹生龍太郎、榊原 方枝、谷内江昭宏、関 秀俊、宮脇 利男
谷口 昂

Toxic shock syndrome 急性期における炎症性サイトカインの変動

- 第21回臨床免疫学会 1993年9月 札幌
12. 岩井 和之、宮脇 利男、上原 貴博、谷内江昭宏
免疫担当細胞における Fas 抗原および bcl-2 蛋白発現の多様性とそ
の意義
- 第23回日本免疫学会 1993年 11月 仙台
13. 太田 和秀、瀬野 晶子、谷内江昭宏、宮脇 利男、谷口 昂
学校検尿における尿中 IL-6 測定の意義
- 第28回日本小児腎臓病学会 1993年5月 福島
14. 谷内江昭宏、辻 隆男、谷口 昂
過分葉好酸球の著明な増加を示した乳児 HES の一症例
- 第5回日本アレルギー学会春季臨床大会 1993年 5月 東京
15. 榊原 方枝、市原 強、小西 道雄、丹生龍太郎、篠田 和子
谷内江昭宏、小泉 晶一、谷口 昂
急性骨髄性白血病の寛解導入療法中に発症した toxic shock
syndrome の2例—炎症性サイトカインの経時的変化—
- 第35回日本小児血液学会 1993年 9月 佐賀
16. Miyawaki, T., Seki, H., Taniguchi, N., Yachie, A.
Role of bcl-2 expressed differently on lymphocytes, monocytes and
neutrophils in anti-Fas-inducible apoptotic cell death.
Combined meeting of the 8th International Lymphokine Workshop and
the 4th International Workshop on Cytokines. 1993年10月大阪
17. 金兼 弘和、新谷 尚久、大野 一郎、谷内江昭宏、宮脇 利男
谷口 昂
乳児サイトメガロウイルス単核症の3例
- 第25回日本小児感染症学会 1993年11月 仙台
18. 辻 隆男、谷内江昭宏、丹生龍太郎、岩井 和之、宮脇 利男
谷口 昂
L-selectin 陽性メモリーCD4⁺T細胞による新生児B細胞のIg産生
誘導
- 第23回日本免疫学会 1993年11月仙台
19. 丹生龍太郎、谷内江昭宏、辻 隆男、金兼 弘和、岩井 和之
宮脇 利男、谷口 昂
スーパー抗原刺激による新生児 CD4⁺T細胞 Vβ レパートリーの選択

的活性化とメモリー CD4⁺ T細胞の不応答

第23回日本免疫学会 1993年11月 仙台

20. 谷内江昭宏、辻 隆男、金兼 弘和、住田 亮、新谷 尚久
谷口 昂

喘鳴を伴う乳幼児の気道狭窄病変評価におけるCT画像の有用性について

第20回北陸アレルギー懇話会 1993年10月 金沢

21. 金兼 弘和、谷内江昭宏、宮脇 利男、谷口 昂

メモリーT細胞亜群のサイトカイン産生の機能と特性

厚生省特定疾患免疫不全症候群調査研究班 1993年12月東京

研究成果

学会誌等の5,6,9-11の別冊をもって代える。以下にその概要を記す。

1) 一般に末梢血では好酸球表面にCD69抗原の発現は殆ど認められない。CD11bは構成的に発現されているが、喘息、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患ではその発現が有意に増強している。さらに、CD11bの発現増強は末梢血好酸球数とは相関せず、アレルギー疾患では好酸球数の減少している症例でもその発現が増強していることなどから、好酸球数に比べてより活性化の指標として有用であると考えられた。ただし、構成的に発現されている抗原であること、個体によりその発現量に差があることなどより、絶対値そのものには客観性が少なく、その変動を観察することが重要であると考えられた。例えば、著明な好酸球増多を示した例では当初、CD11b発現は著しい高値を示したが、ステロイド投与により好酸球数が減少すると共に急激に改善した。

2) 正常対照や通常のアレルギー疾患(気管支喘息ならびにアトピー性皮膚炎)患児では好酸球表面CD69抗原発現は全く認められず、好酸球性心嚢炎患児の心嚢液中好酸球や、アレルギー性鼻炎患児鼻汁中の好酸球表面には強いCD69抗原発現が認められた。さらに、著明な好酸球増多を示す症例(hypereosinophilic syndrome)では一部の末梢血好酸球に強いCD69発現が認められた。すなわち、低比重好酸球として一様に考えられた好酸球集団のなかに、この抗原発現の有無により、異なる亜集団が存在することが示唆された。

3) セル・ソーターにより好酸球を分画、CD69抗原を強く発現するもの

と発現しない亜群の形態を比較検討した。両亜群とも一般に好酸球分泌顆粒の大小不同ならびに顆粒の減少が目立ち、いわゆる低比重好酸球の形態を示した。しかし、CD69 陽性亜群は過分葉傾向が強く、電子顕微鏡による観察では細胞内顆粒の大小不同が著明、かつ脱顆粒が顕著に認められた。ステロイド治療による好酸球の減少に伴い、過分葉傾向は消退、さらにCD69 陽性亜群は著明に減少した。

4) CD69 抗原発現の誘導を全血法を用いて検討した。IL-3, IL-5 ならびに GM-CSF の添加により好酸球表面 CD69 抗原が1 - 2 時間の内に強く誘導された。IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 あるいは IFN- γ にはこのようなCD69 発現誘導能は認められなかった。さらに、IL-3, IL-5 ならびにGM-CSFにより、CD11b 発現の増強も同様の経時的変化で誘導された。

5) 以上の事実より、生体内活性化により好酸球形態のみならず、細胞表面抗原発現の著明な変化が起こることが示された。このような好酸球表面抗原発現の変化は、疾患の種類や好酸球の由来により大きく異なること、過好酸球症候群では末梢血であってもその一部に強い CD69 抗原発現が認められることより、生体内で高濃度のサイトカイン刺激により好酸球活性化が起こると、その程度によりCD11b の発現増強、さらに CD69 の発現誘導が起こると考えられた。したがって、好酸球形態とともにその表面抗原発現を検討することは、種々の好酸球増多性疾患における好酸球活性化能を有するサイトカイン (IL-3, IL-5, GM-CSF など) の生体内産生を評価する有用な指標となると考えられた。

6) 新生児期・乳児期のT細胞機能は成人と比較して大きく異なると考えられ、そのような差異はT細胞の抗原反応性やサイトカイン産生能により規定されると考える。またこのようなサイトカイン産生パターンの相違が、この時期におけるアレルギー性疾患の特徴的病態に反映されている可能性がある。今回はスーパー抗原刺激系を用いて、新生児と成人T細胞の抗原刺激による活性化機構の差異を検討した。

7) 成人T細胞に比し、新生児T細胞は著明なスーパー抗原反応性を示し、強い細胞増殖とサイトカイン産生を認めた。このような新生児T細胞の活性化の特徴は、主として継続的なIL-2 産生と、スーパー抗原特異的 V β レパートリーの選択的増殖によることが示された。このような差異がどのような機構によりおこるかについて、さらに検討中である。

以上、好酸球の活性化に関わるサイトカインと、好酸球活性化抗原の体内発現が明かとなったが、これらの抗原発現が活性化好酸球の炎症細胞としての機能発現にどのように関与しているのか、すなわちT細胞由来サイトカインの好酸球活性化、遊走、炎症組織への浸潤における役割に関しては不明の点が多い。今後、これらサイトカインによる好酸球の選択的遊走、浸潤機構に関して検討が必要である。また、新生児・乳児期におけるT細胞活性化機構の特徴と、サイトカイン産生能の偏りがこの時期のアレルギー疾患の病態形成にどのように関与しているか極めて興味深い。