

学位授与番号	医博甲第1177号
学位授与年月日	平成7年3月31日
氏名	藤岡 央
学位論文題目	Preparation of specific antibodies against murine IL-1receptor antagonist (IL-1ra) and the establishment of IL-1ra as an endogenous regulator of bacteria-induced fulminant hepatitis in mice
論文審査委員	主査 教授 村上 清史 副査 教授 小林 健一 教授 山本 健一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

インターロイキン1レセプターアンタゴニスト (IL-1ra) は、インターロイキン (IL-1) と競合結抗することにより、IL-1の活性をブロックする蛋白として知られている。本研究では、中和活性のある抗マウスIL-1ra・モノクローナル抗体 (抗mIL-1ra・mAb) を作製し、*P. acnes*誘導劇症肝炎モデルにおけるIL-1raの体内動態を調べ、その産生の意義を検討した。

遺伝子組換えmIL-1raを用いてアルメニアンハムスターを免疫し、その脾細胞とマウス骨髄腫NS-1細胞を細胞融合し、3つのIgG産生クローン (H2, H4, H6) を得た。それぞれのクローンを腹水化死、硫酸塩析およびプロテインGを用いて抗体を精製した。いずれのクローンもウエスタンブロット法、胸線細胞増殖法にて高い特異性と強い中和活性を示した。また、H4とウサギ抗mIL-1raポリクローナル抗体の組み合わせで、mIL-1raのELISA法を確立した。*P. acnes*誘導劇症肝炎モデルにおける血中のmIL-1raの経時的変化をこのELISA法を用い測定し、他の炎症性サイトカインと比較したところ、*P. acnes*投与のみではIL-1raは血中で検出できなかったが、*P. acnes*投与後7日目にLPSを投与するとIL-1raはTNF, IL-6, IL-1などのサイトカイン産生に遅れて3-24時間にわたって血中で検出でき、最大値はIL-1 α , β の約20倍を呈した。肝組織における免疫染色では、正常マウスにおいてどのサイトカインもほとんど検出できないが、*P. acnes*投与後3時間後、およびLPS投与前においてIL-1ra, IL-1 α , β , TNF α は肝細胞で陽性となり、LPS投与後3時間後においてはIL-1ra, IL-1 α , TNF α は肝細胞で陽性、IL-1 β は主にクッパー細胞、浸潤白血球で陽性となった。更にこの肝炎モデルに、H2を生体投与することにより内因性IL-1raを抑制すると、有意な生存率の低下、トランスアミラーゼ値の上昇が認められた。

以上の結果より*P. acnes*誘導劇症肝炎モデルにおいてIL-1raが産生され、生体内で実際にIL-1の活性を調節し炎症を制御していることが明らかになった。

本研究では免疫学的手法を用い、IL-1raの体内動態、病態抑制作用を明らかにした貴重な労作と評価された。