Preparation of specific antibodies against murine IL-1 receptor antagonist(IL-1ra)and the establishment of IL-1ra as an endogenous regulator of bacteria-induced fulminant hepatitis in mice

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15291

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 establishiment 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，硫安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ポリクロナー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，LSP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，トランスアト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。