

気管支喘息患児末梢血単核細胞からの Interleukin 1 (IL 1) 産生について —ダニ抗原, ウシ胎児血清, リポ多糖体添加の効果—

同愛記念病院小児科 (現: 都立豊島病院小児科)

松井 猛彦¹⁾

埼玉医科大学小児科

野間 剛²⁾

同愛記念病院小児科

馬場 実³⁾

東京医科歯科大学小児科

矢田 純一⁴⁾

Key Words : interleukin 1, ダニ抗原, 小児気管支喘息

要 旨

気管支喘息小児と健康人の単核細胞からの Interleukin 1 (IL 1) 産生についての検討を行った。単核細胞を AB 型血清添加培地を用いて培養した場合、その培養上清には IL 1 活性は認められなかったが胎児牛血清 (fetal calf serum : FCS) 添加培地を用いた場合 IL 1 活性の増加が認められ、患者では健康人と比較してその活性は亢進していた。患者では FCS 中の抗原に反応する T 細胞が健康人よりも多いためと考えられた。ダニ抗原物質 (Dermatophagoides farinae : Df) あるいは lipopolysaccharide (LPS) で刺激した場合、培養に AB 型血清使用時でもその上清中に IL 1 活性が認められるようになり、FCS 使用時にはさらに高い IL 1 活性がみられた。Df と LPS の効果は患者と健康人の間で差を認められなかったため、Df, LPS の作用は抗原としてより非特異的刺激物質としての作用と考えられた。

ウシ血清や Df が単核細胞から IL 1 の産生を誘導することは、アレルゲンとされている抗原がその機序によっても炎症反応をもたらす可能性を示唆している。

1. はじめに

IL 1 はマクロファージ由来の多彩な生物活性を有する液性因子であり、急性炎症反応の誘導因子として中心的な役割を担うと同時に、リンパ球に作用し免疫反応に重要な位置を占めていることが近年明らかにされつつある。

著者らは今回、アレルゲンが IL 1 産生にどのようにかわるかを知らる目的で、ダニ抗原によって感作されている気管支喘息患児における末梢単核細胞からの IL 1 産生について検討を試みた。

2. 対 象

対象は感染症合併の否定された Dermatophagoides

farinae (Df) に対する RAST スコア 4 の気管支喘息小児 13 名の末梢血単核細胞を用いた。気管支喘息の診断は臨床症状、血清 IgE 値、Df 特異的 IgE : RAST スコア、アレルギー皮膚試験、胸部レ線像などによった。

対照として相当年齢の上記検査項目が陰性の非アトピー健康小児 9 名の末梢血単核細胞を用いた。

3. 方 法

1) IL 1 の産生

患児へパリン加末梢血から Conray-Ficoll 比重遠沈法で分離した単核細胞 1×10^6 個を 5 ml の培養チューブ (Falcon 社製) を用いて $10 \mu\text{g/ml}$ のダニ抗原 Dermatophagoides farinae (Df) (鳥居社製) あるいは $20 \mu\text{g/ml}$ の LPS (lipopolysaccharide) (Sigma 社製) の添加ないし非添加で、10% FCS (fetal calf serum) あるいは非働化 AB 型血清加 RPMI1640 培地 1 ml 中に 8 時間培養し、3 回洗浄しさらに 24 時間培養後その

Abbreviations : BSA : bovin serum albumin; Df : Dermatophagoides farinae; FCS : fetal calf serum, IL1 : interleukin 1; LPS : lipopolysaccharide

上清を採取し、そのIL 1活性を測定した。

2) IL 1活性の測定

4～6週齢のC3H/HeNCrjマウスの胸部細胞 1×10^6 に被検培養上清を50%になるように添加し、96穴平底プレートを用いて10% FCS加RPMI1640にて72時間培養後、 $0.5 \mu\text{Ci}^3\text{H-TdR}$ を添加し6時間培養後の $^3\text{H-TdR}$ の取り込みを測定した。IL 1活性を対照培養液を添加したものと比較して次のように評価した。

IL 1活性 (S. I. : stimulation index)

$$= \frac{\text{c. p. m. with supernatant}}{\text{c. p. m. with control medium}}$$

3) 成績の評価

得られた成績はtwo tailed student t-testにより検定した。

4. 結 果

1) IL 1の産生に対する添加血清の効果

培養液 RPMI1640に10%のFCSあるいは非働化 AB

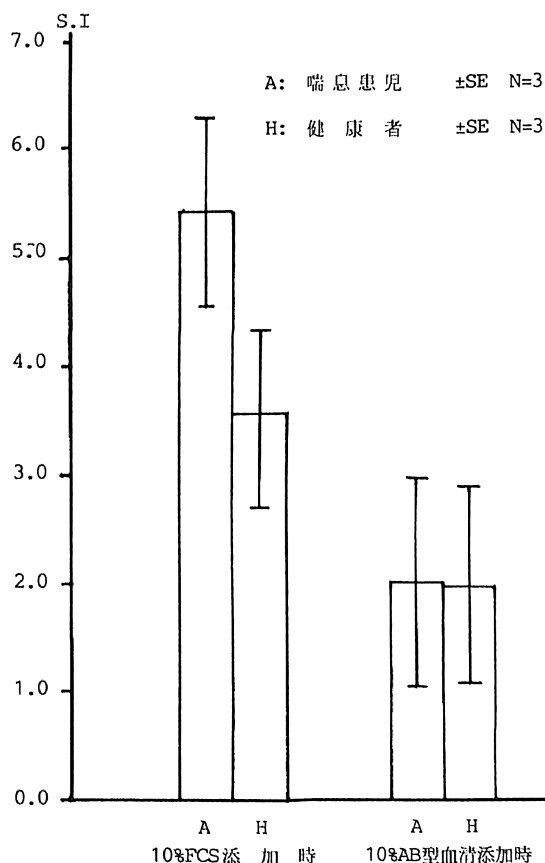


図1 培地に添加する血清の単核細胞からのIL1産生への効果

型血清を添加し無刺激で24時間培養した後その上清を採取し、IL 1活性を測定したところ、非働化AB型血清を用いたとき上清のIL 1活性はほとんど認められなかったが、FCSを用いた場合IL 1産生の誘導が認められた(図1)。これは患児の方が健康人より著しかった。これはBSA (bovine serum albumin) などFCSに含まれる食物抗原などにT細胞が反応し単球からのIL 1産生を誘導したものではないかとも考えられ、患者ではその感作状態が強いことが示唆された。

2) LPSあるいはダニ抗原物質刺激単核細胞からのIL 1産生についての検討

AB型血清を用いて培養した場合、LPSあるいはDf抗原刺激により同程度のIL 1産生の増加が認められた(図2)。Df抗原で刺激した場合、患者と健康人とはほとんど差を認めなかったことから、Dfは抗原としてよりはむしろ非特異的的刺激物質として作用している可能性が示唆された。

FCSを用いて培養した場合、患者、健康人ともにDf抗原で刺激するとFCSのみの場合よりも健康人のIL 1産生は増加を認めた(図3)。

LPSで刺激した場合にも同様の所見を認めた(図4)。

5. 考 察

気管支喘息児末梢血単核細胞からのIL 1産生は、ダニ抗原あるいはLPS刺激による場合健康人と比較して、

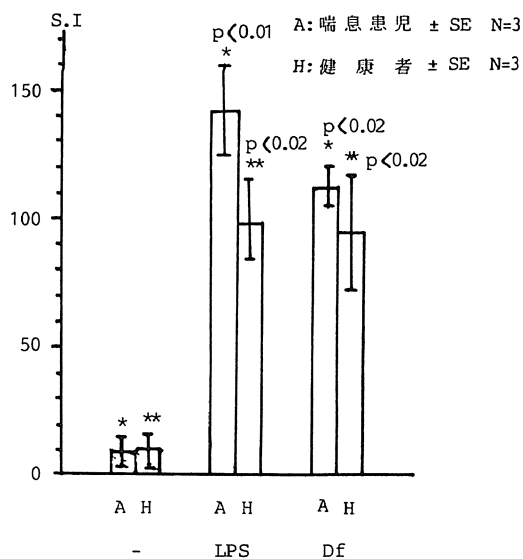


図2 リポ多糖体ないしダニ抗原添加による単核細胞からのIL1産生誘導 (10% AB型非働化血清加RPMI1640培地使用)

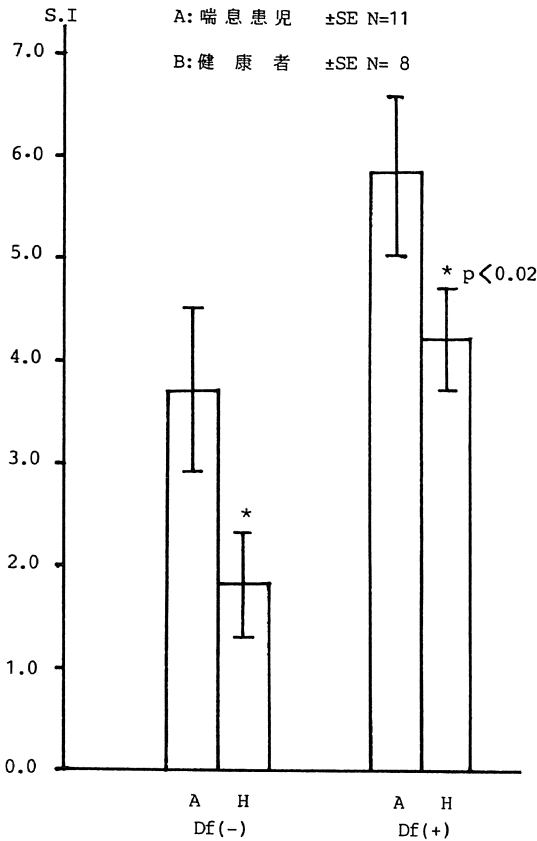


図3 FCS添加培地で培養している単核細胞からのIL1産生に対するグニ抗原刺激の効果

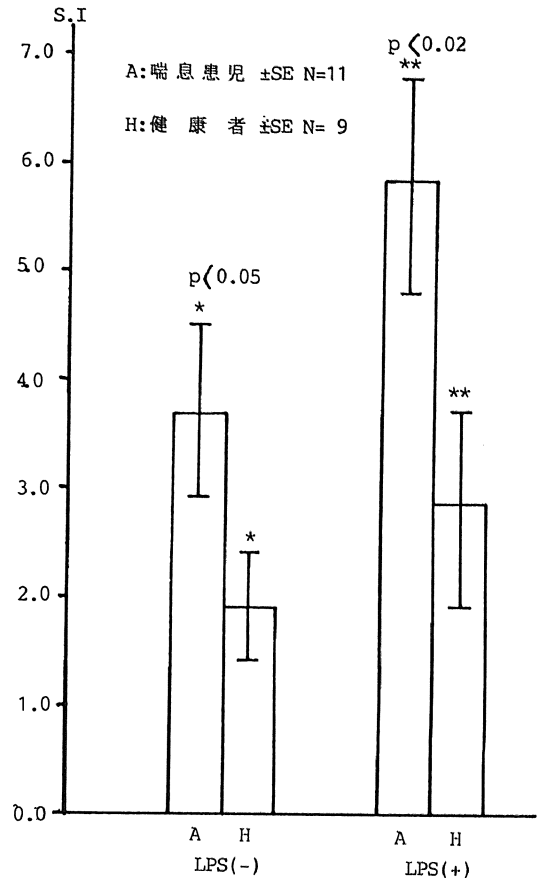


図4 FCS添加培地で培養している単核細胞からのIL1産生に対するLPS刺激の効果

ほとんど差を認めなかった。これはグニ抗原自体、抗原としてよりはむしろ非特異的の刺激物質としてT細胞ないし単球に作用していると考えられた。培地にFCSを添加しただけでもIL1産生の亢進が認められたが、それが気管支喘息患者で著しかったことを考えると、BSAなどFCSの中に含まれる種々の蛋白にT細胞が反応して単球を活性化し、IL1の産生を誘導したことによると予想される。そういった意味ではアトピー性疾患として気管支喘息に罹患している患者では異種蛋白に対するT細胞の反応性が亢進している可能性があることが示唆された。今後これらを明らかにするため、対象とする健康人および患者についてグニ抗原およびFCSに対する感作状態をさらに検討し、解析する必要がある。

グニ抗原で刺激した場合、AB血清を用いると健康者に比較して患者ではIL1産生が軽度多い傾向を認めるもののほとんど差を認めなかった。これはグニ抗原が

抗原として働くよりはリンパ球のmitogenないし単球の非特異的の活性化因子として作用する部分が大部分であることを示しているものと思われる。すでに気管支喘息患者から得られたベトリ皿付着細胞にグニ抗原(Df)を添加し培養するとその培養上清にIL1活性が認められ、健康人と比較して大差無かったことからDf抗原は単球活性化因子として付着細胞に直接作用を持っているとの報告があるが²⁾、今回のわれわれの単核細胞を用いた成績もそれと一致した。従ってLPSあるいはDfは直接マクロファージに作用しIL1活性を誘導している部分が主体と考えられる。IL1産生の機構にはT細胞を介する部分も存在するわけであるが³⁾、マクロファージへの直接作用が大きい場合、その反応を測定することは困難と考えられる。これらの問題点を解決するために、他に報告したように、われわれはDf抗原を直接マクロファージに作用させないで、非付着細胞(非マク

ロファージ細胞群)をあらかじめ Df 抗原で pulse した後抗原をよく洗浄し、その細胞の分泌する液性因子で付着細胞を pulse し、よく洗浄した後培養上清中の IL1 活性を測定してみた⁴⁾。その結果喘息患児の細胞では健康者に比較して有意の IL1 活性の亢進が認められ、さらにこの反応の誘導には Df 抗原に特異的であった⁴⁾。これらの事実から考えると、ダニ抗原は直接マクロファージに作用して IL1 を産生する部分(大部分)と、おそらく抗原提示細胞を介してそのシグナルが伝達され、T細胞が分泌する液性因子を介して IL1 産生が誘導される部分が存在することが考えられた。実際、喘息患児では後者の系が亢進していた⁴⁾。

本稿の要旨は第14回日本臨床免疫学会総会(1986年、東京)で報告した。

文 献

- 1) Cavaillon J. M, Dandeu, J. P, Mecheri, S. and David, B : Presence of IL1 activity in the supernatant of human monocytes challenged with purified allergenic constituents. *Int. Archs Allergy appl. Immun.*, 75, 113-119, 1984.
- 2) Enk, C. and Mosbech, H. : Interleukin-1 production by monocytes from patients with allergic asthma after stimulation in vitro with lipopolysaccharide and Dermatophagoides pteronyssinus mite allergen. *Int. Archs Allergy Appl. Immun.*, 85, 308-311, 1988.
- 3) Palacios, R. : Concanavalin A triggers T lymphocytes by directly interacting with their receptors for activation. *J. Immun.* 128, 337-342, 1982.
- 4) Ichikawa, K., Noma, T., Matsui, T., Baba, M., Yata, J. : Induction of interleukin 1 (IL-1) production from adherent cells by Df-pulsed nonadherent cells in Df-sensitized asthmatic children. *NER Allergy Proc.*, 9, 452, 1988.

PRODUCTION OF INTERLEUKIN 1 (IL1) FROM MONONUCLEAR CELLS STIMULATED WITH FETAL CALF SERUM, MITE ANTIGEN AND LIPOPOLYSACCHARIDE-COMPARISON BETWEEN ASTHMATIC CHILDREN AND HEALTHY INDIVIDUALS.

Takehiko Matsui¹⁾, Takeshi Noma²⁾, Minoru Baba³⁾, Junichi Yata⁴⁾

1) Doai Fraternity Memorial Hospital (Toshima Tokyo Metropolitan General Hospital), 2) Saitama Medical School, 3) Doai Fraternity Memorial Hospital, 4) Tokyo Medical and Dental University

Interleukin 1 (IL1) production by peripheral blood mononuclear cells (MNC) from asthmatic children and healthy individuals was studied. IL1 production was observed, when MNC were cultured in the medium supplemented with fetal calf serum, but not when cultured with human serum of AB blood type. IL1 production in this condition was more prominent in asthmatic children than in healthy controls. This suggested that asthmatic children had more T cells sensitized to the antigens contained in FCS than the controls. When MNC were stimulated with Dermatophagoides farinae (Df) or lipopolysaccharide (LPS) in the medium with serum of AB blood type, IL1 production was induced in both the patients and the controls in the same degree. More IL1 was produced by MNC cultured with FCS in stimulation with Df or LPS. These observations suggest that LPS and Df have shown the effect as nonspecific activators rather than as antigens.

Induction of IL1 production from MNC by stimulation with calf serum acting as an antigen and with mite preparation acting as a nonspecific activator or antigen suggested that involvement of IL1 induced by such mechanism in the inflammatory reaction in allergy.