

〔速報〕

Rush Immunotherapy の末梢血単核球培養上清中 Interleukin-5量に及ぼす影響について

埼玉医科大学第二内科学教室

永田 真 芝崎正順 坂本芳雄
山本恵一郎 土肥 豊

減感作療法 (immunotherapy, IT) の interleukin (IL)-5産生に及ぼす影響についての報告はこれまでに見当たらない。筆者らは急速減感作療法 (rush IT, RI) の末梢血単核球培養上清中 IL-5量に与える効果について検討した。ダニ (*Dermatophagoides farinae*, Df) IgE 抗体陽性気管支喘息患者間において、単核球からの IL-5産生には個体間での差異が大であり、また RI 施行の有無に拘らず Df 添加によっても IL-5産生には変化が生じなかった。同一症例における RI 施行前後の検討では、RI 施行16週後において、施行前および4週後のそれと比較して単核球培養上清中 IL-5量が明らかに減少する症例が見出された。IT が真に IL-5産生を抑制し得るか否かについて更なる検討が必要と考えられる。

Key words: cytokine — immunotherapy — interleukin-5 — mononuclear cells — rush immunotherapy

はじめに

減感作療法 (immunotherapy, 以下 IT) は、原因抗原が明確な気管支喘息やアレルギー性鼻炎に対する抗原特異的な治療手段として従来から広く行われてきた。IT の臨床的有用性は多くの二重盲検試験の成績からも明らかと考えられるが、その奏功機序については未だに不明な点が少ない。

アレルギー性気管支喘息の病態において、好酸球は effector cell として遅発型喘息反応の形成あるいは気道過敏性の亢進に寄与するなど重要な役割を担っていることが認識されている。近年は特に、好酸球の気道への浸潤や生存期間あるいはその機能の調節因子として、interleukin (IL)-5に代表される主として T リンパ球に由来するサイトカインの意義が注目を浴びる趨勢である。筆者らは、IT が好酸球性気道炎症に関与し得るサイトカインの産生に影響を及ぼすか否かについて着目し、既に急速減感作療法 (rush IT, 以下 RI) が

喘息患者末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cells, 以下 PBMC) からの特異抗原刺激による好酸球遊走性サイトカインの産生を抑制することを見出した¹⁾²⁾。本稿では、IT の PBMC からの IL-5産生に対する影響についての検討を試みたのでその成績を報告する。

対象および方法

1. 対象および研究デザイン

ダニ (*Dermatophagoides farinae*, 以下 Df) 特異的 IgE 抗体が陽性であり、日本アレルギー学会重症度判定基準上中等症で、かつ sampling 前2週以内において全身性ステロイド剤の投与がなされていない気管支喘息患者11名を対象とした。まず IT 施行の有無別で IL-5産生に差異があるか否かを検討する目的で、非 IT 施行患者4名 (年齢16~42歳, 平均31.5歳) ならびに RI 施行の後1年以上の維持療法を継続中の長期 IT 施行患者3名 (年齢22~42歳, 平均34.0歳) の両群について実験を行った。次いで4名 (年齢16~32歳, 平均24.0歳) について、同一症例における RI 施行前、4週後および16週後までの期間における IL-5産生の変化について検討した。RI は既報³⁾⁴⁾のごとく、鳥居薬品

Received: September 9, 1992

Accepted: December 25, 1992

Abbreviations: Df *Dermatophagoides farinae*;
HD house dust; IL interleukin; IT immunotherapy;
PBMC peripheral blood mononuclear cells; RI rush immunotherapy

製の house dust (HD) 抗原液を用い、入院管理下で皮内反応閾値の1/10の濃度から開始し1日に数回抗原量を漸増させながら皮下注射を反復し、7日間でHD 10倍液に到達させた。RI 終了後は外来にて原則として2週に1回の維持注射を反復・継続した。

2. PBMC の分離・調整

末梢血をヘパリン存在下にて採取し、Ficoll-Paque 比重遠心法にてPBMCを分離した。リンパ球の純度は全ての実験において90%以上であった。10%非働化 fetal calf serum, 100U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin, 2mM/ml L-glutamineを添加した RPMI-1640 medium を用い最終細胞濃度を 1×10^6 /ml に調整した。これを無刺激あるいは *Df* 抗原（鳥居薬品, 最終濃度10ng~10 μ g/ml) を添加し, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 下で96時間培養したのち上清を回収し, IL-5測定まで-80 $^{\circ}$ Cにて保存した。

3. IL-5測定法

PBMC 培養上清中 IL-5量は, サントリー生物医学研究所より供与を受けたキットを用い, サンドイッチ

ELISA 法⁵⁾により測定した。

結 果

1. IT 施行の有無別の PBMC 培養上清中 IL-5量

この実験の際の IL-5の測定感度は125pg/ml 以上であった。無刺激での培養上清中 IL-5量は個人間での差異が極めて大であり, 長期 IT 施行患者ならびに非 IT 患者の両群間での差は見出し得なかった (Fig. 1)。IT 施行の有無に拘らず, *Df* 刺激による IL-5産生の明らかな増強あるいは抑制は認められなかった (Fig. 1)。

2. RI 施行前後における IL-5量の経時的変化

この実験の際の IL-5の測定感度は15.6pg/ml 以上であった。検討した4症例中2例においては全てのサンプルが測定感度以下であった。図示した2症例 (Fig. 2) のうち, 症例1 (32歳, 男性) では, RI 施行16週後において RI 前ならびに4週後のそれと比較して, PBMC 培養上清中の IL-5量が明らかに減少し測定感度以下となっていることが観察された。症例2 (24歳, 女性) では, RI 施行16週後において RI 前ならびに4

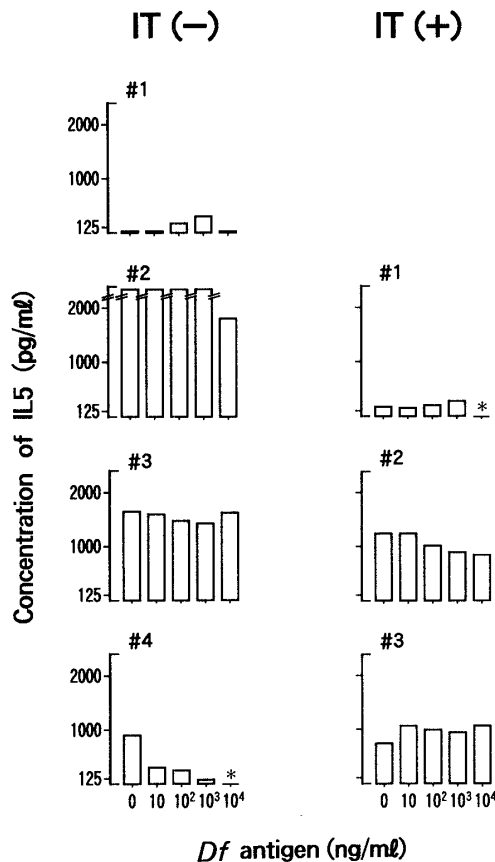


Fig. 1. The levels of IL-5 in the supernatants of PBMC from *Df*-sensitive with asthmatics or without IT following RI.

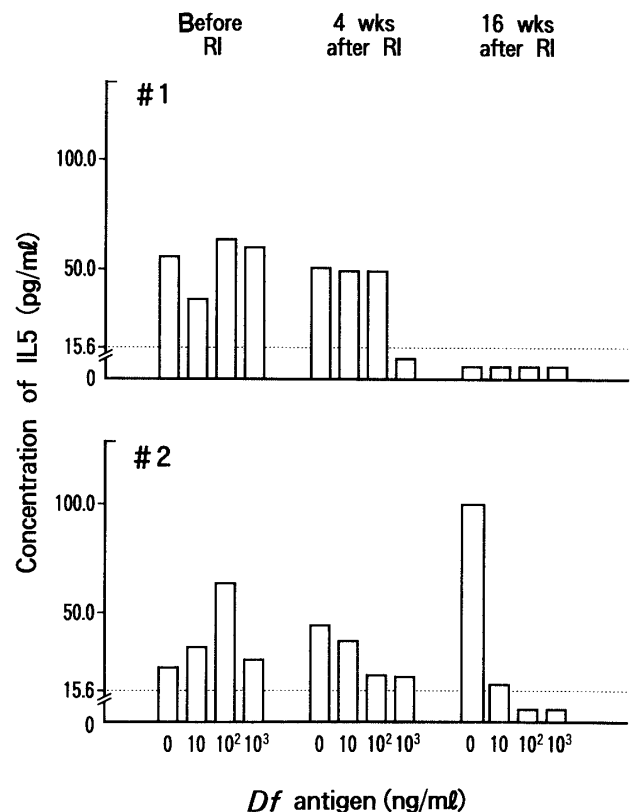


Fig. 2. Changes in the levels of IL-5 in the supernatants of PBMC before and after RI.

週後のそれと比較して無刺激の場合のIL-5量は増加していたが、Df添加がなされた全てのサンプルにおいてIL-5量が減少していることが認められた。

考 察

ITのリンパ球に対する影響として、特異抗原に対する増殖反応の減弱あるいは特異的サプレッサー細胞の誘導などが報告されてきた。しかしながらITのサイトカイン産生に与える効果についての報告は、Hsieh⁶⁾のIL-2産生などに関する論文はみられるものの比較的小数である。ITのIL-5産生に対する影響を検討した論文は筆者らの検索した範囲では見当らず、本報告が初のものであると考えられる。

IL-5は主としてTリンパ球から産生される多彩な生物学的作用を有するサイトカインであり、好酸球に対する増殖作用・生存延長作用あるいは機能増強作用などからアレルギー性疾患における重要性が認識されていることは周知のところである。本研究において、気管支喘息患者間におけるPBMCのIL-5産生能には個体間での差異が大であることが示唆された。またIT施行の有無に拘らず、IL-5産生は特異抗原添加による影響を受けなかった。この理由としてIL-5産生Tリンパ球がin vivoですでに活性化されていた可能性が想定され、それ故にin vitroでの新たな刺激に反応し難かった可能性が想定されるが実際のところは不明である。なお無刺激時のIL-5産生量と、末梢血好酸球数あるいは喘息スコアなどとの間には明らかな関連性は認められなかった。RIによりPBMC培養上清中のIL-5量が減少する症例が見い出されたことは興味深い成績と思われた。仮にかかる効果がin vivoでも発現した場合には、気道内に存在するリンパ球からのIL-5産生が減弱する可能性が想定される。喘息患者気道粘膜におけるIL-5をcodeするmRNAの発現量は好酸球浸潤の程度と相関することが指摘されている⁷⁾。ITにより好酸球遊走性サイトカインの抗原刺激による産生が減弱すること¹²⁾を考え合わせると、ITはサイトカインに起因する好酸球性気道炎症に対して鎮静的に作用する可能性が考えられ、このことが臨床効果の発現に寄与する可能性が考えられる。しかしながら本報告においては実験数が極めて少数であること、また症例2においては無刺激培養でのIL-5量はむしろ増加したことなどの問題点が残る。ITのIL-5産生に与える効

果についての結論は導き出し得ないと考えられる。ITが真にIL-5産生を抑制するか否かを明確にするためには更に多数の症例についての十分な追加検討が必要であろう。

前述のごとく、ITのサイトカイン産生に及ぼす効果についての論文は少数である。この理由として、通常の外来における週1～2回漸増法においては十分な臨床効果が発現するまでに数カ月以上の期間を要し、同一症例での追跡が困難であることなどが挙げられよう。RIでは短期間で確実に高濃度の維持量に到達できしかも速効性があり⁴⁾、臨床的に有用であることのみならずITのメカニズムを研究する上でも有用であるものと考えられる。今後はRIを用いてIL-5のみならず、アレルギー性疾患に関与し得る他のサイトカインについてもITの影響を検討していきたいと考えている。

文 献

- 1) Nagata, M., Shibasaki, M., Tanaka, K., Kiuchi, H., Sakamoto, Y., et al.: Reduced production of eosinophil-chemotactic-lymphokine by specific immunotherapy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 145, A695(abstract), 1992.
- 2) 永田 真, 芝崎正順, 田中弘二, 坂本公也, 木村功, 他: rush immunotherapy 施行前後における抗原添加単核球由来好酸球遊走活性の経時的変化. *アレルギー* 41, 330 (抄録), 1992.
- 3) 永田 真, 山本英明, 田部一秋, 田中弘二, 木村功, 他: 成人重症気管支喘息患者における rush immunotherapy の臨床的検討. *アレルギー* 38, 1319-1326, 1989.
- 4) 永田 真: rush immunotherapy. *日臨免誌* 13, 467-469, 1990.
- 5) Fukuda, Y., Hashino, J., Haruyama, M., Tsuruoka, N., Nakazato, H. and Nakanishi, T.: A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human interleukin-5. *J. Immunol. Methods* 143, 89-94, 1991.
- 6) Hsieh, K.: Altered IL-2 production and responsiveness after hyposensitization to house dust. *J. Allergy Clin. Immunol.* 76, 188-194, 1985.
- 7) Hamid, Q., Azzawi, M., Yings, S., Moqbel, R., Wardlaw, A.J., et al.: Expression of mRNA for interleukin-5 in mucosal bronchial biopsies for asthma. *J. Clin. Invest.* 87, 1541-1546, 1991.

THE INFLUENCE OF RUSH IMMUNOTHERAPY ON THE PRODUCTION OF
INTERLEUKIN-5 FROM MONONUCLEAR CELLS

Makoto Nagata, Masanori Shibasaki, Yoshio Sakamoto, Keiichiro Yamamoto and Yutaka Dohi
Second Department of Internal Medicine, Saitama Medical School

We investigated the influence of rush immunotherapy (RI) on the production of interleukin (IL)-5 from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in asthmatics sensitive to *Dermatophagoides farinae* (*Df*). The levels of IL-5 produced varied among the subjects, and these levels were not affected by the addition of *Df*, regardless of RI. When IL5 levels were individually compared before and after RI, some cases demonstrated an apparent decrease in production at 16 weeks after RI. It is considered that further study will be needed to confirm whether or not immunotherapy can truly suppress the production of IL-5.
