

D-11 Phospholipase A2 マウス アナフィラキシーモデル の機能解析

獨協医科大学埼玉医療センター 呼吸器・アレルギー内科

廣川尚慶, 平田博国, 有福 一, 福島康次

【背景】ハチ刺傷による死亡例は毎年 10~20 名前後と報告されており, 原因の多くはハチ毒によるアナフィラキシーショックである. ハチの種類として, スズメバチ亜科, アシナガバチ亜科, ミツバチ科の 3 つ分類され, ハチ毒には多種類のアレルギーが含まれている. スズメバチおよびアシナガバチの主要アレルギーは, 酵素の Phospholipase A1 やタンパク質の Antigen 5 などである. 一方, ミツバチの主要アレルギーは, Phospholipase A2 (PLA2) やペプチドの melittin などである. ハチ毒アレルギーに対するアレルギー免疫療法の奏功機序の免疫学解析や新規治療開発にあたり, ハチ毒マウスアナフィラキシーモデルを作製し, 基礎的研究を行う必要がある.

【目的】今回, 我々は PLA2 マウスアナフィラキシーモデルを作製し機能解析を行った.

【方法】Balb/c マウスを用いて, PLA2 (30 μ g/ 匹) + 水酸化アルミゲルアジュバント (2mg/ 匹) を 4 回 (Day 0, 7, 14, 21) 皮下感作 (PLA2 マウスアナフィラキシーモデル) した. 対照群として, PLA2 の代わりに生理食塩水を皮下投与した. Day 28 に採血し, 血清 PLA2 特異的 IgE 抗体を Enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) 法で解析した. Day 35 に, PLA2 (100 μ g/ 匹) の皮下チャレンジ前および 15 分後に直腸温を測定し, 同時に心採血後血中ヒスタミン濃度を ELISA 法で解析した.

【結果】PLA2 マウスアナフィラキシーモデルにおいて, 対照群と比較し, 血清 PLA2 特異的 IgE 抗体の有意な増加 (Optical density: 0.08 ± 0.02 vs 0.25 ± 0.07 , $P < 0.050$) が認められた. またマウスアナフィラキシーモデルでは, 対照群と比較し PLA2 チャレンジ前後において, 有意な体温低下 ($36.6^\circ\text{C} \pm 0.6$ vs $35.3 \pm 1.0^\circ\text{C}$, $P < 0.05$) 及びヒスタミン値の増加 (3.84 ± 2.27 ng/ml vs 8.55 ± 1.53 ng/ml, $P < 0.05$) が認められた.

【結論】引き続き, 本研究によって確立した PLA2 マウスアナフィラキシーモデルを用いて, アレルギー免疫療法の奏功機序の免疫学的解析および新規治療開発に繋がる基礎的研究を行いたい.

D-12 ラット潰瘍性大腸炎モデル における炎症起点の組織学的解析

¹⁾ 獨協医科大学 解剖学

²⁾ 同内科学 (消化器)

上田祐司¹⁾, 調 美奈¹⁾, 富永圭一²⁾,
入澤篤志²⁾, 徳田信子¹⁾

【目的】潰瘍性大腸炎 UC の難治性はリンパ球が主体となると考えられているが, 免疫応答がいつ, どこで, どのように始まるのかはよく分かっていない. 我々はラット UC モデルを作製し, T 細胞応答の時間的空間的な推移を免疫組織学的に解析した.

【実験】近交系雄ラットに 5% DSS を自由飲水させて UC を誘発させた. 経時的に大腸, 腸関連リンパ組織 GALT を採取し, 新鮮凍結切片を作製した. 多重免疫染色により免疫担当細胞の挙動を対照群と比較・解析した.

【結果・考察】DSS 投与後約 6 日より糞便が潤い, 翌日以降に体重減少と出血, 上皮剥離や顆粒球浸潤など典型的な臨床・病理所見を認めたことから, ラット UC モデルの作製に成功したと考えられた. T 細胞は 10 日目にかけて下部結腸にて増加し, 一部は上皮内浸潤が認められた. T 細胞活性化部位を解析したところ, 大腸組織内の GALT や腸間膜根リンパ節では顕著ではないものの, 下部結腸の所属リンパ節である inferior mesenteric node; IMN で活発な増殖性応答が認められた. そこで IMN を事前に切除した上で, UC を誘発したところ, IMN 除去群では対照群に比べると体重低下の減少と臨床所見の緩和が有意に認められた. 以上より, IMN は UC における免疫応答の重要な部位であり, 病態形成に深く関与すると考えられた. 現在, IMN への抗原伝達機構を解析中である.