

平成29年9月

彦坂茉里 学位論文審査要旨

主査 初 沢 清 隆
副主査 岡 田 太
同 林 眞 一

主論文

Correlation between cell aggregation and antibody production in IgE-producing plasma cells

(IgE産生プラズマ細胞における細胞凝集と抗体産生の相互関係)

(著者：彦坂茉里、村田暁彦、吉野三也、林眞一)

平成29年 Biochemistry and Biophysics Reports 10巻 224頁～231頁

参考論文

1. Stochastic differentiation into an osteoclast lineage from cloned macrophage-like cells

(クローン化したマクロファージ様細胞から破骨細胞系譜への確率論的分化)

(著者：林眞一、村田暁彦、奥山一生、下田有紀、彦坂茉里、保田尚孝、吉野三也)

平成24年 Biochemical and Biophysical Research Communications 428巻
303頁～308頁

2. An evolutionary-conserved function of mammalian notch family members as cell adhesion molecules

(細胞接着分子として哺乳類のnotch family membersの進化上保存された機能)

(著者：村田暁彦、吉野三也、彦坂茉里、奥山一生、Lan Zhou、坂野誠治、八木田秀雄、
林眞一)

平成26年 PLOS ONE DOI:10.1371/journal.pone.0108535

学位論文要旨

Correlation between cell aggregation and antibody production in IgE-producing plasma cells

(IgE産生プラズマ細胞における細胞凝集と抗体産生の相互関係)

IgE抗体は二次リンパ器官でB細胞より分化したプラズマ細胞によって分泌される。I型アレルギー疾患ではこれらの細胞数が増加し、その結果、血中IgE抗体量が上昇し、アレルギー反応を惹起すると考えられてきた。しかしながら、IgE産生細胞がどのような性質を示し抗体産生量を制御するのかについて検討はほとんどなされていない。著者らは脾臓中でIgE産生プラズマ細胞が細胞凝集することを見出した。プラズマ細胞は分化とともに細胞膜上の抗原受容体の発現を低下させると考えられてきたが、IgE産生プラズマ細胞では抗原受容体を保持することが報告された。B細胞は抗原刺激が細胞凝集を誘導するとの報告から、IgE産生プラズマ細胞でも抗原刺激によって細胞凝集が誘導されるという作業仮説のもと、IgE産生プラズマ細胞とモデル細胞を用いて、抗原刺激による細胞凝集の誘導メカニズム、さらに抗体産生に与える影響について検討した。

方法

トリニトロフェニル(TNP)に特異的なIgE抗体の産生ハイブリドーマ(IGEL b4)をIgE産生プラズマ細胞のモデルとし、抗原としてTNPを結合させた卵白アルブミン(TNP-OVA)、リポ多糖(TNP-LPS)、あるいはフィコール(TNP-Ficoll)、そしてLPSを、2日間、もしくは2時間培養後、細胞凝集塊と凝集を構成する細胞の数を計測した。分泌型IgE抗体としてIGEL b4培養上清を用いた。IgE上清は56度、1時間の熱処理で失活させた。IgG受容体Fc γ RII/Fc γ RIII (Fc γ Rs)とIgE抗体との結合は阻害抗体添加によって検討した。IGEL b4の抗体産生量はEnzyme-Linked ImmunoSpotで算出した。IgE産生プラズマ細胞はBALB/cマウスに麻酔下でTNP-OVAと水酸化アルミニウムゲルを2回腹腔内投与し誘導した。細胞凝集とIgE産生細胞数は免疫後7日目に脾臓を摘出し計測した。血清中のIgE抗体量はEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assayにて計測した。生体内の抗Fc γ Rs抗体阻害効果は解析前日に腹腔内投与によって検討した。

結 果

IGEL b4は2日間TNP-OVA、TNP-LPSもしくはTNP-Ficollを抗原としてそれぞれ添加、培養したとき、全ての条件で細胞凝集が誘導された。抗原はIgE産生プラズマ細胞の細胞膜上の抗原受容体(膜型IgE抗体)と、IgE受容体(FcεRI、FcεRII)やFcγRsに結合する分泌型IgE抗体との両者に結合する可能性がある。実際、IGEL b4は膜型IgE抗体とFcγRsを発現していた。IGEL b4は抗原とともにIGEL b4培養上清を添加することで凝集し、熱処理したIGEL b4培養上清添加では凝集しなかった。この細胞凝集は抗FcγRs阻害抗体の添加により完全に抑制された。IGEL b4はTNP-OVAと2日間培養後、凝集は形成したが、抗体産生量は変化しなかった。しかし、LPS単体ではなくTNP-LPSと培養すると、細胞凝集と抗体産生量増加の両者が観察され、LPSとTNP-OVAを共存させた場合も両者ともに誘導された。これらの結果を踏まえて、IgE産生プラズマ細胞を誘導したマウスへ抗FcγR抗体を投与すると、抗体非投与群に対し脾臓のIgE産生細胞の凝集数および血中のIgE抗体量が減少した。しかし、脾臓の総IgE産生プラズマ細胞数は変わらなかった。

考 察

本研究では作業仮説に反し、IgE産生プラズマ細胞は膜型IgE抗体よりも、むしろ分泌型IgE抗体と抗原の複合体がFcγRsに結合することで細胞凝集を形成することを見出した。さらに細胞凝集による活性化シグナル、およびLPSの刺激が抗体産生を上昇させる可能性も示した。IgE以外の他抗体クラスIgMやIgG産生プラズマ細胞はFcγRsを発現するとの報告はあるものの、IgE産生プラズマ細胞のように細胞凝集や抗体産生の増加を惹起するという報告はこれまでになく、IgE産生プラズマ細胞に特異的な現象の可能性はある。本研究では抗FcγR抗体投与後、脾臓でのIgE産生プラズマ細胞数は変わらず細胞凝集と血中IgE抗体量が減少したことから、IgE産生プラズマ細胞のFcγRsを介して細胞凝集や抗体産生量の上昇が惹起された可能性がある。

結 論

本研究ではIgE産生プラズマ細胞が抗原とIgE抗体の複合体を介してFcγRsに結合し細胞凝集し、さらに細胞凝集から入るシグナルとLPSの刺激が加わることで抗体産生を増加しうることをIgE産生プラズマ細胞とそのモデル細胞を用いて示した。これらの結果は、I型アレルギー治療に向けて、IgE産生プラズマ細胞の凝集抑制を誘導することがIgE抗体産生減少をもたらす可能性を示している。