

近藤由紀 論文内容の要旨

主論文

Regulation of Mite Allergen-pulsed Murine Dendritic Cells by Respiratory Syncytial Virus

(ダニ抗原でパルスしたマウス樹状細胞に対する RSV 感染の及ぼす影響)

Yuki Kondo, Hiroto Matsuse, Ikuko Machida, Tetsuya Kawano, Sachiko Saeke, Shinya Tomari, Yasushi Obase, Chizu Fukushima, Shigeru Kohno

Am J Respir Crit Care Med, 2004, Vol.169, pp494-498

長崎大学大学院医学研究科新興感染症病態制御学系専攻

(指導教授：河野 茂 教授)

緒言

RSV は喘息の発症や増悪に関係している。また、樹状細胞は T 細胞分化を決定する唯一の抗原提示細胞であり、アレルギーやウイルス感染において重要な役割を担っている。近年、RSV は樹状細胞に感染し、その機能に影響に及ぼすなど樹状細胞と RSV 感染の免疫反応に関する報告があるが、樹状細胞の RSV 感染と抗原感作の相互作用における影響については未だ明らかでない。今回我々はマウス骨髄由来の樹状細胞を用いて、樹状細胞レベルでのアレルギーの発達における RSV 感染とダニ抗原感作の相互作用について検討を行った。

対象

10 週齢の雌 BALB/c マウス骨髄由来の樹状細胞を用いて無刺激の Control 群、ultra violet(UV)で不活化した RSV を感染した UVRSV 群、live RSV を感染した RSV 群、*Dermatophagoides farinae*(D.farinae)精製抗原でパルスした Df 群、Df 抗原パルスと UV 不活化 RSV 感染した Df-UVRSV 群、Df 抗原パルスと RSV 感染した Df-RSV 群の 6 群を作成した。さらに別の 4 週齢の雌 BALB/c マウスにそれぞれの樹状細胞を移入し同様に 6 群を作成した。

方法

マウス骨髄細胞より GM-CSF を用いて樹状細胞を精製し、上記の 6 群を作成した。Day 1 1 に、全群で樹状細胞と培養上清を回収し、樹状細胞の表面抗原発現と培養上清中のサイトカイン濃度を検討した。また、作成した 6 群の樹状細胞は  $5 \times 10^5$  個をそれぞれ別のナイーブ BALB/C マウスの気道に移入し、5 日間 Df 抗原を経鼻暴露した。翌

日、それらのマウスを sacrifice し、肺組織と縦隔リンパ節からのサイトカイン産生を測定した。また、精製した樹状細胞と樹状細胞を移入したマウスの肺組織からウイルスまたは Toll like receptor4 の発現を RT-PCR で検出した。

## 結果と考察

UV 不活化 RSV または live RSV を樹状細胞に感染した 24 時間後、RSV 群ではウイルスが検出された。また、時間経過の RSV 検出は、48 時間後までは RSV は検出されたが、以後 RSV は検出されなかった。マウス肺では、マウス気道に RSV を直接感染したものは、RSV が検出されたが、RSV 感染した樹状細胞をマウス気道に移入したものは RSV は検出されなかった。

樹状細胞の表面マーカーについては、Df 群は、Control 群と比較して MHCclassII、CD11c と CD86 の発現は高く、CD40 の発現が低かった。これに対して Df-RSV 群は Df 群と比較して MHCclassII、CD11c と CD86 の発現は低く、CD40 の発現は高かった。UVRSV 群はコントロール群と優位差なく、UVRSV-Df 群は Df 群と有意差なかった。

樹状細胞培養上清中のサイトカイン濃度は、Control 群と UVRSV 群は有意差なく、Df 群、Df-UVRSV 群と Df-RSV 群は、Control 群と比較して IL-10 と IL-12 が有意に増加した。Df 群と Df-RSV 群を比較すると、IL-12 は有意差を認めなかったが、IL-10 は Df-RSV 群が有意に減少した。

マウス肺組織像は、Control 群と RSV 群、UVRSV 群は有意差なかった。Df 群と Df-UVRSV 群ではコントロール群に比較して気管支血管周囲に炎症細胞浸潤を認め、好酸球数の有意な増加を認めた。Df-RSV 群は Control 群に比較して炎症細胞浸潤を認めたが、Df 群と比較すると炎症細胞浸潤は軽度であり、好酸球数とリンパ球数が有意に減少した。

樹状細胞を移入したマウス縦隔リンパ節から分離した単核球培養上清中のサイトカイン濃度は、Control 群と UVRSV 群は有意差を認めなかったが、Df 群と Df-UVRSV 群では Control 群と比較して有意に IL-5 と IFN- $\gamma$  の有意な増加が認められ、Df-RSV 群は IL-5 の増加を認め、IFN- $\gamma$  はさらに有意な増加を認めた。

今回の我々の検討では、樹状細胞に RSV が直接感染した場合、樹状細胞は Th1 優位の表面マーカーの発現とサイトカイン産生を認め、Th1 分極を誘導することが示された。また、ダニ抗原パルスした樹状細胞を移入したマウスで誘導された Th2 優位のアレルギー性反応を減弱し、Th2 を抑制することが示された。

## 結語

RSV 感染が樹状細胞を介して細胞分極に与える影響には樹状細胞に直接感染して影響する場合と、上皮細胞などに感染してそれから放出されるメディエーターを介して影

響を与える場合があり、RSV が樹状細胞に直接感染した場合、Df 抗原が誘導した Th2 反応を *in vitro* と *in vivo* の両方において減弱することが示され、この反応は樹状細胞からの免疫学的なサイトカイン産生や樹状細胞の表面マーカーの変化が関連していると考えられた。