

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月24日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592259

研究課題名（和文） アレルギー性結膜疾患発症におけるマクロファージの関与

研究課題名（英文） Roles of macrophages in the development of allergic conjunctival diseases

研究代表者

福島 敦樹（FUKUSHIMA ATSUKI）

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：40281737

研究成果の概要（和文）：アレルギー性結膜疾患の重症型の春季カタルでは失明に至る場合がある。春季カタルは抗原特異的な疾患であり，抗原提示細胞が発症に重要な役割を果たす。本研究結果から，アレルギー性結膜疾患の発症に好塩基球が抗原提示細胞として働くことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Vernal keratoconjunctivitis (VKC) is a severe form of allergic conjunctival diseases and may lead to blindness. VKC is an antigen-specific disease and antigen-presenting cells play crucial roles in its development. During this research period, we found that basophils are exerting antigen-presenting capability in allergic conjunctival diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：アレルギー，結膜，抗原提示細胞，FcεRIα，好塩基球，T細胞，マクロファージ，好酸球

1. 研究開始当初の背景

これまでの一連の研究結果から，抗原特異的CD4陽性T細胞の移入により，結膜アレルギーの重症化の指標である結膜好酸球浸潤を誘導できることを明らかにした。確かに「T細胞→好酸球浸潤」経路が主なパスウェイであるが，結膜には多くのマクロファージも存在し，抗原提示細胞としての，あるいはサイトカイン産生細胞としての役割を担っている。

2. 研究の目的

今回の研究ではマクロファージがアレルギー性結膜疾患発症においてどのように関与しているかを明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

（1）全身あるいは局所のマクロファージが結膜好酸球浸潤にどのように関与するのかを，感作相と惹起相の二つの相において検討

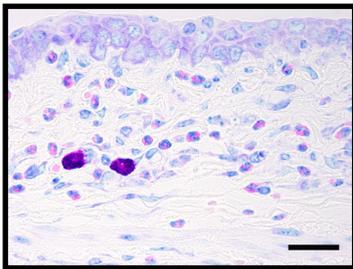
する。

(2) 結膜において抗原を捕獲し提示する細胞を同定する。

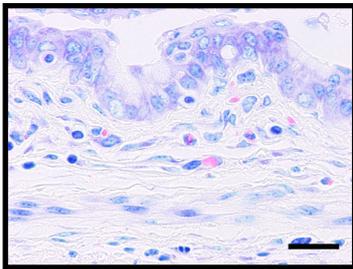
(3) 結膜における好塩基球の抗原提示における役割を評価する。

4. 研究成果

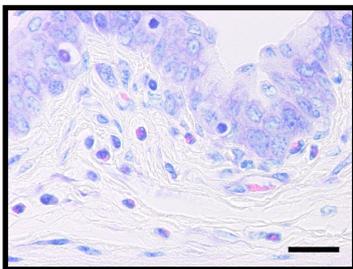
(1) マクロファージの細胞表面マーカーとして CD11b と F4/80 が代表的である。これらの分子を全身で阻害することによりマウスアレルギー性結膜炎における結膜好酸球浸潤が抑制された。この抑制は阻害抗体を誘導相ではなく、効果相に投与した場合にのみ認められた。



(コントロール抗体を効果相に投与)

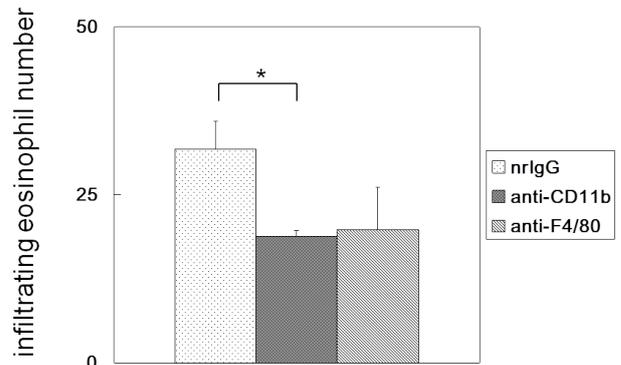


(抗体 CD11b 抗体を効果相に投与)



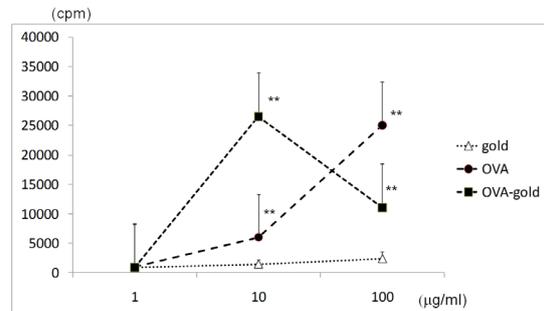
(抗 F4/80 抗体を効果相に投与)

エオタキシン結膜下注射により誘導される結膜好酸球浸潤は、これらの分子に対する抗体を局所投与することによりブロックできることから、好酸球表面に発現している CD11b と F4/80 が結膜好酸球浸潤に重要であることが明らかとなった。



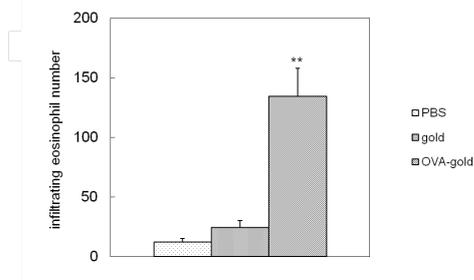
(エオタキシン結膜下注射により誘導される結膜好酸球浸潤に対する抗体 CD11b 抗体と抗 F4/80 抗体の抑制効果)

(2) 卵白アルブミン特異的 T 細胞受容体遺伝子導入マウス (DO11.10) の脾臓細胞を卵白アルブミン (OVA)、金 (gold)、OVA と gold の重合体 (OVA-gold) で刺激を加えた。OVA-gold 刺激を受けた脾臓細胞は OVA 刺激の場合と同様に増殖したが、gold 刺激では増殖反応を認めなかった。



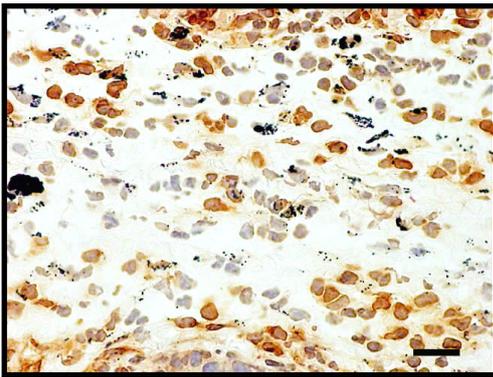
(トリチウムサイミジン取り込みを指標とした細胞増殖反応)

マウスに OVA, gold, OVA-gold を結膜下注射し、24 時間後に結膜を採取し、結膜炎の発症ならびに免疫組織化学法あるいは電子顕微鏡により結膜においてどの細胞が OVA-gold を取り込んでいるかを調べた。OVA-gold を結膜下注射することにより OVA 結膜下注射の場合と同様に結膜に好酸球と CD4 陽性 T 細胞の浸潤を認めたが、gold の結膜下注射では炎症細胞浸潤はみられなかった。



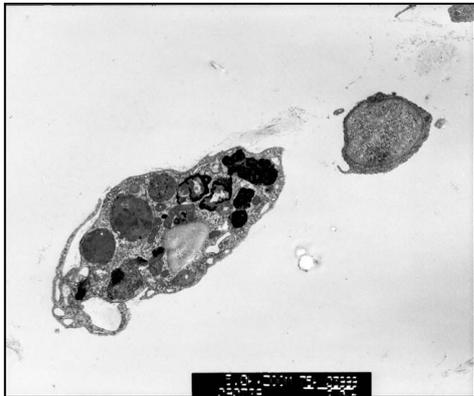
(OVA, gold, OVA-gold 結膜下注射による結膜浸潤好酸球数)

OVA-gold を取り込んでいる細胞は CD11b 陽性, CD68 陽性で MHC クラス 2 を発現していた。



(MHC クラス 2 陽性細胞内における OVA-gold 微粒子の存在)

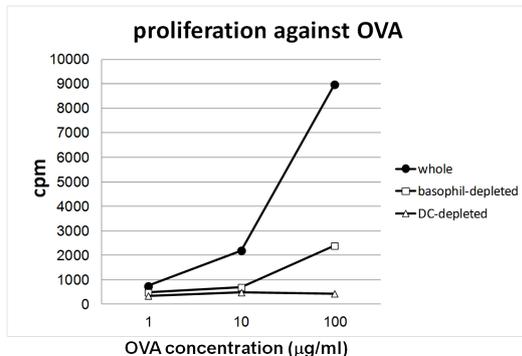
また OVA-gold は細胞質に存在していた。



(細胞質における OVA-gold 微粒子の存在)

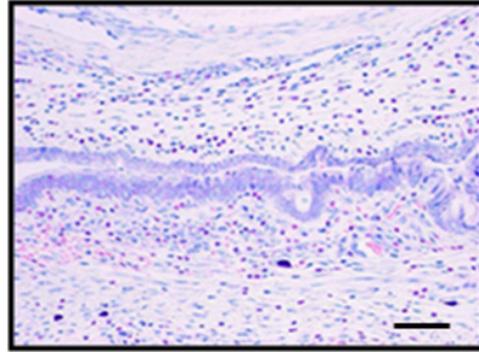
以上の結果より、結膜に存在するマクロファージがアレルギー性結膜炎発症時に抗原提示細胞として働いていることが明らかとなった。

(3) FcεRIα陽性好塩基球には抗原提示能があることが確認された。

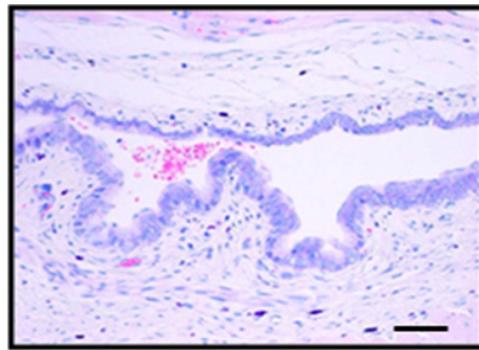


(好塩基球除去, 樹状細胞除去の脾細胞抗原特異的細胞増殖反応に及ぼす影響)

抗 FcεRIα抗体を誘導相に投与することにより結膜好酸球浸潤が抑制されたことから、好炎急による抗原提示は全身のリンパ組織で行われていることが確認された。



(コントロール抗体誘導相投与マウス結膜好酸球浸潤)



(抗 FcεRIα抗体誘導相投与マウス結膜好酸球浸潤)

さらに、マウスアレルギー性結膜炎では効果相に抗 FcεRIα抗体を投与しても結膜炎に影響を与えないことから、好塩基球はエフェクター細胞として働いている可能性は低いこと、の2点が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Ishida W, Fukuda K, Sumi T, Ebihara N, Kajisako M, Matsuda H, Yagita H, Fukushima A.
Adjuvants determine the contribution of basophils to antigen sensitization in vivo.
Immunol Lett, 査読有り, 136: 49-54, 2011
- ② Fukushima A, Ishida W, Ojima A, Kajisako M, Sumi T, Yamada J, Tsuru E, Miyazaki J-i, Tominaga A, Yagita H.

Participation of CD11b and F4/80 molecules in the conjunctival eosinophilia of experimental allergic conjunctivitis.

Int Arch Allergy Immunol, 査読有り,
151(2):129-136, 2010

- ③ Ishida W, Kajisako M, Takahashi A, Sumi T, van Rooijen N, Fukuda K, Fukushima A.
Conjunctival macrophages act as antigen-presenting cells in the conjunctiva during the development of experimental allergic conjunctivitis. Mol Vision, 査読有り, 16: 1280-1285, 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福島 敦樹 (FUKUSHIMA ATSUKI)

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：40281737