

急性期川崎病患児末梢血単球のIL-1 β 産生能 について — mRNA レベルでの検討 —

鈴木啓之¹⁾, 刀称重信²⁾, 上村 茂¹⁾, 小池通夫¹⁾

要約：川崎病患児7例の末梢血単球を用いてIL-1 β 産生をmRNAレベルで検討した。患児末梢血から分離した単球を免疫グロブリン添加, 無添加で培養後, 酸性フェノール法でRNAを抽出し, Northern法でIL-1 β のmRNAの動態を解析した。7例中6例に免疫グロブリン添加で無添加より3~8倍のIL-1 β mRNAが蓄積することが判明した。これは我々が以前に報告した培養上清中のIL-1 β 産生量とほぼ一致するものである。臨床上の免疫グロブリン大量療法の効果との関連性についてさらに検討したい。

見出し語：川崎病, 免疫グロブリン, IL-1 β , マクロファージ, mRNA

【目的と対象・方法】

我々は川崎病急性期に血清中TNF- α が免疫グロブリン大量療法後に上昇すること, さらに川崎病急性期患児の末梢血単球を用いてin vitro下免疫グロブリン添加でTNF- α , IL-1 β 産生が増加することを報告してきた^{1,2)}。今回は川崎病患児末梢血単球を用いてIL-1 β 産生をmRNAレベルで検討し, 蛋白での変化と比較した。

対象：対象は1991年1月から8月までに入院した川崎病7例で, 年齢は6か月から4歳1か月, 平均2歳。男女比は5:2で, 治療はアスピリン単独が1例, アスピリンと免疫グロブリン療法の併用が6例であった。冠動脈病変では心断層エコーでの観

察で6例が異常なく, 1例が左冠動脈起始部に4.5~5mmの動脈瘤を残した。方法：ヘパリン加末梢血約5mlを採取し, 型の如くFicoll-Paqueで密度勾配遠心し, 白血球層を分離, 2回洗浄後Corning社製16mm cell wellに白血球 3×10^6 /dishを加え, 37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂下45分間培養し付着細胞を単球とした。培養液には1%アルブミン加RPMI 1640を用い, これに免疫グロブリン(IgG), 10 μ g/ml(Organo Teknika社製)を添加したものと無添加とを比較した。この単球を3時間培養後に上清を除去し, RNAを抽出した。単球からのRNA抽出は, 付着細胞が少量のためできるだけ損失の少ない酸性フェノール法を採用した。得られたRNAを用いてNorthern

和歌山県立医科大学小児科¹⁾, 同 生化学²⁾
Department of Pediatrics¹⁾, Department of Biochemistry²⁾, Wakayama Medical College

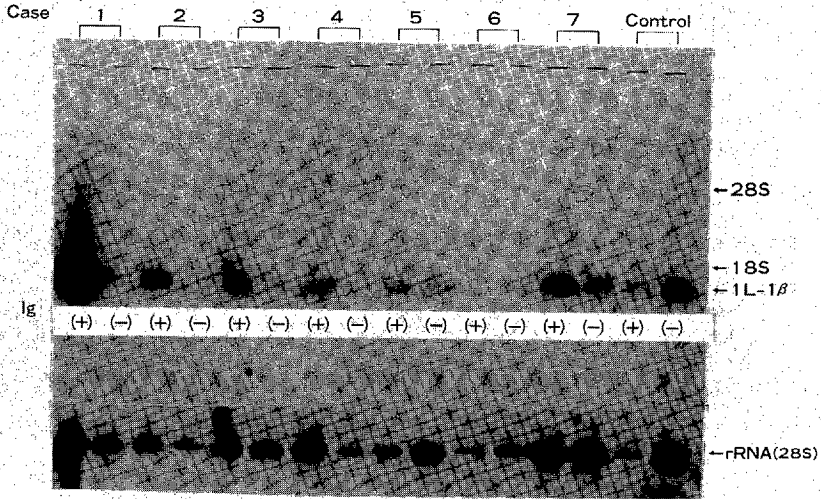
法でIL-1 β のmRNAの動態を解析した。IL-1 β のプローブは三菱生命研の入江伸吉博士から提供を受けたもので、プラスミドPCD-Xから切り出された1,365 base pairsの断片を用いた。結果：図1に7症例の免疫グロブリン添加，無添加の順に示した。右端には対照として健康成人の単球に免疫グロブリン添加，無添加を示した。下段にはそれぞれのlaneでの28s ribosomal RNAを示した。矢印で示した28s (5.13Kb)，18s (2.03Kb) RNAの泳動距離から図1の中央部に並ぶバンドは1.6 Kbであり，IL-1 β mRNAと一致することを確認した。見掛け上は症例1，2，3，4，7では免疫グロブリン添加時の1.6 Kbバンドの方が濃染されており，IL-1 β mRNAの多いことを示している。症例5では両者ほぼ同程度，症例6と対照では無添加の方が多くIL-1 β mRNAが得られている。しかし，これらの値はそれぞれのlaneで得られたribosomal RNAで補正する必要がある。そこで，それぞれのlaneで得られたribosomal RNAとIL-1 β mRNAをデンストメーターで感光度を測定して，相対比を求めることによってIL-1 β mRNAの蓄積度を算出した（図2）。症例1，2，3，4，5，7の6例は免疫グロブリン添加で無添加時より3～8倍のIL-1 β mRNAが蓄積されていることが判明した。症例6のみ免疫グロブリン添加無添加でIL-1 β mRNAの蓄積度に差がなかった。健康成人の単球でも免疫グロブリン添加時にはIL-1 β mRNAは2.5倍に増加した。考案：川崎病に対する免疫グロブリン大量療法（IVIG）の有用性については広く認められているが，その機序についてはまだ不明の点が多い。我々は，以前から川崎病急性期に血清中TNF- α がIVIG後に上昇すること，さらに

川崎病急性期患児の末梢血単球が *in vitro* 下免疫グロブリンを添加した時にTNF- α ，IL-1 β 産生が増加することを報告してきた^{1, 2)}。これはIVIGが炎症性サイトカインの産生または分泌動態に関与することを示すもので，川崎病におけるIVIGの有効性とも関係することを示唆している。一方，IVIGがサイトカイン産生を抑制しているとの報告³⁾もあり詳細は不明のままである。今回の研究はサイトカインの量のレベルではなくIL-1 β のmRNAレベルで免疫グロブリンの影響を検討したものである。免疫グロブリン添加によって患児単球内のIL-1 β mRNAが有意に多く蓄積することが判明し，培養上清中のIL-1 β 産生量のレベルとほぼ一致するものであった。また同じ現象が健康成人単球でも認められた。これらの結果はIVIG後に炎症性サイトカインの産生の増加をみたという我々の結果を支持する成績である。このような炎症性サイトカインの増加とIVIGの効果についての直接的な説明はまだ十分にできないが，今後さらにTNF- α のmRNAでも検討し，炎症性サイトカインと免疫グロブリンとの関連性を追及したい。

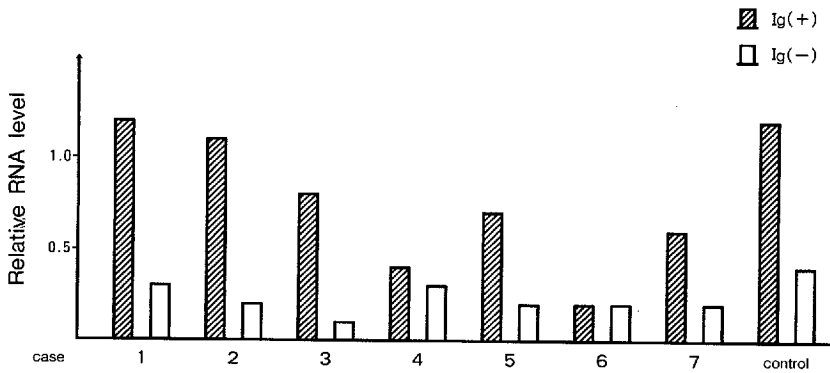
【文献】

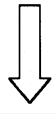
- 1) 鈴木啓之，小池通夫：厚生省心身障害研究「川崎病に関する研究」，昭和63年度研究報告書 p. 20～24
- 2) 鈴木啓之，南 頼彰，上村 茂，小池通夫：厚生省心身障害研究「川崎病に関する研究」，平成2年度研究報告書 p. 78～80
- 3) Shimozato T. et al : Immunology, 72 : 497～501, 1991

☒ 1 . Northern hybridization analysis



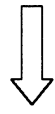
☒ 2 . Effects of immunoglobulin on IL-1β mRNA level





検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:川崎病患児7例の末梢血単球を用いてIL-1 産生を mRNA レベルで検討した。患児末梢血から分離した単球を免疫グロブリン添加,無添加で培養後,酸性フェノール法で RNA を抽出し,Northern 法で IL-1 の mRNA の動態を解析した。7 例中 6 例に免疫グロブリン添加で無添加より 3~8 倍の IL-1 RNA が蓄積することが判明した。これは我々が以前に報告した培養上清中の IL-1 産生量とほぼ一致するものである。臨床上の免疫グロブリン大量療法の効果との関連性についてさらに検討したい。