

単純ヘルペス角膜炎の免疫薬理学的研究

—インターロイキン 2 のステロイド存在下におけるマウス cytotoxic T lymphocyte の誘導に対する増強効果について—(図 8, 表 2)

末 広 龍 憲 (広島大学医学部眼科学教室)

Immunopharmacological study on herpes simplex keratitis
—Effect of interleukin 2 on HSV-specific CTL
in the presence of corticosteroid—

Tatsunori Suehiro

Department of Ophthalmology Hiroshima University School of Medicine

要 約

単純ヘルペスウイルス (HSV) の感染時に誘導される cytotoxic T lymphocyte (CTL) の活性がコルチコステロイドにより抑制される機序を検討するために、角膜に HSV を接種したマウスの脾細胞から誘導される CTL に対するコルチコステロイドおよびリコンビナントインターロイキン 2 (rIL-2) の影響について検討した。C3H/He マウスの角膜に HSV を接種後10日目に、脾臓を取った。この脾細胞をリポポリサッカライドで幼若化したマウス脾細胞に HSV を感染させたもので刺激し、培養開始時よりデキサメサゾンおよび rIL-2 を添加し培養した。³H-proline releasing assay にて求められた CTL 活性は、デキサメサゾンおよび rIL-2 を添加した場合は、デキサメサゾンを添加し、rIL-2 を添加しなかった場合に比べて有意に高かった。以上の成績より、デキサメサゾン添加によって低下した CTL 活性は、rIL-2 の添加によってその低下が軽減される可能性が考えられる。(日眼 91:747-755, 1987)

キーワード：ヘルペス性角膜炎，細胞性免疫，コルチコステロイド，リコンビナントインターロイキン 2，細胞傷害性 T 細胞

Abstract

The effects of dexamethasone and recombinant interleukin 2 (rIL-2) on cytotoxic T lymphocytes (CTL) were evaluated in the mice whose corneas were infected by herpes simplex virus. Ten days after the corneas of the mice (C3H/He) were inoculated with HSV, the mouse spleens were removed. These mouse splenocytes were restimulated by lipopolysaccharide-induced lymphoblasts (LPS-blasts) infected with HSV, and dexamethasone and rIL-2 was added at the initiation of culture. The activity of HSV-specific CTL measured by ³H-proline releasing assay was significantly higher when dexamethasone and rIL-2 were added, than when dexamethasone was added and rIL-2 was not added. These results suggest that rIL-2 administration augments the activity of HSV-specific CTL with dexamethasone administration. (Acta Soc Ophthalmol 91: 747-755, 1987)

Key words: Herpes simplex keratitis, Cell mediated immunity, Corticosteroid, Recombinant interleukin 2, Cytotoxic T lymphocyte

別刷請求先：734 広島市南区霞 1-2-3 広島大学医学部眼科学教室 末広 龍憲

Reprint requests to: Tatsunori Suehiro, M.D. Dept. of Ophthalmol., Hiroshima Univ. School of Med. 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan

(昭和62年 2 月26日受付) (Accepted february 26, 1987)

I 緒 言

既に著者は、単純ヘルペスウイルス (HSV) の感染防御に重要と考えられているキラーT細胞 (CTL) に対するコルチコステロイドの抑制作用について報告した¹⁾。

コルチコステロイドのCTL活性に対する抑制作用の機序の一つに、インターロイキン2 (IL-2) の産生抑制が考えられている²⁾。今回、マウスCTL誘導の系にコルチコステロイドとIL-2を加え、CTL活性がどのように変化するかを検討したので、その結果を報告する。

II 方 法

1. ウイルス

角膜ヘルペス患者から分離したMoto株をSIRC細胞で継代培養したものを使用した。感染価は $10^{7.0}$ TCID₅₀/mlであった。

2. 実験動物

6週齢、雄性C3H/He (H-2^k) を用いた。

3. ウイルス接種方法

角膜接種方法は、27ゲージ針で手術顕微鏡下に左眼角膜を乱切した後、HSV液0.05mlを滴下し、眼球マッサージを行い感染させた。

4. 使用薬剤

コルチコステロイドにはdexamethasone (参天) をIL-2はリコンビナントIL-2 (rIL-2, 塩野義) を用いた。

5. stimulator細胞の調整 (Fig. 1)

非感染マウスを頸椎脱臼死させた後、脾臓を摘出し、

2.5% fetal calf serum (FCS, GIBCO) を含む Hanks' balanced salt solution (HBSS, 日水) 5ml 中で teasing を行い、単離細胞を得た。HBSS で洗浄後、2.5ml のリンパ球比重分離液 M-SMF (日本抗体研究所) 上に重層し、2,600回転で20分間遠沈し単核細胞を得た。次にHBSSで2回洗浄し、10%FCS, 100U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin, 25mM HEPES, および 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol を加えた RPMI 1640 液 (GIBCO, 以下 test medium と呼ぶ) に細胞数が 2×10^6 /ml となるよう浮遊させ、6 well culture plate (FALCON) に5mlずつ分注した。これに lipopolysaccharide (LPS, DIFCO) を最終濃度が 5μ g/ml となるように加え、37°C で3日間CO₂ incubator 中で培養した。培養後、HBSSで2回洗浄し、熊谷らの方法³⁾ に準じて作製した Percoll 不連続密度勾配液上に重層し、1,600回転で45分間遠沈し、最上層の Fraction-0 を回収した。HBSSで洗浄後、HSVを37°Cで2時間感染させ (1m. o.i.)、さらにHBSSで2回洗浄した。次いで、1,500rad のコバルト照射を行い、test medium で細胞数を 4×10^5 /ml に調整した。

6. responder細胞の調整 (Fig. 1)

HSVの角膜接種後10日時の感染マウスの脾単核細胞を分離し、test medium で細胞数を 2×10^6 /ml に調整し responder 細胞とした。

7. Stimulator細胞に対する responder細胞の反応の測定方法 (Fig. 2)

Stimulator細胞に対する responder細胞の増殖に及ぼすdexamethasone と rIL-2 の影響を³H-thymidine の取り込みを指標として判定した。

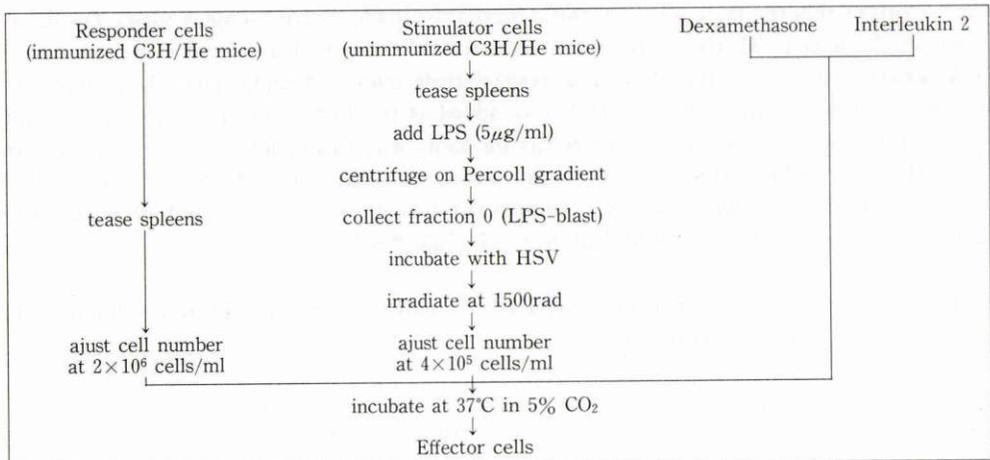


Fig. 1 Preparation of effector cells

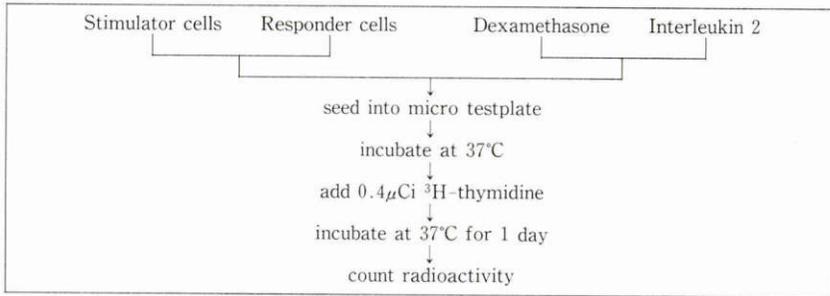


Fig. 2 The proliferative response of spleen cells stimulated by HSV-infected spleen cells

平底の96 well micro testplate (NUNC) に responder 細胞数と stimulator 細胞数の比を 5 : 1 の割合で混合したものを100μl ずつ分注した。予備実験では 0, 12.5, 25, 50, 100, 200U/ml に test medium で調整した各種濃度の rIL2 を100μl ずつ加えた。本実験では最終濃度が 10⁻⁶ から 10⁻⁸M となるように test medium で調整した dexamethasone を50μl ずつ加え、dexamethasone 単独群では、これに test medium を50μl ずつ加えた。rIL-2 添加群では、これに、test medium で100U/ml に調整した rIL-2 を50μl ずつ加えた。その後、37°C の 5%CO₂ incubator 中で培養した。予備実験では 3 日経過時に、本実験では 1, 2, 3, 4, 6 日の各経過時にそれぞれ 0.4μCi の ³H-thymidine を各 well に加えて培養を続けた。それぞれ 24 時間後に micro cell harvest を用いて細胞をグラスファイバー上に集め、液体シンチレーションカウンターによって、リンパ球に取りこまれた ³H-thymidine の放射能活性を測定した。

7. 細胞傷害試験に用いる effector 細胞の調整 (Fig. 1)

6 well culture plate に responder 細胞数と stimulator 細胞数の比が 5 : 1 となるように分注した後、最終濃度が 10⁻⁶ から 10⁻⁸M になるように test medium で調整した各種濃度の dexamethasone を加えた。rIL-2 添加群では、さらに 50U/ml に調整した rIL-2 を培養と同時に、あるいは 2 日後に加え、37°C、CO₂ incubator 中で 3, 4, 5, 7 日間培養した。培養後、HBSS で 2 回洗浄し、生細胞数を trypan blue 法で算定し、test medium で細胞数を 1×10⁶/ml に調整したものを細胞傷害性試験の effector 細胞とした。

8. 標的細胞の作製 (Fig. 3)

標的細胞の L929 細胞 (H-2^k) を 20μCi/ml の ³H-proline と 10% fetal calf serum (FCS) を含む Eagle'

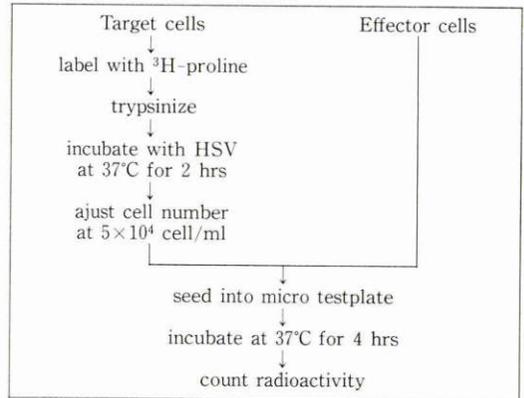


Fig. 3 Cytotoxicity assay

s MEN (L-proline は含まず) で 2 日間培養し、標識した。ついで、トリプシン処理し、HSV (3m. o.i.) で 2 時間感染させた後、test medium で細胞数を 5×10⁴/ml に調整した。

9. 細胞傷害試験

上記のように調整した標的細胞と effector 細胞浮遊液を丸底の 96 well micro test plate (NUNC) に 100 μl ずつ分注し、1,200回転で 5 分間遠沈した。次いで、37°C の 5% CO₂ incubator 中で 4 時間培養した。培養終了後、上清を 100μl 採取し、濾紙に吸収させた。濾紙を乾燥させた後、液体シンチレーションカウンターで放射能活性を測定した。Fig. 4 に示した式から percent specific lysis を求めて細胞傷害性の程度を算出した。

III 結 果

1. rIL-2 の HSV 感染細胞に反応する脾細胞の増殖に対する影響 (Fig. 5)

HSV 感染細胞に対して反応する脾細胞の ³H-thymidine の取込みは、rIL-2 を 12.5U/ml 添加した場合は

$$\text{Percent (specific) lysis} = \left[\frac{A - C}{B - C} \right] \times 100$$

A : ³H release in the presence of effector cells sensitized with HSV-infected cells
 B : total ³H in target cells
 C : ³H release in the absence of effector cells
 (³H release in the presence of effector cells not sensitized with HSV-infected cells)

Fig. 4 Calculation of percent specific lysis

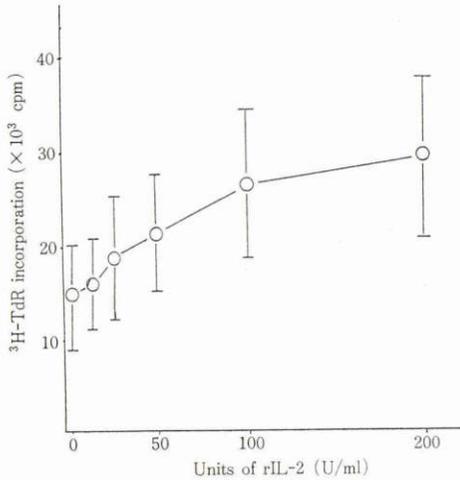


Fig. 5 The effect of rIL-2 on the proliferation of spleen cells responding to HSV-infected spleen cells

Spleen cells from C3H/He mice inoculated with HSV 10 days ago were cultured with LPS-blast infected with HSV in the presence of rIL-2 for 4 days. Tritiated thymidine was added for final 24 hours. Tritiated thymidine incorporation of spleen cells was measured. Results were mean ± SD

15,972 ± 4,972 (cpm), 25U/ml では18,635 ± 6,746, 50U/ml では21,375 ± 6,532で, 100U/ml では26,563 ± 8,179, 200U/ml では29,620 ± 8,987で, rIL-2が50U/ml 以上では rIL-2無添加の対照の14,276 ± 5,982と比べ, ³H-thymidine の取り込みは有意(p < 0.05)に上昇していた. この結果から本実験に使用する rIL-2の濃度を50U/mlとした.

2. Dexamethasone および rIL-2の HSV 感染細胞に反応する脾細胞の増殖に対する影響 (Fig. 6)

CTLを誘導する培養系に10⁻⁶Mの dexamethasoneを添加した場合(Fig. 6a), 2, 3, 4, 5, 7日間培養後の³H-thymidineの取り込みは, それぞれ732 ±

354(cpm), 902 ± 395, 859 ± 372, 953 ± 415, 562 ± 237であった. 10⁻⁶Mの dexamethasoneに加え, 50U/mlの rIL-2を添加した場合, 2, 3, 4, 5, 7日間培養後の³H-thymidineの取り込みは, それぞれ2,563 ± 982, 6,427 ± 2,356, 6,592 ± 1,835, 6,521 ± 2,581, 2,396 ± 1,046であった. また, 100U/mlの rIL-2を添加した場合, 2, 3, 4, 5, 7日間培養後の³H-thymidineの取り込みは, それぞれ, 5,032 ± 921, 7,192 ± 3,429, 8,039 ± 3,563, 9,762 ± 3,983, 4,893 ± 1,035であり, いずれの培養期間でも, rIL-2添加群では非添加群に比べ, ³H-thymidineの取り込みは有意に上昇を認めた. 10⁻⁷M (Fig. 6b) および10⁻⁸M (Fig. 6c)の dexamethasoneを添加した場合も同様であった. Dexamethasoneを添加しなかった場合(Fig. d), 3, 4, 5, 7日間培養時に, rIL-2添加群では非添加群に比べ, ³H-thymidineの取り込みは有意に上昇を認めた.

3. Dexamethasone および rIL-2の生細胞数に対する影響 (Fig. 7)

CTLを誘導する培養系に10⁻⁶Mの dexamethasoneを添加した場合(Fig. 7a), 3, 4, 5, 7日間培養後の生細胞数は, それぞれ, 17.2 ± 4.7(× 10⁵/ml), 19.0 ± 4.6, 11.0 ± 6.2, 7.0 ± 4.9であった. 一方, 10⁻⁶Mの dexamethasoneに加え, 50U/mlの rIL-2を添加した場合, 3, 4, 5, 7日間培養後の生細胞数は, それぞれ, 25.3 ± 5.1, 29.7 ± 5.2 (p < 0.05), 26.3 ± 6.7 (p < 0.01), 11.3 ± 4.7であり, 4, 5日間培養時では, rIL-2添加群では非添加群に比べて, 生細胞数は有意に増加した. 10⁻⁷Mの dexamethasoneを添加した場合(Fig. 7b), 4, 5日間培養時で, 10⁻⁸Mの dexamethasoneを添加した場合(Fig. 7c), 3, 4日間培養時で, dexamethasoneを添加しなかった場合(Fig. 7d), 3, 4, 5日間培養時で, それぞれ, rIL-2添加群では非添加群に比べて, 生細胞数は有意に高かった.

4. Dexamethasone および rIL-2の CTL 活性に対する影響 (Fig. 8)

CTLを誘導する培養系に10⁻⁶Mの dexamethasoneを添加した場合(Fig. 8a), 3, 4, 5, 7日間培養後のCTL活性は, それぞれ, 4.9 ± 2.9(%), 6.2 ± 3.9, 6.0 ± 3.5, 3.5 ± 2.9であった. 一方, 10⁻⁶Mの dexamethasoneに加え, 50U/mlの rIL-2を添加した場合, 3, 4, 5, 7日間培養後のCTL活性は, それぞれ, 9.2 ± 4.2 (%) (p < 0.05), 11.8 ± 4.5 (p < 0.05), 17.2 ± 6.5(p < 0.01), 5.2 ± 3.9であり, 3, 4, 5日間培養時に, rIL-2添加群では非添加群に比べて, CTL活性は有

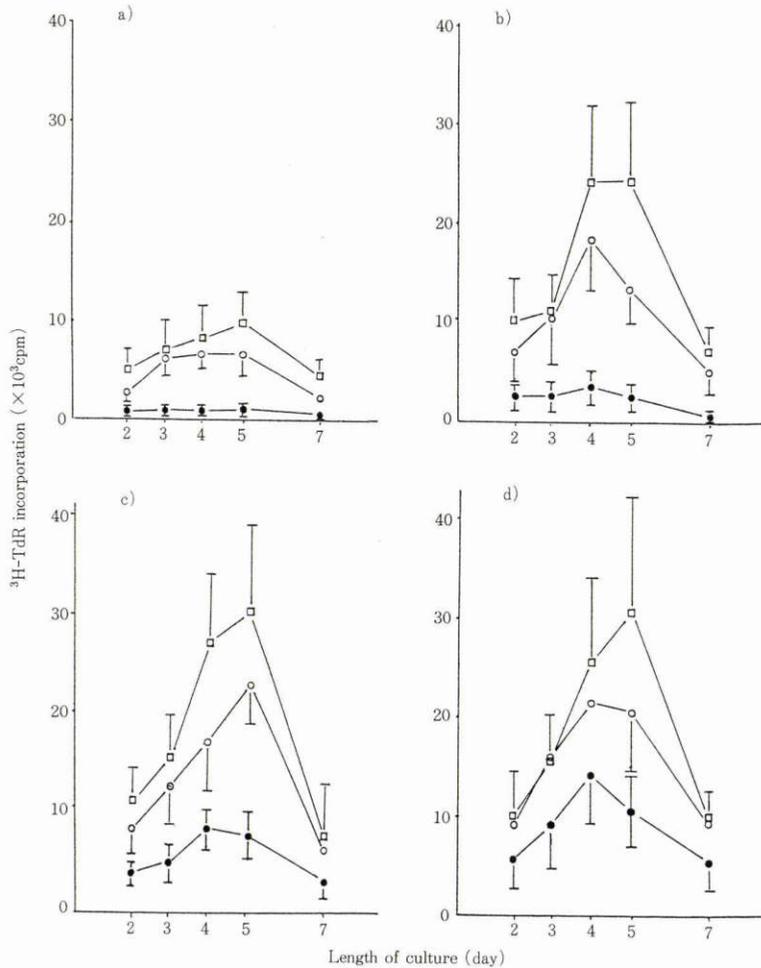


Fig. 6 The effect of dexamethasone and rIL-2 on the proliferation of spleen cells responding to HSV-infected spleen cells

Spleen cells from C3H/He mice inoculated with HSV 10 days ago were cultured with LPS-blast infected with HSV in the presence of 10⁻⁶M (a), 10⁻⁷M (b), 10⁻⁸M (c) of dexamethasone or in the absence of dexamethasone (d), in the presence of 50U/ml (○), 100U/ml (□) of rIL-2 or in the absence of rIL-2 (●) for 2, 3, 4, 5 or 7 days. Tritiated thymidine was added for final 24 hours. Tritiated thymidine incorporation of spleen cells was measured. Results were mean ± SD.

意に増加した。10⁻⁷M (Fig. 8b) および 10⁻⁸M (Fig. 8c) の dexamethasone を添加した場合も、3, 4, 5 日間培養後、rIL-2 添加群では非添加群に比べて、CTL 活性は有意に高かった。一方、dexamethasone を添加しなかった場合 (Fig. 8d)、いずれの培養時期においても、rIL-2 添加群と非添加群の間で CTL 活性に有意差はなかった。

5. rIL-2 を培養 2 日目に加えた場合の、rIL-2 の生細胞数と CTL 活性に対する影響 (Table 1)

CTL を誘導する培養系に 50U/ml の rIL-2 を培養と同時に又は培養 2 日後に添加した場合、生細胞数は、rIL-2 無添加の場合に比べて増加していたが、両者の間に有意差はみられなかった。CTL を誘導する培養系に 10⁻⁶M の dexamethasone を添加すると、生細胞数の減少および CTL 活性の低下がみられたが、さらに 50U/ml の rIL-2 を培養と同時に又は培養 2 日後に加えると、生細胞数および CTL 活性ともに回復がみられた。この回復は、rIL-2 を培養開始時に添加した場合に著明で

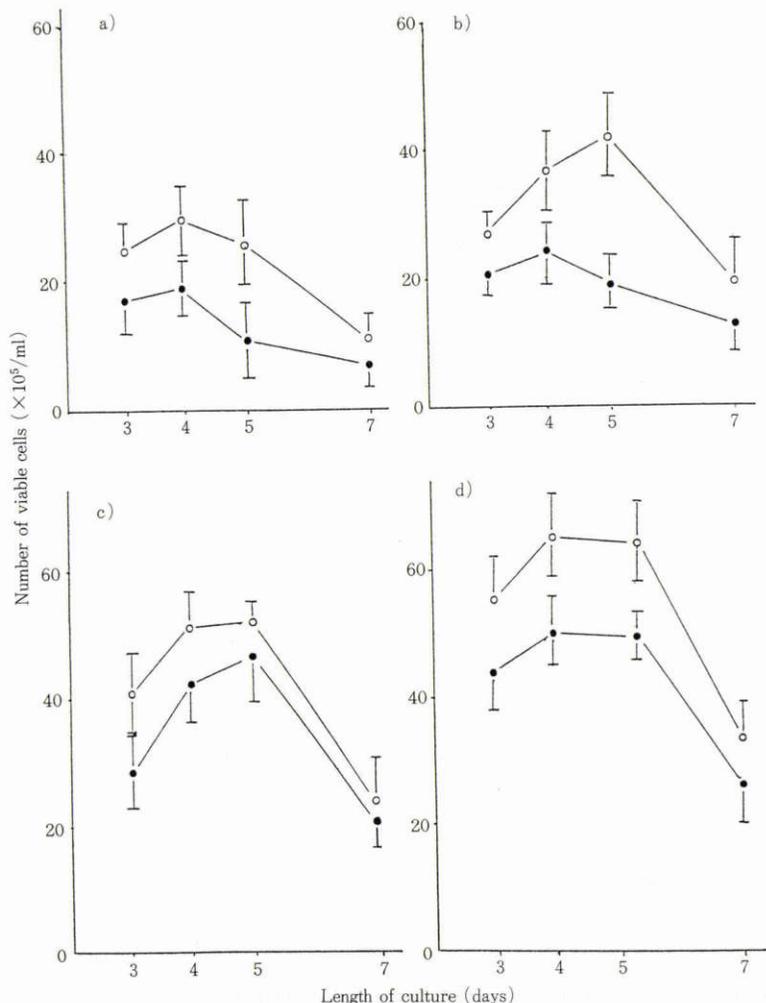


Fig. 7 The effect of dexamethasone and rIL-2 on the viability of spleen cells cultured with HSV-infected spleen cells

Spleen cells from C3H/He mice inoculated with HSV 10 days ago were cultured with LPS-blast infected with HSV in the presence of 10^{-6} M (a), 10^{-7} M (b), 10^{-8} M (c) of dexamethasone or in the absence of dexamethasone (d), in the presence of 50U/ml of rIL-2 (○) or in the absence of rIL-2 (●) for 3, 4, 5 or 7 days. Number of viable cells were measured by trypan blue dye exclusion. Results were mean \pm SD.

あった。なお、 10^{-7} M および 10^{-8} M の dexamethasone を添加した場合も同様の傾向であった。

6. rIL-2のCTLの誘導に対する影響 (Table 2)

Responder細胞に stimulator細胞を加えず responder細胞のみ培養した場合、また、50U/mlの rIL-2のみを加えて培養した場合にCTLが誘導されるか否かについて検討した。

Responder細胞に stimulator細胞を加えて4日間

培養した場合のCTL活性 (percent lysis) は、HSV角膜接種後7日目、14日目、21日目で、それぞれ、 42.4 ± 6.2 (%), 39.2 ± 5.5 , 40.5 ± 6.5 であった。一方、responder細胞にrIL-2のみを加えて培養した場合のCTL活性は、HSV角膜接種後7日目、14日目、21日目で、それぞれ、 21.3 ± 5.5 (%), 11.2 ± 4.7 , 12.5 ± 4.5 であり、HSV角膜接種後7日目のみ、弱いながらCTL活性が認められた。しかし、responder細胞のみ培養した

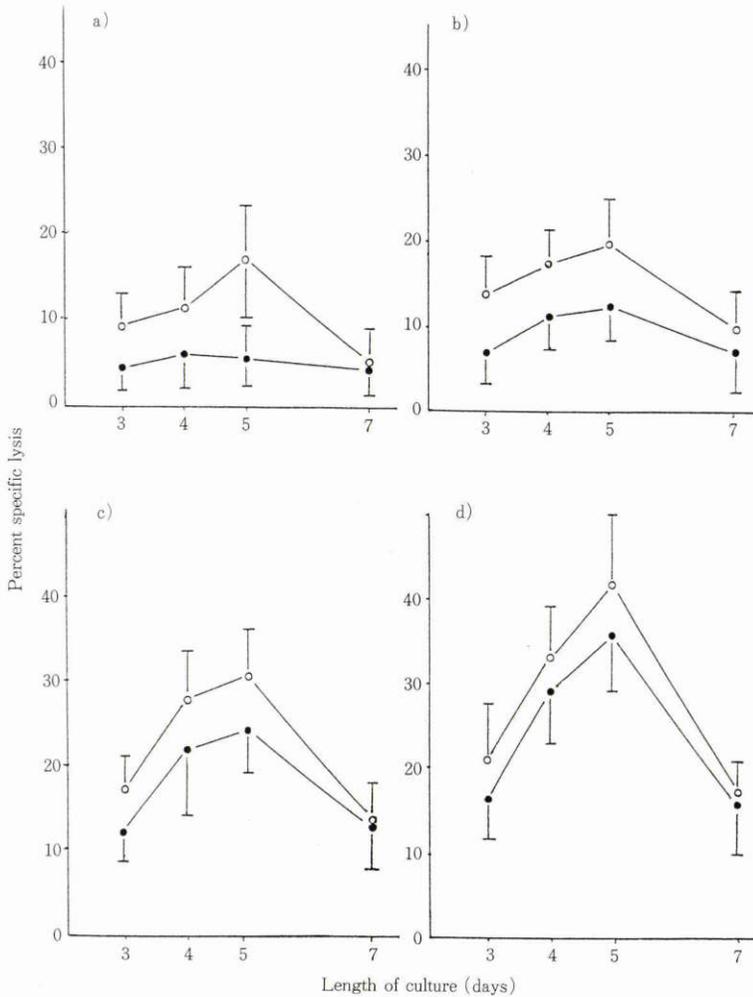


Fig. 8 The effect of dexamethasone and rIL-2 on the CTL activity
 Spleen cells from C3H/He mice inoculated with HSV 10days ago were cultured with LPS-blast infected with HSV in the presence of $10^{-6}M$ (a), $10^{-7}M$ (b), $10^{-8}M$ (c) of dexamethasone or in the absence of dexamethasone (d), in the presence of 50U/ml of rIL-2 (○) or in the absence of rIL-2 (●) for 3, 4, 5 or 7days. Cells were assayed by using HSV-infected L929 cells as target cells at effector cells/target cells ratio of 20 : 1. Results were mean±SD

場合のCTL活性は、HSV角膜接種後7日目、14日目、21日目いずれにおいてもCTL活性は認められなかった。

IV 考 按

著者の既報¹⁾によると、 $10^{-8}M$ 以上のdexamethasoneを添加した場合、dexamethasoneを添加しない場合に比べて、有意のCTL活性の低下が認められた。今回は、 $10^{-8}M$ 濃度以上のdexamethasoneを添加し

た場合、rIL-2の添加によって、低下したCTL活性がどのように変化するかについて検討した。

一般的にTリンパ球の増殖は、応答細胞のレセプター発現の程度と、IL-2の量によって規制されていると考えられている³⁾。CTLについても同様の規制が働いているとすると、今回の実験で、rIL-2をdexamethasoneと同時に添加して培養すると、dexamethasoneによるCTL活性の抑制が軽減されたことから、CTL活性の低下の大きな原因は、Tリンパ球からのIL-2の

Table 1 The effect of dexamethasone and rIL-2 on the viability and the CTL activity

Effector cells cultured with*		Number of viable cells** ($\times 10^5/ml$)	Percent specific lysis (%)
DXS (M)***	rIL-2 (U/ml)		
0	0	50.3 \pm 4.1	28.9 \pm 6.3
0	50****	62.2 \pm 4.6	32.8 \pm 5.8
0	50*****	57.3 \pm 6.5	31.2 \pm 5.6
10 ⁻⁶	0	13.7 \pm 3.1	6.2 \pm 4.9
10 ⁻⁶	50****	28.7 \pm 4.5	13.2 \pm 4.9
10 ⁻⁶	50*****	23.7 \pm 6.0	10.9 \pm 3.5
10 ⁻⁷	0	21.0 \pm 5.0	9.5 \pm 4.8
10 ⁻⁷	50****	43.6 \pm 5.1	17.5 \pm 4.1
10 ⁻⁷	50*****	34.3 \pm 5.7	16.5 \pm 4.6
10 ⁻⁸	0	36.3 \pm 7.2	22.2 \pm 5.6
10 ⁻⁸	50****	50.7 \pm 6.5	25.3 \pm 6.2
10 ⁻⁸	50*****	43.7 \pm 4.5	23.9 \pm 4.5

Mean \pm SD

- * Effector cells were prepared from spleen cells inoculated with HSV 10 days ago by culturing with LPS-blast infected with HSV for 5 days.
- ** Number of viable cells were measured by trypan blue dye exclusion.
- *** Dexamethasone was added on day 0
- **** IL-2 was added on day 0
- ***** IL-2 was added on day 2

Table 2 The effect of rIL-2 on CTL induced in the presence or absence of HSV-infected spleen cells

Effector cells* cultured with		Duration after HSV inoculation		
Stimulator cells**	rIL-2***	7day	14day	21day
+	-	42.4 \pm 6.2	39.2 \pm 5.5	40.5 \pm 6.5
-	+	21.3 \pm 5.5	11.2 \pm 4.7	12.5 \pm 4.5
-	-	8.2 \pm 3.9	7.0 \pm 2.3	9.3 \pm 1.8

Mean \pm SD

- * Effector cells were prepared from spleen cells inoculated with HSV 7, 14, or 21 days ago by culturing with or without LPS-blast infected with HSV for 5 days.
- ** LPS-blast infected with HSV
- *** Fifty unit/ml of rIL-2 was added on day 0

産生を抑制することにあると考えられる。

また、dexamethasoneによるCTL活性の抑制効果が十分に認められる段階において、rIL-2の添加によってCTL活性の回復が認められるかどうかについて検討する目的で、rIL-2をdexamethasone添加後2日時

に添加した実験を行った。培養2日後にrIL-2を添加した理由としては、既報¹⁾における実験で、培養2日後にdexamethasoneを培養中から除去してもdexamethasoneによるCTL活性の抑制効果は、除去しなかった場合と比べてあまり差がなかったからである。今回の実験結果、すなわちrIL-2を培養2日時に添加した場合もdexamethasoneによるCTL活性の抑制が軽減されるという事実は、dexamethasoneを添加した場合にみられるCTL活性の低下の大きな原因が、Tリンパ球からのIL-2の産生を抑制することにあるという考えを補強するものである。

これまでにコルチコステロイドによるIL-2産生抑制については、いくつかの報告⁴⁾⁵⁾⁶⁾がなされている。Gillisらはマウスリンパ球にコルチコステロイドを加えた後、concanavalinAで刺激し、その上清中のTcell growth factor(TCGF)を測定したところ、TCGF(現在ではIL-2と呼ばれている)の産生量の低下はステロイドに対する濃度依存性を示したとしている⁴⁾。すなわち、ステロイドの濃度が高くなければ、IL-2の産生量が少なくなるというものである。また、IL-2はCTLの誘導に関与していると考えられている。今回の実験において、10⁻⁸Mのような低濃度のdexamethasoneでは50U/mlのrIL-2の添加によって、CTL活性は対照とほぼ同じレベルまで回復したが、10⁻⁷M、10⁻⁶Mとdexamethasoneの濃度を上げていくとCTL活性の回復は対照のレベルまでは達しなかった。今回のこれらの実験結果とGillisらの報告を考えあわせると、10⁻⁷Mや10⁻⁶Mのような比較的高濃度のステロイド処置群では、添加したrIL-2の量が十分でなかったと推定される。

コルチコステロイドによるIL-2産生の抑制のメカニズムについてはまだ解明されていない。Ilfeldら⁷⁾は、allogenic mixed lymphoid culture (MLC)において、培養後100時間経過時にコルチコステロイドを添加した場合、³H-thymidineの取り込みが抑制されないことから、コルチコステロイドはTリンパ球におけるPre-DNAの合成を抑制するのではないかと述べており、これがIL-2の産生の抑制を引き起すものと推定している。IL-2産生細胞は癌化した培養T細胞、NK細胞が属するlarge granular lymphocyte (LGL)にもみられる⁸⁾が、主としてマウスではLyt1⁺2⁻、ひとではT⁴⁺8⁻のヘルパー/インデューサー (TH/1)とされている。コルチコステロイドが直接TH/1に作用するのか、その前段階に作用するのかという点、またPre-

DNAの合成抑制がなぜ生じるかについては、不明のままである。いずれにせよ、今回の実験から、ステロイドがCTLに直接作用する可能性は少ないものと推定される。

IL-2に反応して増殖する細胞(IL-2 receptorを発現する細胞)はCTL⁹⁾だけではなく、遅延型アレルギーT細胞、ヘルパーT細胞、サブプレッサーT細胞¹⁰⁾、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)¹¹⁾が知られている。今回の実験では、誘導されたeffector細胞は、H-2 restrictionを認めること、Thy1抗原を持つことから、細胞傷害性を示すTリンパ球の主体はCTLと考えられるが、subpopulationについては検討していないため、rIL-2を添加した場合、ヘルパーT細胞やNK細胞の関与の可能性を完全には否定できない。

また、IL-2はT細胞の増殖効果が主であり、CTLの分化には一般的には関与しないと考えられているが、最近、クローン化したCTLを用いた実験で、rIL-2の単独添加によって、メモリーCTL(mCTL)からCTLへの再活性化、すなわちrIL-2がLyt2⁺T細胞を直接に刺激し、CTLに分化させることが報告されている¹²⁾。今回の実験では、rIL-2のみの添加群において、mCTLからCTLへのはっきりした再活性化は見られなかった。mCTLからCTLへの再活性化には、IL-2の他に第2のリンホカインが関与する考えかた¹³⁾もあり、今後の検討を要すると思われる。

実質型角膜ヘルペスにおいて、ステロイド点眼剤の使用により病状が重症化することがある^{14)~16)}。この機序の一つとして、先に報告したように、ステロイドによるCTL活性の抑制が考えられる。IL-2の添加によってステロイドによるCTL活性の低下が防げられるという今回の実験結果から、ステロイド点眼剤の使用により重症化した症例に対し、rIL-2の臨床応用の可能性が考えられる。In vivoにおいて、今後検討していく価値があると思われる。

稿を終えるにあたり、ご校閲下さいました調枝寛治教授に深謝いたします。終始、ご指導いただきました教室の坂田広志講師に深謝いたします。また、検査部の高石雅敏講師のご指導に深謝いたします。

本論文要旨は第51回日本中部眼科学会で発表した。

文 献

- 1) 末広龍憲：単純ヘルペス角膜炎の免疫薬理学的研究—マウス脾 cytotoxic T lymphocyte におけるコルチコステロイドの抑制作用について—。日眼 90: 1714—1722, 1986。
- 2) 伊東恭悟, 倉根一郎, 斉藤史郎, 川上一岳, 小坂志郎, 熊谷勝男：CCAのIFN誘導能と免疫調節作用。臨床免疫 15: 242—252, 1983。
- 3) Cantrell DA, Smith KA: Transient expression of interleukin 2 receptors. J Exp Med 158: 1895—1911, 1983。
- 4) Crabtree GR, Gills S, Smith KA, Munck A: Glucocorticoids and immune responses. Arthritis Rheum 22: 1246—1256, 1979。
- 5) Arya SK, Wong-Staal F, Gallo RC: Dexamethasone-mediated inhibition of human cell growth factor and γ -interferon messenger RNA. Immunology 133: 273—280, 1984。
- 6) Randazzo B, Hirschberg T, Hirschberg H: Inhibition of the antigen-activated T cell response by methylprednisolone is caused by inhibition of interleukin-2 production. Int J Immunopharmacol 6: 419—429, 1984。
- 7) Ilfeld DN, Krakauer RS, Blaese RM: Suppression of the human autologous mixed lymphocyte reaction by physiologic concentrations of hydrocortisone. J Immunol 119: 428—434, 1977。
- 8) Suzuki R, Suzuki S, Ebina N, Kumagai K: Suppression of alloimmune cytotoxic T lymphocyte (CTL) generation by depletion of NK cells and restraint by interferon and/or interleukin 2. J Immunol 134: 2139—2148, 1985。
- 9) Farrar WL, Johanson HM, Farrar JJ: Regulation of the production of immune interferon and cytotoxic T lymphocytes by interleukin 2. J Immunol 126: 1120—1125, 1981。
- 10) Smith KA, Ruscetti FW: T-cell growth factor and the culture of cloned functional T cells. In Advances in Immunology 31: 137—175, 1981。
- 11) Suzuki R, Handa K, Itoh K, Kumagai K: Natural killer (NK) cells as a responder to interleukin 2 (IL2). 1. Proliferative response and establishment of cloned cells. J Immunol 130: 981—987, 1983。
- 12) Yoshimoto R, Kashima N, Okada K, Amikura K, Hamuro J: Recombinant interleukin 2 differentiates alloantigen primed Lyt-2⁺ T cells into the activated cytotoxic state. Eur J Immunol 15: 325—331, 1985。
- 13) Wagner H, Hardt C, Rouse BT, Rollinghoff M, Scheurich P, Pfizenmaier K: Dissection of the proliferative and differentiative signals controlling murine cytotoxic T lymphocyte responses. J Exp Med 155: 1876—1881, 1982。
- 14) 松田英彦：角膜ヘルペスに関する2, 3の知見。眼 30: 1836—1844, 1979。
- 15) 田中直彦, 石川凜子, 横山志津子：単純ヘルペス性角膜炎の臨床的観察。その2。重症例について。臨眼 27: 1301—1306, 1973。
- 16) 山西政昭, 高知秀和, 秋野 薫, 北野周作：角膜ヘルペスの臨床的病態。眼科 22: 255—259, 1980。