

Title	ヒトヘルパーT細胞の定量法の確立とその作用機作の解析
Author(s)	平野, 俊夫
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32287">https://hdl.handle.net/11094/32287</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	平野俊夫
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4467 号
学位授与の日付	昭和 54 年 1 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ヒトヘルパーT細胞の定量法の確立とその作用機作の解析
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 浜岡 利之 教授 天野 恒久

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

近年、マウス等の実験動物においては、B細胞が抗体産生細胞に分化する過程において、T細胞が重要な役割を演じていることが明らかにされた。ヒトにおいても、B細胞の分化にT細胞が重要な役割を演じていることは、Greaves, Cooper, Waldmann等の各グループによって報告されているが、ヘルパーT細胞の作用機作は今だ不明な点が多い。一方、臨床的に、各種の免疫異常症の診断及びその病因の解明、ひいては治療には、ヘルパーT細胞の機能を定量し、その作用機作を解明することが必須である。Pokeweed mitogenの刺激で、ヒトのB細胞は抗体産生細胞へと分化増殖するが、この過程は、T細胞に依存することが知られている。私は、マイクロプレートによる培養と、ラジオイムノアッセイを併用することにより、極少量の末梢リンパ球を使用して、PWMで誘導されるヒトリンパ球による抗体(Ig)産生の機構を解析し、ヘルパーT細胞の作用機作の基礎的研究をおこなった。

### 〔方 法〕

健康成人末梢血より、Ficoll-isopaque法によりリンパ球を分離した。ノイラミニダーゼ処理羊赤血球を使用して、ロゼット法によりT細胞とB細胞に分離した。 $2 \times 10^5$ この細胞を $200 \mu\text{l}$ のRPMI液に浮遊さし(10%牛胎児血清、及び $5 \times 10^{-5} \text{M}$ の2-mercaptoethanolを含む)、マイクロプレートにて7日間培養を行なった。培養上清中のIgG, IgMはラジオイムノアッセイにより測定した。 $^3\text{H}$ -thymidineの細胞内への取り込みは、4時間パルスの後、automatic cell harvesterを使用して、フィルター上に細胞を集めて、放射活性を測定した。

## 〔結 果〕

$2 \times 10^5$ の末梢リンパ球をPWMとともに、7日間培養すると、培養上清中に、 $400 \sim 2000 \text{ ng/ml}$ のIgG、IgMが検出される。このIgGやIgMの産生は、B細胞のみでは殆んど認められないが、T細胞を加えると、加えたT細胞の数に比例してIgが産生される。ヘルパーT細胞の作用は、マイトマイシンC処理で、T細胞の分裂を止めても発揮された。ヘルパーT細胞が主要組織適合抗原(MHC)バリアーを越えて働くかどうかを検討することは、細胞間相互作用の機構を解明する上にも、又臨床的に応用する場合にも重要な点である。このことを検討した結果、allogeneic T細胞も、autologous T細胞と同様にB細胞のIg産生を助けることがわかった。次にヘルパー作用がT細胞より遊離される可溶性因子によってなされるか否かを検討してみた。末梢リンパ球、T細胞、あるいはB細胞をPWMと2日間培養し、その上清を最終濃度50%の割合で $1 \times 10^5$ のB細胞の培養中に加え、さらに7日間培養したところ、末梢リンパ球あるいは、T細胞より得られた培養上清は、有意にB細胞のIg産生を助けたが、B細胞より得られた培養上清は、ヘルパー作用を示さなかった。このようにTヘルパー作用の少くとも一部は、T細胞より遊離される可溶性因子により行なわれることが明確となった。又この可溶性因子も、MHCバリアーを越えて働く。次に、B細胞の分化増殖のどの過程でヘルパーT細胞が働くかを調べるために、Ig産生の経時的变化と、B細胞の増殖の関係を検討した。PWMの刺激で誘導されるB細胞の細胞分裂も、T細胞に依存することが判明したので、 $1 \times 10^5$ のマイトマイシンC処理T細胞と $1 \times 10^5$ のB細胞を混ぜて、PWMのもとで培養し、 $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みを測定したところ培養開始後4日目に最高に達した。一方Ig産生は、4日目に初めて有意になり、以後急激に増加した。このように、B細胞は、PWMの刺激で、T細胞の存在下に、まず細胞分裂をおこし、その後Ig産生細胞へと分化することがわかる。次に、ヘルパーT細胞が、このようなB細胞の分化増殖のどの過程に働くかを検討してみた。 $1 \times 10^5$ のB細胞をPWMとともに培養し、種々の時間を経てからT細胞を加えたところ、培養開始時に加えた時に最高のIg産生がみられた。同様に、T細胞の可溶性因子を加えた時もほぼ同じ結果が得られた。いずれの場合にも、4日目以後に加えても効果はほとんどなかった。このことより、ヘルパーT細胞は、B細胞の分化増殖の早期に働くと考えられる。

## 〔総 括〕

このように、マイクロプレートとラジオイムノアッセイを併用することにより、極少量のヒト末梢リンパ球を使用して、in vitro Ig産生の機構を解明することが可能であり、ヘルパーT細胞の機能を正確に定量することが出来る。ヘルパーT細胞は、MHCバリアーを越えて働き、可溶性因子により作用を発揮することを示した。又B細胞の分化増殖の極初期に働き、後期の分化には影響のないことを示した。なおこの方法により、各種の免疫異常症の細胞レベルでの解析が可能と考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

近年、実験動物においては、免疫応答の調節機構は詳細に解明されてきた。これらの多くの知見に

に基づき、ヒトの免疫応答機構を解明することは、自己免疫疾患などの免疫異常症の病因の解明、及び治療には必須と考えられる。本論文は、ヒト末梢リンパ球を使用して、*in vitro*抗体産生系を確立し、ヘルパーT細胞の機能の定量法の確立、及びその作用機作の解析を行ったもので、ヒトの免疫応答機構の解明へと第一歩を踏み出した点で評価される内容と考えられる。