

Title	X染色体連鎖免疫不全マウスでみられるB細胞刺激因子に対する免疫応答異常
Author(s)	富田, 照見
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33979">https://hdl.handle.net/11094/33979</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)	とみ 富	た 田	しょう 照	けん 見
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6400	号	
学位授与の日付	昭和59年3月24日			
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	X染色体連鎖免疫不全マウスでみられるB細胞刺激因子に対する 免疫応答異常			
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 本庶 佑			

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

ヒトの遺伝性免疫異常症のひとつに、X染色体に連鎖した免疫不全症がある。しかし、これらの詳しい発症機序については、現在ほとんど不明でその解明には、免疫応答の一連の細胞性機構のどの段階で異常が発現しているのか、また更には、その異常発現機序を遺伝子レベルで解析する必要がある。しかし、ヒトでの解析は尚困難であり、適当な実験動物モデルを確立し、これを用いての解析が必要である。この点に関し、X染色体に連鎖したある種のB細胞欠損を有するCBA/Nマウスがアメリカで発見され、この目的に現在繁用されている。また、当教室では最近B細胞の応答性に異常を示す変異系統マウスであるDBA/2Haマウスを見出した。即ち、このマウスは、B細胞表面上に分化因子であるT細胞代替因子(TRF)の受容体を欠損している為TRFに全く反応せず、この無反応性がX染色体に連鎖し劣性遺伝する形質を有するマウスである。CBA/N及びDBA/2Haマウスはいずれも選択的にB細胞機能異常を有しており、従って、より詳細にB細胞の分化過程を解析し、いずれの段階に異常が存在するのか確かめる必要がある。現在、B細胞がT細胞由来の可溶性因子により抗体産生細胞にまで分裂分化する過程において、分裂のシグナルを与えるB細胞増殖因子(BCGF)と分化のシグナルを与えるTRFの少なくとも2種類のB細胞刺激因子を必要とする事が明らかになっている。

本論文は、B細胞の抗体産生細胞への一連の分化過程で異なる作用を示すこれらB細胞刺激因子を用いて、X染色体連鎖変異系統マウスであるCBA/N及びDBA/2HaマウスでのB細胞免疫応答の遺伝的欠損の様相について比較検討を行なったものである。

(方法ならびに成績)

(i) BCGF 及び TRF の調整 本実験を行なうにあたり、できる限り単一の活性を有するもので、その物質の性状の明らかなT細胞因子を用いる必要がある。この為に、いくつかのリンフォカイン産生性T細胞融合株の培養上清(CFS)を用いた。Harwellらにより樹立されたT細胞融合株FS 6-14.13を Concanavalin A  $4 \mu\text{g}/\text{ml}$  で24時間刺激したCFS中にはInterleukin-2 (IL-2) 及びBCGFの両活性が存在する。よってBCGFの部分精製された標品として、FS 6-CFSを chromatofocusing による等電点分画 (pH域7.0-4.0)を行ない、pI 4.6-4.9を示すIL-2活性の混入が全くみられず、BCGF活性のみが認められるpI 6.3-6.5の画分を用いた。TRFとしては、当教室で樹立されたTRF産生性T細胞融合株B 151 K12のCFSを用いた。このB151 K12-CFS中には強いTRF活性(pI 4.9-5.1)を検出し得るが、IL-2活性や、抗 $\mu$ 抗体刺激下でのBCGF活性は認められなかった。この様に部分精製されたBCGF及びTRFを用い以下の実験を行なった。

(ii) BCGF 応答性の比較検討 CBA/N及びDBA/2Ha マウスのB細胞のBCGF 応答性を検討した。BCGF活性の検出には、B細胞標品中にT細胞並びにマクロファージの混入をできる限り防ぐ必要がある。そこで、2日前に抗胸腺細胞抗血清(ATS)を腹腔内投与されたマウスの脾細胞を、最初に Sephadex G10 カラムに通し付着性細胞(主としてマクロファージ)を除去、次いで、抗Thy1抗体及び抗Lyt 1抗体と補体処理を連続2回行い、徹底的にT細胞を除去したものをB細胞源とした(表面免疫グロブリン陽性細胞は98%以上)。このB細胞を精製ヤギ抗 $\mu$ 抗体或いは、Sephrose-beadsに結合した不溶性抗 $\mu$ 抗体により刺激する際の、種々の培養上清中のB細胞分裂促進能(72時間培養後の $^3\text{H}$ -Thymidineの細胞内への取り込みを指標にした)によりBCGF 応答の有無を検討した。その結果、DBA/2HaマウスのB細胞は対照である正常BALB/c マウスと同様、抗 $\mu$ 抗体共存下でBCGFに濃度依存性に応答した。一方、CBA/NマウスのB細胞は、同一実験条件下で全く反応が観察されなかった。そこで、CBA/NマウスでみられるこのBCGF 低応答性が、X染色体上の遺伝子により支配を受けているかどうか解析する為に、CBA/N雌とDBA/2Ha雄の $F_1$ ( $\text{NDF}_1$ ) マウス、及びDBA/2Ha雌とCBA/N雄の $F_1$ ( $\text{DNF}_1$ ) マウスを作製し、その各々の雌雄マウスのB細胞のBCGFに対する応答性を検討した。その結果 $\text{NDF}_1$ の雄マウスのB細胞のみがBCGFに低応答性を示し、 $\text{NDF}_1$ 雌及び $\text{DNF}_1$ 雌雄マウスのいずれのB細胞も抗 $\mu$ 抗体刺激下でBCGFに応答した。この事より、CBA/NマウスのB細胞のBCGF に対する低応答性がX染色体に連鎖して劣性遺伝している事が確認された。

以上の事実は、一見CBA/NマウスのB細胞のBCGFそのものに対する無応答性を示唆するが、しかし、このB細胞をSephrose-beads 結合不溶性抗 $\mu$ 抗体で刺激すると、正常BALB/cと同程度にBCGFに濃度依存性に応答する事から、このマウスのB細胞応答の異常は、BCGF 其のものに対する不応答性によるものではなく、表面免疫グロブリンを介するシグナル伝達機構の異常に起因するものと思われる。

(iii) TRF 応答性の比較検討 次に、これらマウスのB細胞のTRF に対する応答性を、以下に示す2つの方法で検討した。即ち、抗原未感作B細胞を低濃度のTNP-Ficollで刺激する時(一次免疫応答)、或いは、DNP-KLH感作B細胞を二次抗原であるDNP-OVAで刺激する時(二次免疫応答)、その各々にTRFを添加し、4日或いは5日間培養後の抗TNP PFC数を測定する事により考察した。

CBA/Nマウスの抗原未感作B細胞は、TRF 低応答性であるが、一端抗原で感作されると、BALB/c マウスと同程度にTRFに応答するようになる。一方、DBA/2Ha マウスのB細胞は抗原未感作の状態でもBCGFには応答するのに対し、一次免疫応答のみならず、二次免疫応答の系においてもTRFに全く反応しなかった。これはCBA/NマウスのB細胞が二次免疫応答の系に於いてTRFに反応している点で対照的な様相を示している。

(総括)

以上、部分精製されたBCGFとTRFを用いて、X染色体連鎖免疫不全マウスであるCBA/N及びDBA/2Ha マウスのB細胞の免疫応答性を解析した結果、両者は異なるB細胞機能異常を示した。即ち、CBA/NマウスのB細胞は、BCGFやTRF等のB細胞刺激因子の受容性(acceptability) そのものには異常はみられず、表面免疫グロブリンを介するシグナル伝達機構の異常の存在が示唆された。一方DBA/2Ha マウスのB細胞はBCGFに対する反応性は正常であるがTRF受容体の発現異常によりTRF応答性のみが選択的に欠損している事が明らかとなった。本研究は、ヒトのX染色体連鎖免疫不全症の発症機序の解明に有用な動物実験モデルを提供するものと思われる。

#### 論文の審査結果の要旨

本論文はX染色体に連鎖した免疫不全を有するCBA/N及びDBA/2Ha マウスを用いてB細胞の免疫応答性を解析し、これらのマウスに異なるB細胞機能異常が存在している事を明らかにしたものである。

これは、ヒトのX染色体連鎖免疫不全症の発症機序の解明のみならず、B細胞の分化過程の解明にも有用な情報を提供するものと思われる。