

Title	自然発症Ⅰ型糖尿病マウスを用いた膵島炎成立機序の分析：膵島浸潤細胞および脾リンパ球サブセットの経時的観察
Author(s)	宮崎, 厚
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34648
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【34】

氏名・(本籍)	みや ぎき おつし 宮 崎 厚
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 8 2 8 号
学位授与の日付	昭 和 6 0 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	自然発症 I 型糖尿病マウスを用いた膵島炎成立機序の分析：膵島浸潤細胞および脾リンパ球サブセットの経時的観察
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 岸本 進 教授 藤田 尚男

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

I 型糖尿病の成立には、膵島に対する臓器特異的な自己免疫機序の関与が考えられている。一方、初期 I 型糖尿病に特徴的な病理所見の膵島炎 (insulitis) における浸潤細胞は、大部分小リンパ球と考えられているが、その詳細は不明であった。本研究では、膵島炎成立機序を詳細に分析するため、I 型糖尿病の疾患モデル動物である NOD (non-obese diabetic) マウスを用い、経時的に膵島浸潤リンパ球の subset を同定するとともに、脾リンパ球 subset の変動を検討した。

(方法ならびに成績)

1. 膵島浸潤リンパ球 subset の同定

膵島炎初期の 6 週令、リンパ球浸潤が最も強くみられる 9 週令、顕性糖尿病を発症しはじめる 13 週令の雌 NOD マウスの膵凍結切片を用いた免疫組織蛍光抗体法にて、膵島浸潤リンパ球 subset を検討した。一次抗体として、抗 Thy 1.2 (panT)、抗 Lyt 1 (主として helper T を認識) 抗 Lyt 2 (cytotoxic-suppressor T) 各モノクローナル抗体を用いて T リンパ球を同定し、抗 Ia モノクローナル抗体にて Ia 陽性細胞を、抗 asialo-GM 1 抗血清を用い Natural Killer (NK) 細胞を、それぞれ間接蛍光法にて同定した。Ig 陽性細胞は FITC 標識抗マウス Ig を用いた直接蛍光法にて同定した。一部の切片においては、FITC と Texas Red の二種の蛍光物質を同一切片上で反応させる double staining を行った。

結 果:(i) いずれの週令の NOD マウス膵島においても、すべての subset のリンパ球が認められたが、膵島炎初期には T リンパ球が主体であり、その subset では Lyt 1 陽性細胞が Lyt 2 陽性細胞より多数

浸潤していた。

(ii) double staining による検討では、約半数の T リンパ球が Ia 抗原陽性、すなわち activated T cell であった。しかしながら膵島細胞自体には、Ia 抗原は検出されなかった。

(iii) 大部分の Ig 陽性細胞は同定の際 ring 状に蛍光を示し、B リンパ球と考えられたが、一部は細胞質に強い蛍光を示し、形質細胞と考えられた。Ig 陽性細胞は膵島炎の進行とともに増加する傾向を示した。一方、膵島細胞自体には、Ig の沈着は認められなかった。

(iv) 浸潤細胞の局在では、T リンパ球が、Lyt 1 陽性細胞、Lyt 2 陽性細胞ともに、膵島近傍や膵島内に多く認められ、Ig 陽性細胞は血管や膵管の近傍から T リンパ球群の周囲にかけて多数浸潤していた。NK 細胞は少数ながら膵島細胞にほぼ接する位置に存在した。

2. 脾リンパ球 subset の変動

3, 6, 9, 13週令の糖尿病未発症の雌 NOD マウス各 8 匹ずつを用い、対照として同週令の雌 ICR マウスを使用した。実験に使用するまで、すべてのマウスは SPF 条件下で飼育した。膵島浸潤リンパ球を同定したものと同一抗体を用い、位相差蛍光顕微鏡下に蛍光陽性細胞を同定し、脾リンパ球中に占める各 subset の百分率を求めた。さらに Lyt 1 陽性細胞と Lyt 2 陽性細胞に関しては Thy 1.2 陽性細胞に対する百分率を算出した。

結果：(i) 膵島炎がほとんど観察されない 3 週令においては、Thy 1.2 陽性細胞、SIg 陽性細胞ともに、NOD, ICR 両者間に有意差を認めなかった。しかし、膵島炎の始まる 6 週令においては、Thy 1.2 陽性細胞が NOD マウスにおいて $45.9 \pm 9.3\%$ (Mean \pm SD) と ICR マウスの $22.9 \pm 6.4\%$ に比し著明に増加していた ($p < 0.001$)。この T リンパ球の増加は 9 週令、13 週令においても持続していた。一方、B リンパ球は、6, 9, 13 週令において、NOD マウスでは有意に減少していた。

(ii) Thy 1.2 陽性細胞に対する Lyt 1 陽性細胞と Lyt 2 陽性細胞の百分率では、Lyt 1 陽性細胞はすべての週令において、NOD, ICR 両者間に有意差はみられなかったが、Lyt 2 陽性細胞は 3 週令において、NOD: $23.3 \pm 7.3\%$ ICR: $15.1 \pm 4.4\%$ と有意に増加していた ($p < 0.025$)。そして、この増加は、6, 9 週令においても認められたが 13 週令においては観察されなかった。

(総括)

1. NOD マウスにおける膵島浸潤リンパ球は T リンパ球が主体で膵島に接して存在し、しかも T 細胞の約半数は Ia 抗原陽性の activated T cell であった。

2. NK 細胞も膵島に接して存在したが、Ig 陽性細胞は血管や膵管の近傍から T リンパ球群の周囲にかけて多数浸潤していた。

3. 膵島細胞自体には、Ia 抗原や Ig の沈着などは認められなかった。

以上より、NOD マウスの膵島炎の成立には、T リンパ球や NK 細胞を主体とする細胞性免疫が中心的役割を演じていることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は初期Ⅰ型糖尿病に特徴的な膵島炎における浸潤リンパ球サブセットの経時的変化を、モデル動物（NODマウス）を用いて、免疫組織化学的に詳細に分析し、浸潤リンパ球の主体は、Ia抗原陽性のTリンパ球やNK細胞であることを示すとともに、脾におけるTリンパ球の増加を明らかにした。これらにより、膵島炎の成立における細胞性免疫の病因的意義がより明確となった。学位に値する論文と判断される。