The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【34】

氏名・（本籍）	宮崎　厚（みやざき　あつし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　6828　号
学位授与の日付	昭和60年3月25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Lyt1（主としてhelperTを認識）抗Lyt 2（cytotoxic-suppressorT）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じ抗体を用い，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±9.3％(Mean±SD)とICRマウスの22.9±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±7.3％ ICR：15.1±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。