



Title	ヒト急性白血病細胞（HSB-2）由来免疫抑制物質の免疫抑制機構の解析：Class II MHC抗原を認識するT細胞に対する選択的抑制効果
Author(s)	伊藤，喜一郎
Citation	大阪大学，1985，博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34677">https://hdl.handle.net/11094/34677</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">大阪大学の博士論文について</a>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

【6】

氏名・(本籍)	伊 藤 喜 一 郎
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 8 0 0 号
学位授与の日付	昭 和 60 年 3 月 25 日
学名授与の要件	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	ヒト急性白血病細胞 (HSB-2) 由来免疫抑制物質の免疫抑制 機構の解析 — Class II MHC 抗原を認識するT細胞に対する選択的抑制効果 —
論文審査委員	(主査) 教 授 濱岡 利之 (副査) 教 授 坂本 幸哉 教 授 園田 孝夫

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

一般に担癌生体では、体液性及び細胞性免疫応答でも広く免疫抑制の存在が知られている。この事は生体の持つ癌に対する免疫監視機構の破綻と、癌の無秩序的な増殖という観点からみると、非常に重大な意義を有する。癌による免疫抑制状態が如何に惹起されるかは、従来より種々の解析がなされているが、いまだその詳細は明らかではない。ここでは、癌による免疫抑制状態を惹起する物質として、ヒト急性白血病細胞(HSB-2)由来の免疫抑制物質に着目し、それらを単離精製するとともに、その抑制機構の解析をマウスリンパ球を用いた in vitro 培養系で行なったので報告する。

(方 法)

①癌細胞：ヒト急性白血病細胞 (以下, HSB-2) を用いた。② HSB-2 由来免疫抑制物質 (以下, HSB-2 factor) : HSB-2 crude 培養上清を Sephacryl S-300 でゲル濾過後の活性画分 (分子量 45K-60K) を BSA 除去の目的で, Blue Sepharose Column で処理した活性画分を用いた。この画分の SDS-PAGE による解析では, 3 本の visible band が認められた。③マウス T 細胞依存性抗体産生系: a) DNP-KLH 感作脾細胞を感作抗原である DNP-KLH と 5 日間培養し, 出現する抗-DNP IgG PFC を測定した。b) class I, 及び class II MHC を認識する allogeneic ヘルパー T 細胞 ( $T_H$ ) の誘導: class I  $T_H$  は, C3H. OH [ $K^d I^d D^k$ ] マウスを BALB/c [ $K^d I^d D^d$ ] 脾細胞で, class II  $T_H$  は, bm 12 [ $K^b I^{bm 12} D^b$ ] マウスを C57BL/6 [ $K^b I^b D^b$ ] 脾細胞で免疫する事により各々誘導した。 $T_H$  活性は各々の感作脾細胞を抗-mouse Ig coated dish で処理し, 非付着性の T 細胞を Mitomycin C 処理後, class I  $T_H$  は正常 BALB/c 脾細胞を抗-Thy 1 + 補体処理した B 細胞と, class II  $T_H$  は同

様に処理した正常 C 57BL/6 の B 細胞と共に 5 日間混合培養し、出現する IgM PFC を protein A 結合 SRBC を用いた reverse PFC により測定した。④マウス class I, 及び class II MHC を認識する allogeneic キラー-T 細胞 (CTL) の誘導: class I CTL は, B10 [K<sup>b</sup>I<sup>b</sup>D<sup>b</sup>] マウス脾細胞を応答細胞に, B10.BR [K<sup>k</sup>I<sup>k</sup>D<sup>k</sup>] マウス脾細胞を 2000 R 照射し刺激細胞とし, 5 日間混合培養後, <sup>51</sup>Cr でラベルした Ia 抗原を発現していない X 5563 plasmacytoma (H-2<sup>k</sup>) を標的細胞として CTL assay を行なった。class II CTL は, 一次応答では十分な反応が出ないため, 予め刺激細胞である C 57BL/6 [K<sup>b</sup>I<sup>b</sup>D<sup>b</sup>] マウス脾細胞で感作した bm12 [K<sup>b</sup>I<sup>bm12</sup>D<sup>b</sup>] マウス脾細胞を応答細胞に, 刺激細胞としては 2000 R 照射した免疫原 C 57BL/6 マウス脾細胞を用いて, 5 日間培養後, <sup>51</sup>Cr でラベルした Ia 抗原陽性の C 57BL/6 LPS blast を標的細胞として CTL assay を行なった。以上の誘導系において, ヘルパー-T 細胞が介在しない CTL 誘導条件を設定するために, 応答細胞は Sephadex G10 column (G10) 処理後, 抗-mouse Ig coated dish で処理し, 非付着性の T 細胞を, 刺激細胞は G10 処理後の画分を用いて, T<sub>H</sub> 細胞の機能を代替する因子を含む ConA supernatant の存在下で CTL 誘導を行ない, class I, class II MHC に特異性を有する CTL 細胞を誘導した。

#### (結 果)

① DNP-KLH 感作脾細胞を DNP-KLH と培養する系に HSB-2 factor を添加すると抗-DNP IgG PFC の誘導は著明に抑制された。更に, T 細胞を除去した DNP-KLH 感作 B 細胞と, T<sub>H</sub> として同感作脾細胞を 800 R 照射した細胞を培養する系に DNP-KLH と共に HSB-2 factor を加えても著明な抑制がみられた。この事は一般に放射線感受性の抑制性細胞はこの抑制に関与しない事を示す。次に, HSB-2 factor が如何なる免疫担当細胞に作用するかを検討するために, 上記実験系で T<sub>H</sub> 或いは B 細胞を予め HSB-2 factor で 2 時間前処置し, 洗浄後, 混合培養し抑制効果を検討したところ T<sub>H</sub> 前処置した場合のみ抑制効果がみられた。この事より HSB-2 factor は T<sub>H</sub> に直接作用すると結論された。

② 一般に T<sub>H</sub> 細胞は抗原を self-Ia (class II MHC) と共に認識する事により活性化される事が示されている。従って, HSB-2 factor による T<sub>H</sub> 活性の抑制は class II MHC を認識する T<sub>H</sub> 細胞に選択的に作用する事によりもたらされている可能性が考えられる。そこで class I, class II MHC を認識する allogeneic T<sub>H</sub> を誘導し, 各々の T<sub>H</sub> 活性発現に及ぼす HSB-2 factor の効果を検討した。その結果 class II T<sub>H</sub> を HSB-2 factor で前処理すると T<sub>H</sub> 活性は著明に抑制されたが, class I T<sub>H</sub> を同様に処理しても抑制効果は全くみられなかった。一方, class I 及び class II いずれの allogeneic T-B 細胞間相互作用においても B 細胞に対する HSB-2 factor 前処理は全く抑制効果を示さなかった。この事より, HSB-2 factor による抑制は class II MHC を認識する T<sub>H</sub> に対する選択的抑制作用である事が示された。

③ 以上, T<sub>H</sub> レベルでの HSB-2 factor の抑制効果が示されたが, T<sub>H</sub> 以外の class II MHC を認識する T 細胞機能に対する効果を検討するために, class II MHC を認識する allo CTL 細胞に対する HSB-2 factor の抑制効果を検討した。〔方法〕で述べた如くの応答細胞, 刺激細胞より, マクロファージ系の抗原提示細胞を除くと, T<sub>H</sub> 細胞は活性化されず, class I, class II MHC いずれに対する CTL も誘導されなかったが, T<sub>H</sub> 細胞機能を代替する因子を含む ConA supernatant を添加すると, いずれの MHC に対しても CTL が誘導された。この系に HSB-2 factor を添加し, class I 及び class II MHC に対する

CTL誘導に及ぼす効果を検討したところ、HSB-2 factorはclass I CTLの誘導は全く抑制しなかったのに対し、class II CTLの誘導を著明に抑制した。この事より、HSB-2 factorはclass II MHCを認識する $T_H$ のみならずclass II MHCを認識するCTLに対しても選択的に抑制効果を及ぼす事が示された。  
(総括)

以上、ヒト急性白血病細胞(HSB-2)由来の分子量45K-60Kの免疫抑制物質はヘルパーT細胞及びキラーT細胞の中でも、class II MHC分子を認識するT細胞機能を選択的に抑制する事が明らかにされた。この事は最近抗腫瘍免疫において、 $Lyt-1^+$ でclass II MHCを認識するT細胞が抗腫瘍免疫の成立に重要な役割を果たしているという知見とも関連して、担癌生体での免疫不全の機構解明に重要な知見を与えるものと考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

担癌生体は、広く免疫抑制の状態にあることが知られているが、この抑制状態が如何に惹起されるかは、いまだその詳細は明らかでない。本論文は、癌による免疫抑制状態を惹起する物質として、ヒト急性白血病細胞(HSB-2)由来の免疫抑制物質に着目し、それらを部分精製するとともに、その抑制機構の解析を、マウスリンパ球を用いたin vitroの実験系で検索したものである。その結果、この免疫抑制物質は分子量45K-60Kであり、その抑制機構は、ヘルパーT細胞及びキラーT細胞の中でも、class II MHC分子を認識するT細胞機能を選択的に抑制することを明らかにした。

この結果は、担癌生体における免疫不全の機構解明に重要な知見を与えるものであり、学位論文としての価値を十分にもつものと認められる。