The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ハプテン修飾自己抗原に対するT細胞応答におけるハプテン構造とその結合様式の応答性へ及ぼす効果
Author(s)	高井, 康之
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34780
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

【28】

氏名・（本籍）	高井康之（たかい やすゆき）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6544 号
学位授与の日付	昭和59年5月29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	**ハプテン修飾自己抗原に対するT細胞応答におけるハプテン構造とその結合様式の応答性へ及ぼす効果**
論文審査委員	（主査）教授 垂井清一郎 （副査）教授 濵岡 利之　教授 岸本 進

論文内容の要旨

（目　的）

種々の自己修飾抗原に対するCytotoxic T Lymphocyte（CTL）応答の遺伝的支配は，種々のハプテンやウイルスを用いて研究されてきた。自己修飾に用いられるハプテンには蛋白のNH_2基と結合するTNP（trinitrophenyl），FITC（fluorescein isothiocyanate）等とSH基に結合するAED−SH〔N−iodoacetyl−N′−（5 sulfonic−1−naphthyl）ethylene diamine〕があり，一般にNH_2基反応性ハプテンに対するCTL応答ではH−2^kマウス，H−2^bマウスがそれぞれ高及び低応答性を示し，SH基反応性ハプテンでは，その逆となることが現在まで知られている。この様にハプテンの結合様式によってのみ，遺伝的な応答性の強弱が規定されてるのか否かを調べる目的で，上記AED−SHと骨格構造が同じで，結合様式の異なる新しいハプテンAED−NH_2〔5 $sulf_0$−1−naphthoxy acetic acid N−hydroxysuccinimide ester〕を合成し，H−2^b及びH−2^kマウスでT細胞応答を比較検討した。

（方　法）

(1) マウス：C57BL／6（B6；H−2^b），C3H／HeN（C3H；H−2^k），BALB／c（H−2^d），C57BL／10（H−2^b），B10.BR（H−2^k），B10.D2（H−2^d）を用いた。

(2) ハプテン化：赤血球を除去した脾細胞を①1mM AED−SHと30分間，②1mM AED−NH_2と10分間，③1mM trinitrobenzene sulfonateと10分間，37℃でincubateすることにより行なった。

(3) ハプテンの免疫方法：①TNPに対しては，7％ trinitrochlorobenzeneを腹部に塗布することにより，②AED−SH及びAED−NH_2に対しては各々のハプテンで修飾した同系脾細胞（AED−SH−self 又はAED−NH_2−self）を背部皮下に2−3回注射することにより行なった。

(4) リンパ球の培養と細胞傷害試験：ハプテンCTLの誘導では正常又はハプテンで免疫されたマウスの脾細胞（responding cells)を各々のハプテン化同系細胞で抗原刺激した。5日後培養細胞の細胞傷害活性を^{51}Cr release法で測定した。ハプテンhelper活性の測定は正常又はハプテンであらかじめ免疫されたマウスからの脾細胞を850 R照射した後，正常脾細胞（responding cells)と共に培養し，これを各々のハプテン化同系細胞でin vitroで抗原刺激し，5日後培養細胞のCTL活性を測定することにより，ハプテン基反応性ヘルパーT細胞活性をみた。

（成　績）

(1) TNP及びAED−SH基反応性T細胞応答の解析：NH_2基反応性ハプテンであるTNPに対するCTL応答は，今まで報告されている様にC3Hで高応答，B6で低応答性を示し，TNP−helper T細胞活性はC3Hでは検出されたが，B6では検出されなかった。一方，抗AED−SH−CTL応答では，B6は高応答性を示し，かつ有意なAED−SH helper T細胞活性を検出し得た。

(2) AED−NH_2基反応性T細胞応答の解析：in vivoであらかじめAED−NH_2で免疫されたマウスの脾細胞からはB6，C3H共に強い抗AED−NH_2−CTLの誘導がみられた。それに対し，BALB／cマウスは低応答性を示した。B10 congenic miceでもH−2^b，H−2^{k}が高応答性，H−2^{d}が低応答性を示した。AED−NH_2基反応性ヘルパー活性は，B6マウスでもC3Hと同程度の強いヘルパー活性が検出された。さらに，NH_2基反応性ハプテンであるTNP基で前処置する事によりAED−NH_2の結合が阻害される事によりAED−NH_2がNH_2基反応性ハプテンであることが示された。以上よりH−2^{b}マウスにおいてNH_2基反応性ハプテンでもAED−NH_2基を用いると強いCTL及びhelper活性が誘導されることがわかった。

(3) 抗AED−NH_2−CTL及びhelperの抗原特異性：抗AED−NH_2−CTLはAED−SH及びTNP targetをほとんど傷害せず抗原特異的であった。またAED−NH_2−helperはAED−NH_2−selfによってのみ活性化され抗AED−NH_2−CTL応答の誘導を増強した。従ってこのhelperはAED−NH_2ハプテンを特異的に認識している。

(4) ハプテンAED−SHとAED−NH_2の抗体レベルでの交叉反応性：この2つのハプテンに対する抗体は，T細胞の反応性と異なり，強い交叉反応性を示した。

（総　括）

今までH−2^{b}マウスにおいてNH_2基反応性ハプテンに対するCTL応答は，H−2^{k}マウスのそれに比し弱く，またhelper T細胞を誘導することも困難であったが，今回AED−NH_2というハプテンを用いることによりH−2^{b}マウスでも強いAED−NH_2基反応性CTL及びhelper T細胞活性を誘導することが初めて出来た。このことは，ハプテン基反応性T細胞応答の遺伝的支配はただ単にハプテンの自己成分への結合様式によってのみ規定されるのでないことを示す。ハプテンそのものの抗原構造とハプテンの結合様式の両者が，ハプテン基反応性T細胞応答におけるH−2に連鎖した遺伝子支配及びT細胞の特異性の生成にとって重要であることを示唆する。

論文の審査結果の要旨

本研究は，ハプテン修飾自己抗原に対するcytotoxic T Lymphocyte（CTL）及びヘルパーT細胞応答の遺伝的支配が，ハプテンの構造及びハプテンの自己主要組織適合抗原への結合様式によって，どのように規定されているかを解析したものである。その結果，ハプテン基反応性T細胞応答において，ハプテンの骨格構造とハプテンの自己成分への結合様式の両者によって，T細胞の特異性と共に，H－2に連鎖した遺伝的支配の様相が変化することを明らかにした。本論文は，T細胞の抗原認識機構を明らかにする上で，価値ある論文で，学位に値するものと考える。