



Title	単一ヘルパーT細胞クローンと単一B細胞クローンを用いたT-B細胞間相互作用の解析
Author(s)	吉久保, 尚司
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35267
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	吉久保 簡 司
学位の種類	医学 博士
学位記番号	第 7663 号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	単一ヘルパー T 細胞クローニングと単一 B 細胞クローニングを用いた T-B 細胞間相互作用の解析
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 谷口 維紹

論文内容の要旨

[目的]

外来抗原により誘起される免疫応答は、T-B 細胞間のたくみな相互作用により成立している事が明らかにされてきた。しかし、その詳細な解析に対しては、単一 B 細胞クローニングが得られていない今日、未だ不明瞭な部分が多い。そこで、ヘルパー T 細胞クローニングにより活性化される B ハイブリドーマの作製を行い、単一クローニング細胞レベルでの T-B 細胞間相互作用の解析を試みた。

[方法]

- ① 抗原特異的 T 細胞クローニングは Kimoto の方法により作製した。抗原 K L H と抗原提供細胞で刺激したのち、3 日目のものを活性化 T 細胞として用い、14 日目のものを休止期 T 細胞として使用した。
- ② B ハイブリドーマの作製は、(C B A / N × Balb / c) F₁ (N B F₁ と略す) 雄マウス B 細胞と T K- の B リンパ腫クローニング M12・4・5 をポリエチレングリコール 4000 を用いて細胞融合を行った。H A T 培地で選択後、表面 IgM 抗体陽性のハイブリドーマに対して活性化 T 細胞と共に培養を行い、IgM 抗体の産生が誘導されるものを限界稀釈法にてクローニングして実験に使用した。
- ③ B ハイブリドーマの抗体産生の誘導は、10³ 個の B ハイブリドーマと、10⁴ 個の活性化 T 細胞もしくは、100 μg/ml の K L H 及び 10⁴ 個の休止期 T 細胞と共に microtiter plate 中で培養を行い、4 日目の培養上清中 IgM 量を E L I S A 法にて測定した。

[成績]

- ① T 細胞及び L P S に反応する B ハイブリドーマクローニングの確立
B リンパ腫クローニング M12・4・5 と N B F₁ 雄マウス B 細胞を細胞融合し、B ハイブリドーマクローニングを確立した。

ン 1 M70を確立した。1 M70は膜表面に I g M及び I - A^dを表現している細胞で I - A^kの表現は見られなかった。活性化T細胞もしくは、LPSと共に培養する事で有意な I g M抗体産生の誘導が見られた。

② 抗原特異的T細胞クローンの確立

NBF, 雄マウスより特異性の異なる3つのヘルパーT細胞クローンを確立した。1つは、抗原K LHとH-2^d抗原提供細胞にて刺激を受け増殖するK LH特異的H-2^d拘束性のクローンMK52であり、2つめは、K LH特異的H-2^k拘束性のクローン2 MK39である。さらにもう1つは、抗原K LHの存在有無に拘わらずH-2^d抗原提供細胞に反応する自己H-2^d反応性T細胞クローン2 MK38である。

③ T細胞クローンによる1 M70のI g M抗体産生の誘導

- (a) I a^d分子を表現している1 M70は、休止期のK LH特異的H-2^d拘束性T細胞クローンMK52と共に培養すると、K LHの非存在下では1 M70に抗体産生の誘導は見られないが、20 μg/mlのK LH存在下で1 M70にI g M抗体産生の誘導が見られた。一方、休止期のK LH特異的H-2^k拘束性T細胞クローン2 MK39によっては、K LHの存在有無に拘わらず、1 M70に抗体産生の誘導は見られなかった。
- (b) 1 M70は、活性化されたT細胞クローンと共に培養すると、H-2^k及びH-2^dどちらの特異性を示すクローンによっても抗体産生の誘導が見られ、この時、K LHの存在は必要とされなかった。
- (c) 休止期MK52による1 M70の抗体産生の誘導は、モノクローナル抗I - A^d抗体により阻害されるが、活性化されたMK52による1 M70の抗体産生の誘導は、モノクローナル抗I - A^d抗体によって阻害されなかった。

[総括]

T細胞クローンとの相互作用によりI g M抗体の産生が誘導されるBハイブリドーマクローン1 M70を確立した。1 M70は抗原K LHをI - A^d分子と共にT細胞へ提供しているものと思われ、休止期のK LH特異的I - A^d拘束性のT細胞クローンMK52は、Bハイブリドーマ上のK LHとI - A^d分子を特異的に認識する事で活性化されると考えられる。したがって、この活性化段階はK LH及びI - A^dに特異的であり、抗I - A^d抗体により阻害される。次に、このようにして一旦活性化されたT細胞は、その1 M70に対する抗体産生の誘導が抗I - A^d抗体によっても阻害されない事から、最早、B細胞との直接接触を必要とせず、何らかの可溶性因子を産生するものと思われる。この可溶性因子がBハイブリドーマに作用してI g M抗体の産生が誘導されたものと考えられる。この実験系は单一クローン細胞を用いて、抗体産生におけるT - B細胞間相互作用の実験モデルを確立したものであり、T - B細胞間相互作用のより詳細な解析に有用なモデルになるとを考えられる。

論文の審査結果の要旨

免疫応答系は、多様な細胞間の相互作用により調節される。しかし、その多様な細胞集団は、逆にその詳細な解析を困難にしていた。本論文は、その問題に対する解決法としてモノクローナルなT細胞、B細胞を作製し、均一な細胞集団を用いる事で、抗体産生系におけるT細胞－B細胞間の相互作用を明確に示したものであり、一つの実験系において、T細胞とB細胞が直接接触することによって、活性化される段階と、可溶性因子により活性化される段階が見られるユニークな実験システムの確立に成功していると思われる。

モノクローナルな細胞を用いての免疫応答系の再構築の問題は今後とも重要な課題であり、本論文は学位論文に値すると思われる。