



|              |                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Effect of phospholipase (PL) A 2 inhibitors on mouse T lymphocytes : PLA 2 inhibitors exert similar immunological activities as glycosylation-inhibiting factor                                                    |
| Author(s)    | 大野, 博之                                                                                                                                                                                                             |
| Citation     | 大阪大学, 1991, 博士論文                                                                                                                                                                                                   |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                    |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37480">https://hdl.handle.net/11094/37480</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | おおのひろゆき                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 学位の種類   | 大野博之                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 学位記番号   | 医学博士                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 学位授与の日付 | 第 9561 号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 学位授与の要件 | 平成 3 年 3 月 5 日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 学位論文題目  | 学位規則第 5 条第 2 項該当                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|         | Effect of phospholipase (PL) A 2 inhibitors on mouse T lymphocytes : PLA 2 inhibitors exert similar immunological activities as glycosylation-inhibiting factor (GIF) and induced T cell hybridoma/T cell clone for the formation of GIF (PLA 2 阻害剤のマウス T リンパ球に対する影響 : PLA 2 阻害剤の G I F 様免疫学的活性と G I F 産生 T cell hybridoma/T cell clone の形成能) |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 森 武貞                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|         | (副査)<br>教授 濱岡 利之      教授 岡本 光弘                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

## 論文内容の要旨

### (目 的)

IgE 抗体産生を選択的に調節する IgE 結合因子には、IgE 増強因子と IgE 抑制因子の二種類があり、両者の相違は主にその糖鎖部分にある。その選択的産生に T 細胞因子 G E F (glycosylation-enhancing factor) と G I F (glycosylation-inhibiting factor) が関与している。そこで、G I F がリン酸化 P L (phospholipase) 阻害蛋白質の一つであることから、G I F の免疫活性に P 阻害活性が必要かどうかを、他の P L 阻害剤を用いて検討した。次いで、G I F 様免疫活性を有する P L A 2 阻害剤の T 細胞に対する影響を検討した。

### (方法および成績)

P L A 2 阻害剤の G I F 活性 : ヒト lipocortin I, P L A 2 阻害剤 O N O - R S - 082 あるいは P L C 阻害剤 neomycin の G I F 様活性について、T cell cybridoma 12H 5 の G I F 形成能を指標として検討した。 $\geq 3 \text{ n M}$  lipocortin あるいは  $\geq 0.1 \mu \text{ M}$  O N O - R S により明らかな G I F 活性が認められたが、 $0.1 \sim 10 \mu \text{ M}$  の neomycin は無効であった。部分精製 G I F は、alkaline phosphatase 処理によって P L A 2 阻害活性と伴に G I F 活性の増大を示した。以上の結果は、G I F 活性に P L A 2 阻害活性が必要があることを示唆するものである。

P L A 2 阻害剤による G I F 形成細胞の生成 : マウス ovalbumin (O V A) 感作 spleen cell を O V A ( $10 \mu \text{ g/ml}$ ) 存在下 3 日間培養後、 $0.1 \mu \text{ M}$  lipocortin,  $2 \mu \text{ M}$  O N O - R S あるいは  $10 \mu \text{ M}$  neomycin 存在下さらに 4 日間培養した。その培養細胞を O V A - pulsed macrophages により 24 時間刺激した結果、P L A 2 阻害剤 lipocortin/O N O - R S 処理細胞から O V A - 結合性 G I F が形成されること

が判明した。抗体吸収実験により、OVA-結合性G I F形成細胞は、L 3 T 4<sup>-</sup>, L y t 2<sup>+</sup>細胞であることが判明した。

12H 5細胞のG I F形成に対するP L A 2阻害剤の直接的影響：12H 5をG I F/ONO-RS存在下3日間培養後、その培養細胞をOVA-pulsed macrophagesにより24時間刺激した。マウスOVA-感作 spleen cellの場合と同様にOVA-結合性G I F形成細胞が生成された。P L A 2阻害剤によるG E F形成細胞からG I F形成細胞への変換に3日間必要かどうか調べた。12H 5をG I F/ONO-RS存在下OVA-pulsed macrophagesにより直接24時間刺激した結果、阻害剤非存在下でOVA-結合性G E Fのみが形成されたのに対し、G I F/ONO-RS存在下ではOVA-結合性G E FおよびOVA-結合性G I Fの形成がみられ、部分的なG I F形成細胞への変換が示唆された。増殖した細胞がG I Fを形成する可能性があるので、mytomycin C処理12H 5を用いて検討した結果、OVA-結合性G I Fの形成が認められ、増殖細胞の影響は否定された。G I F/ONO-RSによって生成したG I F形成細胞を3日間培養すると、もとのG E F形成細胞にもどることも明らかにした。OVA-結合性G E F/G I Fは、monoclonal 抗体14-12には結合せず、14-30に結合した。

Helper T cell clone および suppressor T cell hybridoma に対するP L A 2阻害剤の影響：Helper T cell clone D10. G 4. 1が抗原刺激時にG E Fを形成することが判明したので、ONO-RSの影響を調べた。2 μM ONO-RS存在下3日間培養後、conalbumin-pulsed macrophagesにより24時間刺激した。12H 5同様D10. G 4. 1のG E F形成細胞からG I F形成細胞への変換が認められた。産生されたG E F/G I Fはともにconalbumin-結合性であることも判明した。

最後にG I F形成 hybridoma 231 F 1によるG I F産生に及ぼす影響を検討した。231 F 1を2 μM ONO-RS存在下3日間培養後、その洗浄細胞をさらに24時間培養した。P L A 2阻害剤処理細胞は無処理細胞に比し、3倍量高いG I Fの産生が認められた。

(総括)

1. P L A 2阻害剤がG I F様免疫活性を示したことおよび部分精製G I Fのalkaline phosphatase処理によってP L A 2阻害活性と合わせてG I F活性が増大したことより、G I FのP L A 2阻害活性は、その本来のG I F活性に重要であることが示唆された。
2. マウスT cell hybridoma 12 H 5はG I F/ONO-RSによってG E Fの形成が停止され、G I Fの形成が開始された。抗原刺激によって産生されたOVA-結合性G E F/G I Fが、monoclonal 抗体14-12ではなくて14-30によって吸収されたことから、分子内に suppressor inducer factor (TsiF)の抗原結合鎖が含有されることを示している。
3. Helper T cell clone D10. G 4. 1が異なった条件下でG E F/G I Fを産生する能力を示したことから、G I F産生 suppressor T cellが helper T cellの一つのsubsetの表現型である可能性が示された。
4. T細胞におけるP L A 2阻害剤によるG E F形成細胞からのG I F形成細胞への変換あるいはG I F産生増強は、TsiFのP L A 2阻害活性もしくはG I F活性の suppressor T cell cascadeへの関与を示唆する。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、IgE抗体産生を抑制する因子 glycosylation-inhibiting factor (G I F) がホスホリパーゼ (P L) 阻害蛋白のリン酸化された誘導体であることから、G I Fの生物活性とP L阻害活性との関連を、他のよく知られたP L阻害剤を用いて検討したものである。

その結果、リポコルチン-Iと同様に合成P L A 2阻害剤ONO-RS-082がマウスT細胞においてG I Fと同様の活性を示したことから、G I Fの生物活性にP L阻害活性が重要であることが示唆された。また、マウスT細胞ハイブリドーマおよび典型的なT細胞株において、P L A 2阻害剤がG I Fの生成を促進させたことから、抗原特異的サブレッサーT細胞の生成がG I FのP L A 2阻害活性に基づくことが示唆された。

これらの知見は、G I FのサブレッサーT細胞誘導のメカニズム並びに抗原特異的G I Fによる抗体産生抑制のメカニズムの解明に寄与するところが大きく、医学博士の学位を授与するに値する。