



| | |
|--------------|--|
| 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 | https://hdl.handle.net/11094/37480 |
| 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

氏名・(本籍) 大野博之
 学位の種類 医学博士
 学位記番号 第9561号
 学位授与の日付 平成3年3月5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 Effect of phospholipase (PL) A2 inhibitors on mouse T lymphocytes : PLA2 inhibitors exert similar immunological activities as glycosylation-inhibiting factor (GIF) and induced T cell hybridoma/T cell clone for the formation of GIF
 (PLA2阻害剤のマウスTリンパ球に対する影響 : PLA2阻害剤のGIF様免疫学的活性とGIF産生T cell hybridoma/T cell cloneの形成能)
 論文審査委員 (主査) 教授 森 武貞
 (副査) 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GEF(glycocalyx-enhancing factor)とGIF(glycocalyx-inhibiting factor)が関与している。そこで、GIFがリン酸化PL(phospholipase)阻害蛋白質の一つであることから、GIFの免疫活性にPL阻害活性が必要かどうかを、他のPL阻害剤を用いて検討した。次いで、GIF様免疫活性を有するPLA2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)

PLA2阻害剤のGIF活性：ヒトlipocortin I, PLA2阻害剤ONO-RS-082あるいはPLC阻害剤neomycinのGIF様活性について、T cell cybridoma 12H5のGIF形成能を指標として検討した。 $\geq 3\text{nM}$ lipocortinあるいは $\geq 0.1\mu\text{M}$ ONO-RSにより明らかなGIF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GIFは、alkaline phosphatase処理によってPLA2阻害活性と共にGIF活性の増大を示した。以上の結果は、GIF活性にPLA2阻害活性が必要があることを示唆するものである。

PLA2阻害剤によるGIF形成細胞の生成：マウスovalbumin(OVA)感作spleen cellをOVA($10\mu\text{g}/\text{ml}$)存在下3日間培養後、 $0.1\mu\text{M}$ lipocortin, $2\mu\text{M}$ ONO-RSあるいは $10\mu\text{M}$ neomycin存在下でさらに4日間培養した。その培養細胞をOVA-pulsed macrophagesにより24時間刺激した結果、PLA2阻害剤lipocortin/ONO-RS処理細胞からOVA-結合性GIF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GIF形成細胞は、L3T4⁻、Lyt 2⁺細胞であることが判明した。

12H5細胞のGIF形成に対するPLA2阻害剤の直接的影響：12H5をGIF/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GIF形成細胞が生成された。PLA2阻害剤によるGEF形成細胞からGIF形成細胞への変換に3日間必要かどうか調べた。12H5をGIF/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GEFのみが形成されたのに対し、GIF/ONO-RS存在下ではOVA-結合性GEFおよびOVA-結合性GIFの形成がみられ、部分的なGIF形成細胞への変換が示唆された。増殖した細胞がGIFを形成する可能性があるので、mytomycin C処理12H5を用いて検討した結果、OVA-結合性GIFの形成が認められ、増殖細胞の影響は否定された。GIF/ONO-RSによって生成したGIF形成細胞を3日間培養すると、もとのGEF形成細胞にもどることも明らかにした。OVA-結合性GEF/GIF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PLA2阻害剤の影響：Helper T cell clone D10. G4. 1が抗原刺激時にGEF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。12H5同様D10. G4. 1のGEF形成細胞からGIF形成細胞への変換が認められた。産生されたGEF/GIFはともにconalbumin-結合性であることも判明した。

最後にGIF形成hybridoma 231F1によるGIF産生に及ぼす影響を検討した。231F1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。PLA2阻害剤処理細胞は無処理細胞に比し、3倍量高いGIFの産生が認められた。

(総括)

1. PLA2阻害剤がGIF様免疫活性を示したことおよび部分精製GIFのalkaline phosphatase処理によってPLA2阻害活性と合わせてGIF活性が増大したことより、GIFのPLA2阻害活性は、その本来のGIF活性に重要であることが示唆された。
2. マウスT cell hybridoma 12H5はGIF/ONO-RSによってGEFの形成が停止され、GIF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GEF/GIF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. G4. 1が異なった条件下でGEF/GIFを産生する能力を示したことから、GIF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PLA2阻害剤によるGEF形成細胞からのGIF形成細胞への変換あるいはGIF産生増強は、TsiFのPLA2阻害活性もしくはGIF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 (GIF) がホスホリバーゼ (PL) 阻害蛋白のリン酸化された誘導体であることから、GIFの生物活性とPL阻害活性との関連を、他のよく知られたPL阻害剤を用いて検討したものである。

その結果、リポコルチソール I と同様に合成PLA2阻害剤ONO-RS-082がマウスT細胞においてGIFと同様の活性を示したことから、GIFの生物活性にPL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、PLA2阻害剤がGIFの生成を促進させたことから、抗原特異的サプレッサーT細胞の生成がGIFのPLA2阻害活性に基づくことが示唆された。

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