The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	メンケス病モデルマウスの免疫能に関する研究
Author(s)	中川, 晋作
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3070515
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 5 】

氏　　名	中川晋作（なかがわしんさく）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　10906　号
学位授与年月日	平成5年9月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	**メンケス病モデルマウスの免疫能に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教授　眞弓　忠範 （副査） 教授　近藤　雅臣　　教授　馬場　明道　　教授　三村　務

論文内容の要旨

Menkes 症候群は劣性伴性の遺伝様式にしたがい母親が保因者となり男児のみが罹患する。特徴的な毛髪異常，進行性中枢症状，痙攣，発育不全，易感染性等を呈し，3～4才で死亡する。生理化学的な特徴として，腸管での銅吸収および輸送が障害を受け，その結果銅不足に陥り各種銅要求酵素の活性が低下し，上記の多彩な症候群が引き起こされると推定されている。しかしながら，現在のところ，銅の分布異常という一致した見解が認められているにすぎない。

この疾患のモデル動物としては自然突然変異により生じた macular（ml）マウスが知られている。ml マウスは Menkes 病と同様に銅代謝異常による類似の症状を呈し，銅分布異常や各種銅要求酵素の活性低下が知られており，特にセルロプラスミンは正常マウスの1／3という低活性である。また ml マウスは生後7日目に銅を投与しないと生後16日目前後に死亡することが知られている。ml マウスを用いて詳細な病因解析を行ったところ，死亡の際に著明な体重減少とともに，脾臓と胸腺のみが有意に萎縮していることを見いだした。このリンパ系臓器に特異的な萎縮は他の免疫不全のマウスでも報告されており，また Menkes 病は死亡の際に，感染症などの合併症を伴うことから，ml マウスについても免疫機能の低下が予想される。今回，新しく免疫応答の観点から ml マウスの病態を解析することにより，これを通じて新しい免疫応答調節物質を見いだす試みを行ったものである。

T 細胞および B 細胞マイトジェンを用いたリンパ球の増殖能については，ml マウスと正常マウスとの間に有意な差は見られなかった。しかしリンパ球混合培養では同種異系に対する反応性は ml マウスで低下していた。さらに機能面において抗原特異的抗体産生能をプラーク形成測定法により測定した結果，ml マウスの抗体産生細胞数は羊赤血球（SRBC；T 細胞依存性抗原）を抗原として用いた時，in vivo および in vitro 共に正常マウスの1／2であった。しかし DNP-Ficoll（T 細胞非依存性抗原）を抗原とした時は正常マウスと同等であった。この T 細胞依存性抗原に対する抗体産生能低下の原因を明らかにすべく，in vitro において T 細胞および B 細胞の交換実験を行った。その結果，ml マウスの B 細胞を正常マウスの B 細胞と交換しても SRBC に対する抗体産生細胞数は全く回復しなかったが，T 細胞を正常のものと交換することで一部回復した。また各マウスのリンパ球亜集団の割合をセルソー

ターを用いて解析したところ，ml マウスは正常マウスと比較して B 細胞の割合が増加し，逆に T 細胞の割合が減少していた。さらに，その減少は主にヘルパー T 細胞の割合の減少によるものであると判明した。これらのことより ml マウスの抗体産生細胞数の低下は T 細胞機能低下に起因することが示唆された。

そこで抗体産生能の低下が ml マウスで低下しているセルロプラスミンおよび銅に起因するかどうか検討した。ml マウスに生理的濃度のセルロプラスミンを投与したところ，SRBC に対する抗体産生細胞数は正常マウスレベルに回復し，その作用は用量依存的であった。しかし，塩化第二銅および熱処理したセルロプラスミン投与では全く回復しなかった。また，in vitro での抗体産生はセルロプラスミン添加で回復作用を全く示さなかった。以上のことよりセルロプラスミン投与による抗体産生能回復作用は単に ml マウスで不足している銅の供給によるものではなく，セルロプラスミンそのものによって引き起こされ，さらにその作用は脾細胞に対する直接作用ではないことが明らかとなった。

そこでセルロプラスミンの抗体産生能回復作用を媒介している因子について検討を行った。もしセルロプラスミンが抗体産生能を回復させる因子を誘導しているならば，その因子は正常マウス血清中に常に存在するはずである。この仮説にもとづき抗体産生におよぼす正常あるいは ml マウス血清の作用を検討した。予想通り，正常マウスの血清は ml マウス脾細胞の抗体産生能を用量依存的に正常レベルにまで回復させた。しかし，正常マウス脾細胞の抗体産生能には影響を与えなかった。一方，正常マウス脾細胞に ml マウス血清を添加すると，抗体産生能は逆に用量依存的に ml マウスレベルにまで低下した。さらにこの両血清の作用は抗原感作までに脾細胞との前培養が必要であった。またあらかじめセルロプラスミンを投与した ml マウス血清を ml マウス脾細胞に作用させると抗体産生細胞数は増加し，他方，正常マウス脾細胞に作用させても抑制作用は認められなかった。従ってこれらの作用はセルロプラスミンによって調節されているのではないかと考えられた。さらに，これらの作用は ml マウスに特異的ではなく，他の系のマウスにおいても認められた。このことはこれらの因子が普遍的に存在する可能性を示唆しており，その化学的性質に興味が持たれる。予備的にその性質を調べたところ，正常マウス血清中の抗体産生を回復させる因子は分子量約10,000，ml マウス血清中の抗体産生を抑制する因子は分子量約10,000から50,000であり，共に熱に不安定であった。

以上，まとめると1）ml マウスは T 細胞の機能低下に起因した抗体産生能の低下を示す。2）セルロプラスミンは間接的に ml マウスの抗体産生能を回復させる。3）正常マウス血清は ml マウスの抗体産生能を回復させる作用が，一方 ml マウス血清は正常マウスの抗体産生能を抑制する作用がある。4）セルロプラスミンを投与した ml マウス血清は正常マウスの抗体産生能を抑制せず，逆に ml マウスの抗体産生能を回復させた。5）これら作用を示す血清中因子は ml マウスに特異的ではなく普遍的に存在し，比較的低分子量の熱に不安定な化合物である。

以上の知見は ml マウスの病態の新しい局面を明らかにしただけでなく，本病態モデルマウスの免疫機能解析を通して，抗体産生促進因子および抑制因子を介する免疫応答調節物質としてのセルロプラスミンの新しい免疫学的意義を見いだした。

論文審査の結果の要旨

銅代謝障害の新しい疾患として注目されているメンケス病は，典型的な劣性伴性遺伝形式に従い，男児のみが発症する。症状は，特徴的な毛髪異常，色素形成異常にとどまらず，重い知能障害，発育不全，けいれん，易感染傾向など多彩であり，3才までに出血あるいは感染症などの合併症にて死亡する。一方，メンケス病モデル動物としては，macular（ml）マウスがよく知られている。本論文は，この ml マウスを Tool として利用し，免疫応答の観点から ml マウスの病態を解析し，免疫応答の調節機構を解明すること等を通じて，正常マウスにおける新しい免疫応答調節物質を見いだす試みを行ったものである。

その結果，ml マウスは T 細胞の機能低下に起因した抗体産生能の低下を示す事を見いだした。セルロプラスミン

濃度が低レベルである ml マウスにセルロプラスミンを投与すると，濃度依存的に抗体産生能は正常マウスレベルに回復した。しかし，セルロプラスミンによる本作用は，脾細胞に対する直接作用ではなかった。従って，セルロプラスミンによって誘導される物質であることが考えられた。そこで，セルロプラスミンが正常レベルである正常マウス血清を ml マウスに投与すると抗体産生能は回復した。一方，ml マウス血清は正常マウスの抗体産生能を抑制した。さらに，セルロプラスミン投与を行った ml マウス血清は，もはや正常マウスの抗体産生能抑制作用は示さなかった。以上の事実は，セルロプラスミンを介して，正常血清中に抗体産生促進因子，ml マウス血清中には抑制因子が存在していることを示唆している。また，本因子は，本研究に用いた C3H 系マウスのみならず，正常の他の系のマウスにも存在することを見いだした。

以上の成果は，ml マウスの病態を免疫機能の面から明らかにしただけでなく，本 ml マウスを Tool として利用して，免疫機能解析を通して，抗体産生促進因子および抑制因子を介する免疫応答調節物質としてのセルロプラスミンの新しい免疫学的意義を見いだしたものであり，博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものであると考える。