

Title	胸腺Tリンパ球によるMls抗原の発現と免疫寛容性誘導
Author(s)	山田, 聡
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3100613">https://doi.org/10.11501/3100613</a>
DOI	10.11501/3100613
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	山田 聡 <small>やま だ さとる</small>
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 11829 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	胸腺Tリンパ球による Mls 抗原の発現と免疫寛容性誘導
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏  (副査) 教授 浜田 茂幸 助教授 小川 裕三 助教授 白砂 兼光

### 論文内容の要旨

Mls (Minor lymphocyte stimulating) 抗原は、混合リンパ球反応 (MLR) に於て、主要組織適合性複合体 (MHC) 抗原以外に T リンパ球を活性化する抗原として見出された抗原である。通常、T リンパ球は  $\alpha$  及び  $\beta$  鎖のヘテロダイマーから成る抗原受容体 (TCR) を介して、マクロファージ (M $\phi$ ) / 樹状細胞や B リンパ球等の抗原提示細胞上に提示された自己 MHC と外来抗原由来フラグメントとの複合物を認識し活性化される。一方、Mls 抗原反応性 T リンパ球の抗原認識は TCR V $\alpha$  鎖の組み合わせとは無関係に特定の V $\beta$  鎖の発現により担われている。Mls 抗原反応性 T リンパ球は高頻度に存在し、且つ抗-V $\beta$  鎖特異抗体を用いて容易に検出できることから、Mls 抗原系は免疫寛容誘導機構の解析に非常に有効な実験系となっている。

一般に、T リンパ球レパトリーは胸腺内で遭遇する自己抗原に対する正と負の選択機構 (ポジティブ及びネガティブセレクション) を介して形成される。T リンパ球前駆細胞は胸腺に入った後、胸腺皮質に存在する上皮細胞上の MHC クラス I 又はクラス II 分子との相互作用により分裂増殖し、即ちポジティブセレクションの過程を経て、髄質に移行する。一方、MHC 分子に対して非常に高い親和性を有する TCR を発現しているクローン、即ち自己反応性クローンはネガティブセレクションにより選択的に除去される。その結果、生体は自己抗原に対する免疫寛容性を獲得する。一般に、ネガティブセレクションの誘導に於て、胸腺髄質中の M $\phi$  系細胞が重要な役割を果たしている事が示されている。Mls 抗原は、主として B リンパ球に限局して発現されているものと考えられてきた。しかし最近、Mls 抗原に対する免疫寛容誘導実験から、脾臓 T リンパ球も Mls 抗原を発現している可能性が示されている。従って、Mls 抗原のネガティブセレクションに関しては、胸腺内に極く僅かにしか存在しない胸腺 B リンパ球よりは大多数を占める胸腺 T リンパ球自身が多大な影響を及ぼしている可能性が考えられる。そこで本研究では、胸腺 T リンパ球に於ける Mls 抗原の発現及びその免疫寛容性誘導活性に関して検討を試みた。

1) 先ず、X 染色体に連鎖した B リンパ球機能の選択的不全 (*xid*) を呈する CBA/N (H-2<sup>k</sup>, Mls-1<sup>b</sup>) マウスの Mls 抗原提示能及び T リンパ球の Mls 抗原応答性を調べた。CBA/N マウスは T リンパ球刺激活性を示さない Mls-1<sup>b</sup> 対立遺伝子型を有しているため、CBA/N ♀ マウスと刺激活性を有する Mls-1<sup>a</sup> 抗原陽性の AKR (H-2<sup>k</sup>, Mls-1<sup>a</sup>) ♂ マウスとの交配により、(CBA/N $\times$ AKR) F1 (NAF1) ♀ (正常) 及び NAF1 ♂ (免疫不全) マウス (Mls-1<sup>b/a</sup>) を作成した。NAF1 脾細胞の B10. BR (H-2<sup>k</sup>, Mls-1<sup>b</sup>) T リンパ球に対する Mls-1<sup>a</sup> 抗原提示能を MLR により検討した所、NAF1 ♀ 脾細胞は B10. BR T リンパ球を活性化するのに対して、B リンパ球

機能不全を呈する NAF1 ♂ 脾細胞は Mls-1<sup>\*</sup> 抗原提示能を全く示さなかった。しかし、NAF1 ♂ マウスの脾細胞は MLR に於て Mls-1<sup>\*</sup> 抗原提示活性を示さないにも拘わらず、T リンパ球は Mls-1<sup>\*</sup> 抗原 (AKR 刺激細胞) に対する増殖反応を全く示さない事から、免疫寛容性に陥っている事が示された。Mls-1<sup>\*</sup> 抗原反応性 T リンパ球は抗原受容体 V $\beta$ 6 鎖を発現しているため、特異抗体を用いた FACS によりその存在の有無を解析した所、NAF1 ♀ 及び ♂ T リンパ球集団の何れに於ても V $\beta$ 6<sup>+</sup> T リンパ球は選択的に除去 (clonal deletion) されている事が明らかとなった。従って、xid マウスでの Mls 抗原に対する免疫寛容性誘導に T 系細胞が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。2) それでは、果して胸腺 T リンパ球が in vitro に於て Mls 抗原提示細胞として機能するか否かについて検討した。通常、T リンパ球の活性化には TCR からの刺激に加えて抗原提示細胞からの co-stimulatory signal が必要であるため、costimulatory signal を提供する活性をもたない T リンパ球自身は Mls-MLR に於て刺激細胞として機能しないものと考えられる。そこで、B10. BR 応答 T リンパ球をマイトマイシン処理 NAF1 ♀ 及び ♂ 胸腺 T リンパ球で刺激する際に、co-stimulatory signal を代替する PMA 刺激 M $\phi$  株 P388D.1 由来可溶性因子を添加した所、V $\beta$ 6<sup>+</sup> T リンパ球の特異的な増殖が誘導された。最近、Mls-1<sup>\*</sup> 抗原はマウス染色体に組み込まれた mouse mammary tumor virus 7 (MTV-7) 由来の抗原である事が明らかにされている。そこで、MTV-7 特異的プライマーを用いた RT-PCR 法により mRNA レベルでの Mls-1<sup>\*</sup> 抗原の発現を解析した所、NAF1 ♀ 及び ♂ 胸腺 T リンパ球は共に MTV-7 mRNA を発現する事が確認された。3) それでは実際に、胸腺 T リンパ球により Mls 抗原反応性 T リンパ球の免疫寛容性を誘導できるか否かを検討する為に、NAF1 ♀ 及び ♂ マウスの胸腺 T リンパ球を生後24時間以内の B10. BR マウスに腹腔内投与した。成育後、T リンパ球の Mls-1<sup>\*</sup> 抗原反応性を MLR にて検討した結果、NAF1 ♀ 及び ♂ 胸腺 T リンパ球投与群の何れに於ても Mls-1<sup>\*</sup> 抗原特異的不応答性が誘導されている事、また末梢 V $\beta$ 6<sup>+</sup> T リンパ球は deletion され、無処置対照群の約半分以下に減少している事が明らかとなった。

以上の結果より、胸腺 T リンパ球は Mls 抗原を発現している事、及び胸腺 T リンパ球は Mls 抗原に対する免疫寛容性誘導活性を有する事が明らかとなった。一般に、胸腺内でのネガティブセレクションは主として髄質に存在する M $\phi$  系細胞により担われていると考えられている。従って、胸腺内での Mls 抗原に対するネガティブセレクションに胸腺 T リンパ球自身が重要な役割を担っている事を示唆する今回の結果は、免疫寛容性誘導機構を解明する上で非常に興味ある知見であると思われる。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、胸腺 T リンパ球が Mls 抗原を発現して、T リンパ球の免疫寛容性の誘導に重要な役割を果たすことを明らかにした。一般に、免疫寛容性誘導は胸腺髄質のマクロファージ系細胞により担われていると考えられてきたが、本研究は免疫寛容性誘導機構の新しいモデルを提唱する興味ある研究結果を提示するものである。よって本研究は博士(歯学)の学位請求に充分値するものと認める。