

次、二次刺激し、反応性の相違を検討した。

一次刺激では細胞増殖反応、IL-2やIL-4の産生能はCD4⁺T細胞の方が、IFN- γ 産生能はCD8⁺T細胞の方が強かった。二次刺激ではCD4⁺T細胞芽球が一次反応よりも著しく増幅した増殖反応、IL-2やIL-4の産生能を示した。一方、IFN- γ 産生能と細胞障害活性についてはCD8⁺T細胞芽球の方が優位であった。

以上より、ヒトCD4⁺T細胞とCD8⁺T細胞はTSST-1刺激に対して、各種サイトカインの産生などそれぞれ独自の反応性を保持していることが示された。

4. 自己免疫性肝炎患者リンパ球より作製したヒトモノクローナル抗体の解析

(消化器内科) 山口尚子・山内克巳・
古川隆二・高津和子・中西敏巳・
磯野悦子・小松達司・林直諒

我々は、肝癌細胞株を用いた解析から、自己免疫性肝炎(AIH)患者血清中に肝細胞膜抗原に対する自己抗体(抗肝細胞膜抗体;抗HMA抗体)が高率に認められることを報告した。この自己抗体の特徴を解析する目的で、AIH患者のリンパ球にEpstein Barr virusを感染させることで、肝細胞由来の細胞株と反応するモノクローナル抗体を作製した。FACSを用いた解析では、この抗体は肝細胞由来の細胞株のみに反応し、またラット肝細胞株やマウス肝細胞とも特異的に反応し、広く種を越えて存在する肝細胞膜抗原を認識することが明らかとなった。また、⁵¹Crを標識した細胞を標的細胞として用いた補体依存性の障害活性については、肝細胞由来の細胞株を用いた場合、この抗体単独では反応する細胞の増殖を抑制する効果は見られなかったが、正常ヒト血清の存在下で細胞障害が認められた。以上より、AIH患者血清中に種を越えて存在する肝細胞膜抗原を認識する自己抗体が存在し、この自己抗体は補体依存性に肝細胞を特異的に障害する可能性があると考えられた。

5. IFN- β 1b療法による多発性硬化症患者の末梢血NK細胞、NKT細胞の変化について

(東京女子医大脳神経センター神経内科,
*東京理科大学理学部)

清水優子・太田宏平*・
秋山尚子・岩田誠

[目的] 本邦でもIFN- β 1b療法が多発性硬化症(MS)の治療として承認された。今回我々はIFN- β 1bによるNK細胞、NKT細胞の変化について検討した。

[対象] IFN- β 1b投与MS5例、非投与MS5例。

[方法] ①患者末梢血中より単核球を分離し、フローサイトメーターを用いCD16⁺CD56⁺細胞;NK細胞、 δ -1⁺CD3⁺細胞; γ δ T細胞、V α 24⁺V β 11⁺CD3⁺細胞;NKT細胞、CD56⁺ δ -1⁺細胞;NK γ δ T細胞を測定した。②末梢血単核球をIL-2(100U/ml)添加で短期培養し、NK細胞、NK γ δ T細胞を測定し、K562を標的細胞とし(E:T比=10:1)、LDH定量法を用い細胞障害活性%を測定した。

[結果] ①平均値は、CD56⁺CD16⁺細胞は投与前18.5%、投与後16%と有意に低下した(p<0.05)。IL-2反応性 γ δ T細胞は32%から24%へ低下した。IL-2反応性CD56⁺ γ δ T細胞はIFN投与により24%から8%へ有意に低下した(p<0.05)。V α 24⁺V β 11⁺CD3⁺細胞は0.02%から0.005%へ低下した。IFN投与前後において、いずれも非投与群との有意差はない。②細胞障害活性%はIFN投与により、18.8%から8.9%へ低下した。

[考察] IFN- β 1b投与によりNK細胞、IL-2反応性NK γ δ T細胞のeffectorとしての細胞障害機能が抑制され、治療効果をきたすと考えられた。

6. B細胞性慢性リンパ性白血病細胞における抗原受容体を介したシグナル伝達

(第二病院内科) 川内喜代隆・小笠原寿恵・
安山雅子・大川真一郎

[目的] 慢性Bリンパ性白血病(B-CLL)細胞は抗原受容体(BCR)としてsIgM/sIgDを発現している。今回、BCRを介するシグナル伝達が白血病細胞で保持されているか否かの検討を行った。

[方法] B-CLL患者末梢血よりリンパ球を分離し(80~90%がB細胞)、抗IgM抗体で刺激を行った。細胞を可溶化し、抗Lyn、抗Syk抗体で免疫沈降後、抗チロシンリン酸化抗体で免疫ブロットを行った。また、Raf-1RBD domainを用いたRas assayおよびMAPK/Akt kinase assayを併せて検討した。

[結果] ①抗IgM抗体によるBCR刺激でLyn、Syk、Rasの活性化は惹起されなかった。②BCR刺激によりERKの活性化は誘導されたが、JNKやp38MAPKの活性化は認めなかった。③BCR刺激によってAktの活性化は誘導されなかった。

[結論] B-CLL細胞はBCRを介する刺激に対して不応性となっていると考えられた。しかし、ERK活性など一部シグナル伝達は保持されていた。

7. 細菌性スーパー抗原によりアナジーを誘導されたヒト胸腺CD4⁺T細胞におけるシグナル伝達の解析

(¹ 東女医大・微生物免疫, ² Med. Coll. of Georgia, ³ 東女医大・循環器小児外科)

藤巻わかえ¹・岩島牧夫²・八木淳二¹・
張 華¹・八木寿子¹・瀬尾和宏³・
今井康晴³・今西健一¹・内山竹彦¹

スーパー抗原性外毒素 TSST-1 に対するヒト T 細胞の反応性は成熟度により異なる。我々はすでに IL-2 産生能の観点から、成熟胸腺 T 細胞は成人末梢血 T 細胞に比して anergy になり易いことを報告した。今回、細胞内シグナルについて検討した。

成熟胸腺 T 細胞と成人末梢血 T 細胞から調整した CD4⁺T 細胞を TSST-1 で刺激して得られた芽球を IL-2 で増殖培養して実験に供した。両細胞とも TSST-1 反応性の Vβ2⁺CD4⁺T 細胞は約 80% であった。成熟胸腺 T 細胞では TSST-1 再刺激に伴う TCRζ 鎖のチロシンリン酸化が弱く、これに関わる Lck を検討したところキナーゼ活性が全く認められなかった。成人末梢血 T 細胞ではフォスファターゼである CD45 が Lck の 505 チロシンを脱リン酸化して Lck を強く活性化するが、成熟胸腺 T 細胞では CD45 と Lck の相互作用が未熟であって Lck が活性化されず、anergy 状態が維持されていることが明らかになった。(Fujimaki W et al: J Biol Chem 276: 17455-17460, 2001)

8. マイコプラズマ感染 C3H マウスの気道における微小循環系のリモデリング

(解剖学・発生生物学) 江崎太一

マイコプラズマ感染 C3H 系マウスの気道内では、微小血管が著明に増殖・拡張する。そこで、この血管増殖がいつ、どのようにして起こるのか、経時的に観察した。増殖中の内皮細胞を検出するために BrdU 染色を、血管内腔を描出するためにトマトレクチンおよび硝酸銀を環流する方法を用いた。その結果、血管内皮の増殖はすでに 1~3 日目に始まっており、5 日目をピークとして 7 日目以降は減少した。またこの増殖は、細動脈・毛細血管・細静脈の全ての微小血管で起こり、各血管群の内径も 7 日目頃までにプラトーに達した。一方、局所および全身の免疫反応は 7 日以降に著明になり始め、2 週目頃極期を迎え以後慢性に経過した。以上のことから、本血管増殖モデルでは微小血管の増殖とその形態変化がマイコプラズマ感染の極めて早期に起こっており、本来慢性的に経過する感染炎症反応とは直接関係のない機構が動いている可能性が示唆された。

9. T 細胞副刺激分子 LIGHT およびその受容体の

慢性関節リウマチ (RA) 滑膜組織における発現と役割

(膠原病リウマチ痛風センター) 中川美紀・
針谷正祥・原まさ子・鎌谷直之

〔目的〕 LIGHT は TNF family に属する細胞表面分子で活性化 T 細胞に発現する。LIGHT の受容体として herpesvirus entry mediator (HVEM) および lymphotoxin β receptor (LTβR) が知られている。LIGHT は T 細胞活性化における副刺激分子として働き、interferon-γ および granulocyte-macrophage colony stimulating factor を誘導する。今回、RA 滑膜組織における LIGHT およびその受容体の発現を検討した。

〔方法〕 mRNA の発現は RT-PCR により検討した。LIGHT の発現および機能を解析するため、LIGHT 細胞外ドメインのアミノ酸配列に対する抗ペプチド抗体を作製した。

〔結果〕 RA 滑膜組織では LIGHT, HVEM, LTβR mRNA の発現が認められた。LIGHT 細胞外ドメインに特異的な抗ペプチド抗体が得られた。

〔考案〕 RA 滑膜組織では LIGHT およびその受容体の発現が認められ、T-B 細胞間、T 細胞-macrophage 間相互作用に関与する可能性が考えられた。

10. ddY マウスに自然発症する IgA 腎症に対する可溶性 CTLA-4 の作用

(第四内科学) 岡野一祥・
新田孝作・内田啓子・本田一穂・
湯村和子・二瓶 宏

ddY マウスにおける CD28-B7 を介した co-stimulatory signal の役割を解析することを目的とした。ddY マウスは、ヒトの IgA 腎症に類似した糸球体腎炎を自然発症するモデルマウスである。今回の研究では、B7.1 (CD80) と B7.2 (CD86) に結合する CTLA-4 (CD152) の fusion protein を使用して、CD28-B7 経路を阻害することにより、ddY マウスにおける糸球体腎炎が抑制されるか否かについて検討した。各グループ (n=4) に対し、ヒト IgG の Fc ドメインの fusion protein (CTLA-4Ig) またはコントロールとして human IgG1 を投与した。10 週齢から 40 週齢までの間、CTLA-4Ig または human Ig を 100μg ずつ週 2 回、腹腔内投与した。15 週齢と 40 週齢に、腎糸球体の IgA 沈着を含む病理学的変化および血清クレアチニンや蛋白尿を測定した。40 週齢の時点で、human Ig を投与した群は進行性に IgA の顕著な沈着を伴う典型的なメサンギウム増殖性糸球体腎炎を発症した。一方、CTLA-4Ig を投与した群は、メサンギウム増殖性の変化に乏しく、尿蛋