



## Clq production and Clq-mediated immune complex retention in lymphoid follicles of rat spleen

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 前多, 松喜 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1352">http://hdl.handle.net/10271/1352</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 75号	学位授与年月日	平成 元年10月 6日
氏 名	前 多 松 喜		
論文題目	<p>Clq production and Clq-mediated immune complex retention in lymphoid follicles of rat spleen  (ラットのリンパ濾胞における Clq の産生と Clq による免疫複合体の保持について)</p>		

医学博士 前多松喜

## 論文題目

Clq production and Clq-mediated immune complex retention in lymphoid follicles of rat spleen

(ラットのリンパ濾胞におけるClqの産生とClqによる免疫複合体の保持について)

## 論文の内容の要旨

リンパ組織の濾胞胚中心内にはリンパ球を囲む複雑な樹枝状突起を持った濾胞樹枝状細胞(follicular dendritic cell: FDC)と呼ばれる非リンパ球系細胞が存在している。FDCは免疫複合体の形で抗原を捕捉、保持しリンパ球に抗原呈示を行っていると考えられている。従来このFDCの免疫複合体の捕捉、保持についてFcリセプター、C3リセプターの関与が考えられており、さらに最近ではClqの可能性も示されているが依然不明な点が多い。本研究では脾リンパ濾胞胚中心での免疫複合体捕捉、保持におけるClqの関与について検討した。

### (材料と方法)

1) 凍結組織切片上での免疫複合体の結合: 抗西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)ウサギIgGからSternbergerの方法で作製した可溶性免疫複合体HRP-antiHRP complex(PAPIgG)を脾凍結組織切片に反応させその結合をベンチジン反応を施して光顕、電顕観察した。さらに凍結組織切片上での結合特性をPAPIgGの代わりにPAPF(ab')<sub>2</sub>、HRP単独液、PBSのみを用いた対照実験、PAPIgG液のヘパリン、熱凝集IgG、monomeric IgG添加及び凍結組織切片の抗ClqF(ab')<sub>2</sub>前処理、56°C30分による抑制実験で検討した。

2) 生体内で胚中心に分布するClqの検出: 抗ClqウサギF(ab')<sub>2</sub>を一次抗体に、抗ウサギF(ab')<sub>2</sub>ペルオキシダーゼ標識ヤギF(ab')<sub>2</sub>を二次抗体として免疫組織化学的に脾におけるClqの分布を光顕、電顕観察した。

3) 生体での免疫複合体とClqとの局在の観察: 抗フェリチン血清で受動免疫したラットにフェリチンを静注し、経時的にト殺し、免疫複合体の形となったフェリチンの脾における捕捉、保持を電顕観察した。同時にこの組織で免疫組織化学的にClqの分布を電顕観察し免疫複合体との関係を検討した。

### (結果と考察)

1) 凍結切片上では胚中心に免疫複合体の結合が見られた。この結合は生体での免疫複合体の分布と同じくFDCの細胞表面、突起間及びリンパ球との間隙に見られた。PAPF(ab')<sub>2</sub>は胚中心に結合せず、免疫複合体の結合はFc部位を介しておこることが証明された。さらにこの結合はヘパリンや熱凝集IgGで抑制されたがmonomeric IgGで抑制されず、切片の抗ClqF(ab')<sub>2</sub>処理、熱処理でも抑制を受けた。このような結合の特性は、既に報告されているClqと免疫複合体との結合と同じである。2) 生体内でのClqの分布を検出するとFDCの細胞表面、突起間及びリンパ球との間隙に見られ、免疫複合体の分布に一致した。このことから免疫複合体はClqに結合していることが示された。またClqはFDC及びその前駆細胞の粗面小胞体や核膜周囲にも検出され、これらの細胞がClqを産生することが明らかとなり免疫複合体の結合に関与するClqは、これらの細胞由来のものである可能性が示された。3) 次に免疫複合体捕捉、保持を検討すると、まず免疫複合体はリンパ濾胞外側のFDCの前駆細胞に捕捉され、胚中心のFDC表面に運ばれそこで保持された。さらにClqとの関係を検討するとClqは免疫複合体の保持に関連して認められるのみであり、脾濾胞におけるClqの一次的意義は免疫複合体の保持にあると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

抗原の生体内における捕捉～保持機構に関しては、細網内皮系に属する非リンパ球系間葉細胞が関与するが、その細胞性及び液性調節機構の詳細は明らかでない。そこで申請者は、脾臓のリンパ濾胞内に存在する樹枝状突起に富む濾胞樹枝状細胞 (follicular dendritic cells; FDC) にとくに注目し、その抗原-抗体複合体 (免疫複合体) の捕捉～保持作用が C1q を介して起こるかを明らかにしようとした。そのために、申請者は C3 リセプターを介する免疫複合体の捕捉機構が関与しない条件下で、C1q 選択的結合現象を解析できる実験系を設定した。すなわち、ウイスターラットの脾臓の凍結切片上でペルオキシダーゼ-抗ペルオキシダーゼ抗体複合体 (PAPIgG) を作用させベンチジン反応を行い、その反応物を光顕及び電顕で観察し、さらに対照実験と抑制実験により C1q 選択的結合性を証明した。一部の実験では、フェリチン-抗フェリチン抗体複合体の結合性を検索した。一方、C1q は抗 C1q ウサギ F(ab')<sub>2</sub> と抗ウサギ F(ab')<sub>2</sub> ペルオキシダーゼ標識ヤギ F(ab')<sub>2</sub> を用いた免疫組織化学染色によって同定した。

主な結果は次のとおりである。

- 1) 脾臓のリンパ濾胞の胚中心に PAPIgG の結合がみられた。とくに、FDC の膜表面、突起の間及びリンパ球との間隙に選択的に結合した。また、対照実験と抑制実験の結果から、この結合は抗体の Fc 部分を介すると推定した。
- 2) C1q の生体内分布は免疫複合体の分布とほぼ一致した。したがって、PAPIgG は C1q に結合する。
- 3) C1q は FDC の外部のみならず、細胞質内の核膜周囲や小胞体膜にも認められたことから、FDC は C1q を合成し、膜表面に保有ないしは分泌する。
- 4) 受身移入された免疫複合体は、白脾髄の濾胞周辺に存在する線維芽細胞性細網細胞上に捕捉されたのち、しだいに胚中心の FDC へ移行する。

以上の所見から、免疫複合体は脾臓のリンパ濾胞の外側に存在する FDC 前駆細胞 (線維芽細胞性細網細胞) にまず捕捉され、ついで胚中心領域へ移行し、FDC の膜表面に存在する C1q を介して結合し、FDC に保持されることを申請者は主張している。

これらの結果及び見解は、脾の胚中心 FDC が生体内での抗原及び免疫複合体の保持機構において重要な役割をはたしていることを明らかにしているとして、審査員全員から高い評価が与えられた。とくに、FDC が C1q を合成・分泌し、C1q を介して免疫複合体を捕捉・保持する証拠を形態学的に提示した点は独創的であると評価され、今後の発展が期待された。

以上の成果に対し下記の点について質疑と問題点の指摘がなされた。

- 1) 実験に用いた各種抗体の純度について、
- 2) 電顕によってマクロファージと FDC を明確に鑑別できるか、
- 3) FDC 膜上の Fc リセプターと C3 リセプターの量的比較、
- 4) 脾の胚中心に分布する FDC とマクロファージの量的比較と、抗原捕捉能の比較、
- 5) FDC 前駆細胞が線維芽細胞性細網細胞である証拠、
- 6) 単離 FDC を用いた in vitro 系実験でも、C1q を介した免疫複合体保持と C1q 合成・分布が証明されるか、
- 7) FDC の機能は抗原保持作用だけか。

以上の点に対し、申請者はおおむね適正な応答をするとともに、残された問題についてはさらに検討中である旨の回答をおこなった。

以上の審査の結果、本論文は学位授与に値する十分な内容をそなえているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山下 昭

副査 教授 喜納 勇 副査 教授 高田 明和

副査 助教授 小出 幸夫 副査 助教授 瀧川 雅浩