



Ultraviolet-Induced Suppressor T Cells and Factor(s) in Murine Contact Photosensitivity. I. Biological and Immunochemical Characterization of Factor(s) Extracted from Suppressor T Cells

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: 戸倉, 新樹 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1343

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 66号	学位授与年月日	平成 元年 2月 3日
氏名	戸倉新樹		
論文題目	<p>Ultraviolet-Induced Suppressor T Cells and Factor(s) in Murine Contact Photosensitivity. I. Biological and Immunochemical Characterization of Factor(s) Extracted from Suppressor T Cells (マウス接触光過敏症における紫外線誘導サプレッサーT細胞およびサプレッサー因子.I.サプレッサーT細胞抽出因子の生物学のおよび免疫化学的特徴)</p>		

Ultraviolet-Induced Suppressor T Cells and Factor(s) in Murine Contact Photosensitivity. I. Biological and Immunochemical Characterization of Factor(s) Extracted from Suppressor T Cells

(マウス接触光過敏症における紫外線誘導サプレッサーT細胞およびサプレッサー因子. I. サプレッサーT細胞抽出因子の生物学のおよび免疫化学的特徴)

論文の内容の要旨

接触光過敏症(contact photosensitivity: CPS)は遅延型過敏症の一型であり、tetrachlorosalicylanilide (TCSA)を光ハプテンとすることにより、マウスにおいて実験的に誘導可能である。このマウスTCSA-CPSの系において、感作部位に中波長紫外線(ultraviolet B: UVB)を前照射したのち、TCSA光感作と光惹起を行うとCPS反応の抑制が認められるが、これは光ハプテン特異的サプレッサーT細胞(Ts)が誘導されるためである。本研究では、このTsに由来する抑制因子(T-cell-suppressor factor: TsF)を凍結融解法により抽出し、その生物学の活性と免疫学的性状を検討した。マウスは8~10週齢の雄BALB/cを用いた。光感作は、day 0,1に剃毛腹部に1% TCSA溶液(50 μ l)塗布後、長波長紫外線(ultraviolet A: UVA)(12 J/cm² at 365 nm)照射することにより行った。光惹起として、day 5に耳翼に0.1% TCSA溶液(20 μ l)塗布-UVA照射(20 J/cm² at 365 nm)を行い、24時間後に耳翼腫脹を計測しCPSの指標とした。このCPSの系において、剃毛腹部をday -3, -2に前もってUVB照射(210 mJ/cm² at 305 nm)したのち、光感作(day 0,1)すると、day 5には脾、胸腺細胞中にTsを誘導することができる。このTsは細胞移入の実験により、L3T4⁺、Lyt-1⁺2⁻3⁻のphenotypeを持つことが示された。

このTsを含む細胞浮遊液(5 \times 10⁶/ml)を凍結融解し、10,000 \times g 1時間遠心後、上清をborate-buffered salineで透析し、抽出液を作製した。抽出液(0.25 ml/day)を無処置の同系レシピエント尾静脈に注入し(day 0~5)、光感作(day 0, 1)と光惹起(day 5)を行い、耳翼腫脹を測定した結果、CPS反応は抗原特異的に抑制され、抽出液中にTCSA-CPS特異的TsFが存在することが示された。つぎにTsFが抗原結合部位を有するか否か検討するため、TCSAとbovine serum albumin (BSA)の混合溶解液をUVA照射(24 J/cm²)し、光結合したTCSA-BSA complexをligandとして、抗原カラムを作製した。抽出液をこのカラムによって処理した結果、抑制活性はeluateでのみ認められ、TsFが光ハプテン結合部位を持つことが示された。また、 α -I-J^d、 α -I-A^d、 α -I-E α 、 α -mouse immunoglobulin (Ig)をそれぞれligandとするカラム処理では、抑制活性は α -I-J^dカラム、 α -I-E α カラムのeluate、そして α -I-A^dカラム、 α -Igカラムのeffluentで認められ、TsFはIgではなく、I-JおよびI-E α determinantsを有する因子である結果が得られた。さらに連続カラム処理と還元アルキル化処理による検討から、TsFはジスルフィド結合を有しない単鎖の因子であることが示された。また投与時期の検討から、機能的にはafferent limbを抑制する因子であることが明らかにされた。Sephadex G-100を用いた分画操作では、分子量60~80 kdおよび100 kd以上の分画に抑制活性を認め、dimerを形成し易い60~80 kdの因子と推定された。

通常の接触過敏症と同様CPSにおいても抑制回路が存在し、Tsおよびその産生するTsFによって担われていることが本研究により示された。TCSA-CPS系でのTsFは、first-order TsFとしての生物学、免疫学的特徴を示しており、感作部位へのUVB前照射処置が、遅延型皮膚反応において、first-order Ts、TsFを誘導するひとつの方法であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

接触光過敏症 (contact photosensitivity: CPS) は光感作物質の経皮的な刺激によって誘発される局所免疫応答を主体とする生体反応であるが、その際、光感作物質が光ハプテン特異的T細胞による遅延型アレルギー反応を誘導することが知られている。近年、この反応の制御機構の解明が注目されているところである。申請者は、CPSの際、感作部位を紫外線前照射し光感作物質による感作と光惹起をおこなうと、抗原特異的サブレッサーT細胞 (Ts) が誘導され、反応が抑制されることをこれまでに見出しているが、本論文においては、Tsのこの抑制作用がTs由来の抑制因子によって惹起されるか否かを検討した。

申請者は反応系として、雄BALB/cマウスの腹部に光感作物質 (光ハプテン) として1% tetrachlorosalicylanilide (TCSA) 液を塗布したのち、長波長紫外線 (UVA) を照射し5日後に再び耳翼にTCSAとUVA照射による光惹起操作をおこない、24時間後の耳翼腫脹率を測定するTCSA-CPS系を用いている。この実験系を用いて明らかにした点は以下の通りである。

- 1) 感作部位に中波長紫外線を前照射 (2日と3日前) したのちTCSA光感作と光惹起をおこなうと、CPS反応の抑制が認められるが、これは脾臓と胸腺内に誘導される光ハプテン特異的Ts (膜抗原表現型 $L3T4^+$ 、 $Lyt1^{+2}$ 、 3^-) による。
- 2) Tsを含む細胞を凍結融解することによって得られた抽出液中に、本反応を抗原特異的に抑制する因子 (TsF) が存在する。
- 3) TsFは光ハプテン結合部位をもつが免疫グロブリンではなく、I-J及びIE α 抗原決定基を有する単鎖の因子であり、dimerを形成しやすい60~80kdの蛋白質である。
- 4) TsFは反応の誘導期において抑制作用を発揮する。

これらの結果に対して次のような質疑がなされた。

- 1) CPSにおいて誘導されるTsの抗原特異性の発現機序、並びにTsハイブリドーマによる検討の必要性
- 2) CPSの抑制回路にTs以外の細胞、例えばランゲルハンス細胞、抗原提示細胞、Ia $^+$ -マクロファージ、ナチュラルサブレッサー細胞、などの関与の可能性
- 3) CPS発症動物の遺伝的背景の検討
- 4) 胸腺細胞は大部分が未熟なT細胞であるが、Tsが誘導される機序
- 5) Tsが感作局所に選択的にリクルートしている証拠
- 6) 耳翼腫脹率測定法の精度と再現性の検討

これらの質問に対し、申請者は適切な解答をおこなった。審議の結果、本論文は光ハプテンによって誘導されるCPSにおいても、通常の接触過敏症と同様に抑制回路が存在することを証明するとともに、それがTsFを介するTsによって惹起される可能性を明らかにし、特異性の高いCPSの治療法を確立する上で示唆に富むものであると、きわめて高い評価が与えられた。

以上の審査の結果、本論文は医学博士の学位授与にふさわしいものと全員一致で判定された。

論文審査担当者	主査	教授	山下	昭			
	副査	教授	高田	明和	副査	教授	吉田孝人
	副査	助教授	佐藤	篤彦	副査	講師	池田靖