

氏 名	さき やま とし お 寄 山 敏 男
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1723 号
学位授与の日付	平 成 12 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Requirement of IL-5 for induction of autoimmune hemolytic anemia in anti-red blood cell autoantibody transgenic mice (抗赤血球抗体トランスジェニックマウスの自己免疫性溶血性貧血の誘導に おける IL-5 の必要性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 桂 義 元 教 授 本 庶 佑

### 論 文 内 容 の 要 旨

B-1 細胞は自己免疫疾患との関連が示唆されている B 細胞亜集団で、胸腔・腹腔に多く存在し、自己増殖能を持つ。通常の B 細胞 (B-2 細胞) と異なる幹細胞に由来すると考えられている。

IL-5, IL-10 および lipopolysaccharide (LPS) は *in vivo* で B-1 細胞を活性化する事が知られている。我々は IL-5 が B-1 細胞の発育のどの段階でどのような役割を担っているかを明らかにするために、IL-5 receptor  $\alpha$  chain 欠損 (IL-5R $\alpha^{-/-}$ ) マウスおよび、B-2 細胞が clonal deletion により除去されているが腹腔などの B-1 細胞は存在している抗赤血球抗体トランスジェニックマウス (HL マウス) と掛け合わせて作成した IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスを用いた解析を行った。

#### 【方法および結果】

まず B-1 細胞の発育や抗体産生細胞への分化における IL-5 の影響を IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスを用いて調べた。8 週齢の IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスにおける腹腔 B-1 細胞数は同週齢の HL マウスに比べ著しく減少していた。しかし 13 週齢の IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスでは腹腔 B-1 細胞数は 8 週齢時の約 2 倍に増加していた。

ELISPOT assay にて 10 週齢の IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスの腹腔内抗赤血球抗体産生細胞数を調べると、驚くべきことに腹腔内に  $1.3 \times 10^5$  個の B-1 細胞が存在するにもかかわらず腹腔内の抗赤血球抗体産生細胞は検出できなかった。更に IL-10 投与、LPS 経口投与による抗赤血球抗体産生細胞の増加もわずかであった。

次に IL-5 が腹腔 B-1 細胞の *in vivo* における増殖に関与しているかを調べるために、正常マウスと IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスに 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を飲ませ腹腔 B-1 細胞の BrdU 取り込みを比較した。

腹腔 B-1 細胞の BrdU 取り込みは正常マウスと IL-5R $\alpha^{-/-}$  マウスでは同程度であった。正常マウスにおいて腹腔 B-1 細胞の BrdU 取り込みはパイエル板・腸管膜リンパ節・脾臓の B 細胞そして腹腔内の B-2 細胞と同程度であったが、LPS の経口投与は腹腔 B-1 細胞の BrdU 取り込みを選択的に増加させた。これに対して IL-5R $\alpha^{-/-}$  マウスでは LPS を経口投与しても腹腔 B-1 細胞の BrdU 取り込みは増加しなかった。

#### 【考察】

以上の結果から IL-5 は *in vivo* において B-1 細胞の抗体産生細胞への分化に非常に重要な役割を果たしており、IL-10 や LPS が誘導する B-1 細胞の抗体産生細胞への分化にも深く関与している事が示唆された。また IL-5 は LPS により誘導される B-1 細胞の増殖に重要な役割を果たしているが、腹腔 B-1 細胞の自然増殖には必須ではないと考えられた。しかしながら IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスにおける腹腔 B-1 細胞数の減少から IL-5 は B-1 細胞の発育に何らかの役割を果たしていると考えられた。

我々は IL-10 が腹腔 B-1 細胞の抗体産生細胞への分化に関与している事を示してきたが、IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHL マウスでは IL-10 の刺激は腹腔 B-1 細胞を抗体産生細胞へ分化させるには不十分であった。このことから経口 LPS 投与や腸内細菌がまずマクロファージなどからの IL-10 分泌を誘導し、続いてこの IL-10 が IL-5 分泌を誘導し IL-5 receptor を発現している B-1 細胞を活性化するという階層的な B-1 細胞活性化過程が存在している可能性が考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

B-1細胞は自己免疫疾患や腸管免疫との関連が示唆されているB細胞亜集団であり、B-1細胞活性化機構の解析は自己免疫疾患や腸管免疫の解明につながると考えられる。よって通常のB細胞(B-2細胞)が存在せずB-1細胞は残存している抗赤血球抗体トランスジェニック(HL)マウスを用いた検討を行い、B-1細胞の活性化にはT細胞依存性とT細胞非依存性の経路があり、そのどちらにもIL-10が関与していることを明らかにした。B-1細胞はIL-5によっても活性化することが知られているが、今回我々はIL-5が*in vivo*におけるB-1細胞活性化でどのような役割を担っているかを明らかにするため、IL-5受容体 $\alpha$ 鎖欠損(IL-5R $\alpha^{-/-}$ )マウスおよびIL-5R $\alpha^{-/-}$ xHLマウスを用いた解析を行った。

その結果、IL-5R $\alpha^{-/-}$ xHLマウスでは腹腔B-1細胞が存在するにもかかわらず、腹腔内の抗体産生細胞は検出できず、更にIL-10やLPSの投与による抗体産生細胞の増加もわずかであった。

LPS投与は正常マウスの腹腔B-1細胞を選択的に増殖させるが、IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでは増殖誘導が起こらなかった。

以上の結果からIL-5は*in vivo*においてB-1細胞の抗体産生細胞への分化に非常に重要な役割を果たしており、LPSが誘導するB-1細胞の増殖にもIL-5の刺激が必要である事が示唆された。

以上の研究は、抗体産生機構の解明に貢献し、医学の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年8月22日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。