

|             |                                |
|-------------|--------------------------------|
| 氏 名         | の 野 村 尚 史                      |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                      |
| 学 位 記 番 号   | 医 博 第 1870 号                   |
| 学位授与の日付     | 平 成 9 年 3 月 24 日               |
| 学位授与の要件     | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当        |
| 研究科・専攻      | 医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻            |
| 学 位 論 文 題 目 | 成 熟 B リ ン パ 球 の 細胞死と自己免疫に関する研究 |

|        |                    |           |           |
|--------|--------------------|-----------|-----------|
| 論文調査委員 | (主 査)<br>教 授 湊 長 博 | 教 授 桂 義 元 | 教 授 本 庶 佑 |
|--------|--------------------|-----------|-----------|

### 論 文 内 容 の 要 旨

B 細胞の抗原受容体である表面免疫グロブリン (Ig) は, VDJ 各遺伝子が再構成して作られる。このとき自己反応性の抗原受容体を持つ未熟 B 細胞も出現しうる。しかし Goodnow らが報告したように, 自己抗原と強く反応する骨髓内未熟 B 細胞は, 抗原受容体の架橋を介した細胞死をおこし除去 (クローン除去) される。また彼らは自己抗原と弱く反応する未熟 B 細胞は, 除去はされないが, もはや抗原に反応しない状態 (anergy) になることも示した。一方自己抗原が骨髓以外にある場合は未熟 B 細胞の段階ではクローン除去はおこらない。しかし骨髓内分化を終えて末梢リンパ組織に移行した成熟 B 細胞も, 末梢で自己抗原と強く反応するとクローン除去をおこすことを Nemazee らや村上らが示している。これらの知見はいずれも遺伝子導入マウスを用いた *in vivo* の実験から得られた。これらの系で B 細胞のクローン除去機構を細胞レベルや分子レベルでさらに検索を進めることは容易でない。そこで本研究では, *in vitro* で成熟 B 細胞のクローン除去を再現できる実験系の確立を試み, これを用いて幾つかの興味深い知見を得たので報告する。

Goodnow らによると自己抗原の性状が B 細胞のクローン除去に影響する。すなわち同じ抗原でも, 可溶状態ではなく膜結合型にすると非常に効率よくクローン除去をおこす。おそらく膜結合型は抗原受容体を強く架橋するためのクローン除去を誘導するのだろう。この考えに基づき, 成熟 B 細胞のクローン除去を反映しうる *in vitro* 培養系を設定した。抗原モデルとして抗 Ig 抗体を使い, これを培養皿底に吸着させ膜結合型抗原を模倣した (固相化抗 Ig 抗体)。この条件で正常マウス脾臓 B 細胞を培養するとアポトーシスで死滅した。この細胞死は成熟 B 細胞のクローン除去を反映していると考えられた。

つぎにこの実験系で, SLE 様症状をおこす (NZBxNZW) F1 マウスの成熟 B 細胞の反応を調べた。その結果このマウスの脾臓 B 細胞は固相化抗 Ig 抗体による細胞死をおこしにくいことが分かった。従って, 成熟 B 細胞のクローン除去に何らかの異常があると考えられる。実際, *in vivo* の実験系からも (NZBxNZW) F1 マウスの SLE は, B 細胞自身に原因があることが示唆されている。これらの結果も,

本研究で確立した実験系が、成熟 B 細胞のクローン除去現象を *in vitro* で再現していることが支持される。自己反応性成熟 B 細胞が末梢でクローン除去されないことが、全身性自己免疫病における自己反応性 B 細胞の蓄積や病的自己抗体の産生に關与するのだろう。

成熟 B 細胞が自己抗原と反応して除去されるのであれば、外来抗原に反応する B 細胞は抗原受容体を介した細胞死を回避せねばならない。上記の実験系で検索したところ、IL-4 受容体、CD40 抗原、CD72 抗原を介したシグナルが脾臓 B 細胞の細胞死を抑制した。これらのシグナルは、いずれも T-B 細胞間相互作用に關与すると考えられているものである。この実験系からも、B 細胞が外来抗原に反応するために T 細胞からの援助が必要不可欠であることが示された。

本研究で確立した実験系を用いれば、自己免疫病マウスの成熟 B 細胞クローン除去機構の異常を、細胞レベルあるいは分子レベルで検索できる。さらにヒト自己免疫病の解明と治療にも貢献するであろう。

### 論文審査の結果の要旨

外来抗原と反応した成熟 B 細胞は活性化する。一方で自己反応性の成熟 B 細胞はクローン除去などを受けて死滅する。このような成熟 B 細胞の運命決定がどのようにかされるのか。本研究はこの問題について考察したものである。

試験管内細胞培養系で、成熟 B 細胞の抗原受容体を過度に架橋すると死滅する。この系で観察される細胞死は、末梢リンパ組織における成熟 B 細胞のクローン除去を反映すると考えられる。この系でどのような因子が成熟 B 細胞の死を抑制するか検索したところ、IL-4 受容体や CD40 および CD72 分子を介した信号が重要だと分かった。以上から成熟 B 細胞の生と死の運命決定機構について次の仮説が立てられた。(1)単に抗原だけと出会った成熟 B 細胞は死滅する。(2)しかし、上記の分子を介した活性化 T 細胞からの信号があれば、成熟 B 細胞は活性化の方向に運命付けられる。

一方、SLE モデルマウスの成熟 B 細胞は、抗原受容体の架橋による細胞死をおこしにくい。したがって成熟 B 細胞の運命決定の異常が全身性自己免疫病の一因かもしれない。

以上の研究は、成熟 B リンパ球の活性化機構の理解を通して、自己免疫病の原因解明とその治療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 9 年 1 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。