

|         |                                                                                                                  |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名     | 坂 根 剛<br>さか ね つよし                                                                                                |
| 学位の種類   | 医 学 博 士                                                                                                          |
| 学位記番号   | 医 博 第 476 号                                                                                                      |
| 学位授与の日付 | 昭 和 50 年 11 月 25 日                                                                                               |
| 学位授与の要件 | 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当                                                                                          |
| 研究科・専攻  | 医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻                                                                                              |
| 学位論文題目  | <b>Studies on Cell-Mediated Immune Responses by Human Lymphocytes in vitro</b><br>(ヒトリンパ球の試験管内における細胞性免疫反応に関する研究) |

(主 査)  
論文調査委員 教 授 花 岡 正 男 教 授 濱 島 義 博 教 授 深 瀬 政 市

### 論 文 内 容 の 要 旨

第1編では、まず、混合培養によって感作されたヒト末梢血リンパ球が免疫学的特異性をもって標的細胞を破壊することを  $^3\text{H}$ -thymidine 標識細胞からのアイソトープ遊出によって測定し、ヒトリンパ球の試験管内での感作成立を確認した。この標的細胞障害作用は、感作培養系に BUdR-光処理をほどこし混合培養中に出現した幼若化細胞を除去してもなお保持されており、また感作前にリンパ球を標的細胞 monolayer で吸着すると、細胞障害性リンパ球は特異的に monolayer に吸着されるのに対し、幼若化するリンパ球は吸着されないことから、混合培養において、同種細胞を認識して幼若化した細胞と細胞障害作用を発揮する細胞とは異なる population に属すると考える。さらに、混合培養系に amethopterin と adenosine を添加して、同種細胞を認識した細胞の S 期転入を阻止し、これを感作細胞として用いると、標的細胞破壊は著明に減弱したが、この培養系に thymidine を加えて上記薬剤による S 期転入阻止効果を除去することにより、細胞障害作用は回復した。従って、細胞破壊相に与るリンパ球は認識細胞との相互作用を得て、その機能を発現し得ると考える。

第2編では PHA および Con A に対する反応からヒト T リンパ球の subpopulation を分別した。すなわち、牛血清アルブミン (BSA) 濃度勾配遠心法により、ヒト末梢血リンパ球を9つの分画に細分画すると、75~90%の細胞は 21% BSA から 27% BSA の分画 3, 4, 5 に集まり、且つ、これら分画の細胞は E-ロゼット形成細胞の比率が高く、T細胞の大部分を占めた。これに対して 29% BSA から 35% BSA の高比重分画に分布するリンパ球は大部分 B細胞で占められた。次いで、リンパ球の PHA, Con A, pokeweed mitogen (PWM) に対する反応を各分画毎に検討した。その結果、分画 3~5 のリンパ球は上記いずれの mitogen に対しても強い反応を示したが、高比重分画のそれはほとんど反応し得ず、従って、ヒトにおいては PHA, Con A, PWM のいずれの mitogen 刺激に対する反応も、T細胞機能として把握され得ることを証明した。さらに、PHA に最も強く反応するリンパ球は分画 4 のそれであるのに対し、Con A に対する反応の peak を分画 3 に認めたことは、同じ T細胞依存型 mitogen でも、PHA と Con

A では反応するリンパ球の population にずれがあり、全く同一ではないことを示唆している。

第3編では、自己免疫症にみられる細胞性免疫状態の研究の一端として、SLE および RA 患者リンパ球の PHA および Con A 反応性を dose-response の関係から求めた。その結果、SLE では低濃度および至適濃度の PHA 刺激に対して、その反応は有意に低下したが、その他の濃度領域では正常反応を呈した。本症患者の Con A 反応性は低濃度から至適濃度の濃度領域において正常反応を示したのに対し、高濃度領域ではむしろ反応の亢進をみた。RA 患者リンパ球の PHA 反応性は、その添加濃度の多少にかかわらず、著明な反応低下を認め、さらに Con A 刺激に対する反応も、低濃度から至適濃度の Con A に対しては有意の反応低下を示した。次いで SLE 患者リンパ球を BSA 濃度勾配遠心法により細分画すると、分画3に属するリンパ球の増加と、分画4のリンパ球の減少を認めた。以上述べた成績および第2編に示した結果から SLE における細胞性免疫異常はT細胞を構成する subpopulation の偏移に基づくものであり、RA においてはT細胞 subpopulation の広範な減少に基づくものと推察される。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は人リンパ球には発生学上の T-, B-細胞系の下に、機能上のいくつかの subsets が存在し、それらの協同作用が行われることを in vitro の実験系で証明したものである。先ずリンパ球の同種混合培養及び細胞障害反応系を用い、同種抗原を認識して幼若化する細胞（認識細胞）と細胞障害作用を発揮する細胞（遂行細胞）とは異なる subsets に属し、且つ遂行細胞の作用にはS期の認識細胞の協同を必要とすることを立証した。次に牛血清 albumin 濃度勾配遠心法を用いて、人末梢血リンパ球を分画した。T-細胞は低比重分画に集るが、PHA と Con A に各々最高の幼若化反応を示す細胞は異なる分画に属す事を見出し、mitogen 反応性における subsets の存在を確認した。そこで SLE と RA 患者末梢血リンパ球の PHA と Con A 反応性における dose-response 関係を求めた所、これらの自己免疫性疾患患者T-細胞には、正常者に比して各機能別 subsets 構成の偏移が認められた。以上の研究は、人リンパ球に機能上の subsets が存在し、その構成の偏移や欠陥によって細胞性免疫反応の異常がもたらされることを示したもので、免疫学的疾患の病態解明に貢献する所が大きい。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。