

氏 名	わた なべ のり ひこ 渡 部 則 彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2041 号
学位授与の日付	平 成 10 年 7 月 23 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Antigen Receptor Cross-linking by Anti-immunoglobulin Antibodies Coupled to Cell Surface Membrane Induces Rapid Apoptosis of Normal Spleen B cells (細胞膜に結合させた抗免疫グロブリン抗体による抗原レセプター架橋 は正常脾臓B細胞に急速な細胞死を誘導する)
	(主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 桂 義 元 教 授 湊 長 博 教 授 千 葉 勉

論 文 内 容 の 要 旨

骨髄で産生された自己反応性B細胞はすぐさま自己抗原と反応し自己トレランスが誘導される。しかし、末梢組織でのみ存在するような自己抗原に対する自己反応性B細胞は、骨髄未熟B細胞レベルでは自己抗原に反応しないため自己トレランスが誘導されず成熟B細胞に分化する。また、抗原に反応した成熟B細胞は免疫グロブリン(Ig)の体細胞突然変異により抗原特異性を変える。これにより、自己抗原に反応しないB細胞から自己反応性B細胞が産生されうる。したがって、自己トレランスの維持には、成熟B細胞レベルでの自己トレランスも重要と考えられる。実際、自己抗原との反応により脾臓B細胞にトレランスが誘導されることが、自己抗体遺伝子導入マウスを用いて示されている。しかし、脾臓の成熟B細胞のトレランスにアポトーシスが関与しているかどうかは明らかではない。

抗Ig抗体はすべてのB細胞の抗原レセプターに反応しシグナルを伝達するために、正常B細胞の抗原レセプターからのシグナルの解析に有用である。抗Ig抗体の一部は可溶状態で成熟B細胞の活性化を誘導するが、セファローズやデキストランなどの担体に結合させるとより容易に活性化を誘導する。一方、抗Ig抗体を固相化したり、それに対する二次抗体を加えたりすると成熟B細胞にアポトーシスを誘導する。したがって、成熟B細胞の抗原レセプター架橋はその抗原の性状により、活性化、トレランスいずれのシグナルともなりうる。しかし、どのような抗原の性状が成熟B細胞のアポトーシスを誘導するのに必要かは明らかではない。

最初に、すべてのB細胞の抗原レセプターに反応する膜結合型抗原として、化学的架橋剤でマウス赤血球に抗Ig抗体を結合させた抗Ig抗体結合赤血球やマウスミエローマ細胞X63に抗Ig抗体を結合させた抗Ig抗体結合X63を作成した。これらと共に正常マウスの脾臓B細胞を培養したところ、抗Ig抗体自体の増殖活性に関わらず、成熟B細胞の生存細胞率が著しく減少した。この減少はTUNEL法によるアポトーシスに陥った細胞の検出結果から、アポトーシスの著しい誘導であることが示唆された。そして、そのアポトーシス誘導の程度は、細胞膜上の抗Ig抗体の密度及び投与する抗Ig抗体結合細胞の量に依存していた。さらに、F(ab')₂フラグメントである抗Ig抗体と正常マウスの成熟B細胞の組み合わせ、またはintactな抗Ig抗体とFcγレセプターIIbが欠損したマウスの成熟B細胞の組み合わせでもB細胞にアポトーシスが誘導された。これは負のシグナルを伝達するFcレセプターからのシグナルがなくとも、抗原レセプターからのシグナルのみでアポトーシスが誘導されることを示唆している。したがって、これらの結果は、膜結合型抗原による成熟B細胞の除去がアポトーシスによることを強く示唆している。

次に、可溶性抗Ig抗体の量を変化させて、抗Ig抗体結合細胞と比較してアポトーシスがどの程度誘導されるかを検討した。可溶状態でnon-mitogenicな抗Ig抗体では、抗Ig抗体結合細胞より軽度ではあるが成熟B細胞のアポトーシスが誘導された。また一方で、可溶状態でmitogenicな抗Ig抗体の場合は、ごく狭い濃度域の抗体量で軽度のアポトーシスが誘導され、それ

以上の濃度では逆に増殖が誘導された。これらのことから、膜結合型抗原と可溶性抗原ではその性状と量により成熟B細胞に異なったシグナルを入れていることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

成熟B細胞において、抗原レセプターが抗原により架橋されると、抗原の性状によって活性化または細胞死が誘導される。しかし、どのような抗原の性状がその細胞死誘導に必要であるのか明らかではない。本研究は、膜結合型または可溶性抗免疫グロブリン (Ig) 抗体を用いて、成熟B細胞の細胞死誘導に必要とされる抗原の性状と量について解析したものである。まずすべてのB細胞の抗原レセプターに反応する膜結合型抗原として、マウス赤血球やマウスミエローマ細胞に抗Ig抗体を結合させた細胞結合型抗Ig抗体を作成した。これらと共に正常マウスの脾臓B細胞を培養したところ、Fcレセプターからのシグナルがなくとも、抗原レセプターからのシグナルのみで、容量依存性に成熟B細胞の細胞死が誘導された。次に、可溶性抗Ig抗体では、用いる抗体とその濃度に依存して、成熟B細胞に増殖か、または軽度ではあるが細胞死が誘導された。これらのことから、抗原が膜結合型か可溶性であるのかという性状と、その容量が成熟B細胞の細胞死誘導において重要な決定因子となっていることが示唆される。

以上の研究は成熟B細胞のアポトーシス誘導のメカニズムの解明に貢献し、自己反応性B細胞のトレランス誘導機構の理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)論文として価値あるものと認められる。

なお、本学授与申請者は、平成10年6月3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。