

氏名(本籍) あい 相 ば 場 せつ 節 や 也

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 1 8 8 0 号

学位授与年月日 昭 和 6 2 年 2 月 2 5 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最終学歴 昭 和 5 5 年 3 月
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 Functional analysis of Ia antigen-bearing
keratinocytes: Mixed skin lymphocyte culture
between Ia antigen-bearing Pam 212 cells
and allogeneic and syngeneic splenic T cells.
(Ia 抗原陽性ケラチノサイトの機能的解析: Ia
抗原陽性 Pam 212 細胞と同系, 異系脾臓 T 細胞
の混合培養)

(主 査)

論文審査委員 教授 田 上 八 朗 教授 菅 村 和 夫

教授 橋 武 彦

論 文 内 容 要 旨

1. Keratinocyte の Ia 抗原発現と皮膚疾患

近年ある種の皮膚疾患において観察されているKeratinocyte表面のIa抗原発現という現象がいかなる病理組織学的、あるいは免疫組織学的現象と関連するものなのかを明らかにする目的で、種々の疾患について、Keratinocyte表面のIa抗原発現の有無と、病理組織学的特徴および浸潤細胞の表面マーカーを検討した。その結果、Keratinocyte表面にIa抗原の発現される疾患は、表皮内にLeu-1陽性の単核細胞の侵入のみられる疾患群であることが明らかになった。

2. 表皮内Ia抗原陽性細胞の動態

次に、Keratinocyte表面のIa抗原発現のメカニズムを検討する目的で、マウスTNCB接触皮膚炎に関してIa抗原陽性細胞の動態を観察した。腹壁にて感作後、耳介に抗原を塗布し、その耳介表皮を剥離しIa抗原の分布を蛍光抗体法にて観察した。惹起反応において、抗原塗布48時間目までは、肥大した表皮Langerhans細胞表面にのみIa抗原が認められるのに対し、それ以後10日目までは、Keratinocyte表面にもIa抗原が発現されることが確認された。さらに、同じ系において耳介表皮をトリプシン処理して細胞浮遊液としてFACSを用いてIa抗原陽性細胞数を定量的に調べた。近年、マウス表皮内には、Ia抗原陽性細胞以外にThy-1抗原、Ly-5抗原陽性の免疫担当細胞の存在が知られるようになったが、私はこの系においてIa抗原とあわせてこれらの抗原についても検討した。Ia抗原陽性細胞は未処理マウスで3~4%存在し、抗原塗布後48時間以後に表皮細胞の約20%をしめるようになった。また、未処理マウス表皮細胞の中には、40~50%のThy-1弱陽性、Ly-5陰性のKeratinocyteに相当すると思われる細胞群と、5%のThy-1強陽性、Ly-5陽性の樹枝状細胞に相当すると思われる細胞群とが存在することがわかった。Thy-1抗原陽性の細胞群も抗原塗布後48時間以後に若干増加し、Ly-5陽性の細胞群も48時間目に増加を示した。

3. Ia抗原陽性Keratinocyteの機能的解析

以上より、Ia抗原陽性のKeratinocyteになんらかの生物学的役割が存在するのではないかと考え、Ia抗原陽性のKeratinocyteの機能をリンパ球との混合培養にて検討した。その際、通常表皮細胞はLangerhans細胞、Thy-1抗原陽性の樹枝状細胞などが共存しているため、Keratinocyteそれ自身の機能を解析するには適当でない。そこで、この実験では、マウスKeratinocyte由来の細胞株Pam 212を用いて行った。この細胞は、正常Keratinocyteのマーカーと考えられているpemphigus抗原やpemphigoid抗原を有しており、今まで多くの実験で正常Keratinocyteのモデルとして用いられている。

方法は、まず Pam 212 細胞を、interferon を加えて培養し、FACS を用いて Ia 抗原の発現を調べた。Pam212 細胞は 10U/ml 以上の濃度の interferon の添加で、培養 48 時間目から Ia 抗原を発現する。この Ia 抗原陽性あるいは陰性の Pam 212 細胞と同系 Balb/c および異系 C3H 由来の脾臓 T 細胞を 96-well の multiplate に種々の濃度で混合培養し 5 日目の ^3H -チミジンの取り込みを調べた。意外にも、Pam 212 細胞は Ia 抗原発現の有無にかかわらず同系および異系の T 細胞を刺激することができた。その際、Ia 抗原陽性の Pam 212 細胞は Ia 抗原陰性のものに比してより強い増殖刺激活性を有していた。この増殖刺激は、抗 Ia 抗体にて抑制がきかなかった。また、Ia 抗原陽性の Pam 212 細胞にて増殖する細胞は、Lyt 1 あるいは Lyt 2 抗体と補体との処理によって得られた、Lyt 1 (-)、Lyt 2 (-) いずれの細胞群にも存在していた。さらに、この刺激で増殖した細胞は、大きさおよびその表面マーカーの特徴から 2 種類の細胞に分けられた。すなわち、57% Thy 1⁺、23% Lyt 1⁺、6% Lyt 2⁺、9% asialo-GM1⁺ の小型の細胞群と 53% Thy 1⁺、15% Lyt 1⁺、9% Lyt 2⁺、24% asialo-GM1⁺ の大型の細胞群とが存在した。以上より Ia 抗原陽性 Pam 212 細胞には、Ia 抗原を介する抗原提示能とは別に、なんらかの T 細胞刺激活性が存在すると考えた。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文の著者相場節也は、これまでに種々の炎症性皮膚疾患におけるケラチノサイト Ia 抗原発現を免疫組織学的に検討し、ケラチノサイト Ia 抗原発現が T リンパ球の表皮内への侵入と密接に関連する現象であること、またこの現象がマウス接触皮膚炎において誘導できることをみだし、さらに、マウス接触皮膚炎においては Ia 抗原以外に Thy-1, Ly-5 抗原についても陽性細胞の動態を蛍光抗体法、FACS などを用いて明らかにしてきた。

そこで本論文では、Ia 抗原陽性のケラチノサイトになんらかの生物学的役割が存在するのではないかとの考えに立ち、Ia 抗原陽性のケラチノサイトの機能をリンパ球との混合培養にて検討した。その際、正常表皮細胞には、ランゲルハンス細胞、Thy-1 抗原陽性樹枝状細胞などが共存しているためケラチノサイトそれ自身の機能を解析するにはふさわしくない。そのため、この実験ではマウスのケラチノサイト由来の細胞株 Pam-212 を用いた。この細胞は正常ケラチノサイトのマーカーと考えられている天疱瘡抗原、類天疱瘡抗原を発現しており、正常ケラチノサイトのモデルとして用いるのに極めて有用な細胞である。方法は、まず Pam-212 細胞を γ -interferon を加えて培養し、FACS を用いて Ia 抗原の発現を調べた。Pam-212 細胞は 10 U/ml 以上の濃度の γ -interferon の添加で培養 48 時間目から Ia 抗原を発現する。この Ia 抗原陽性 Pam-212 細胞と同系 Balb/c および異系 C3H 由来の脾臓 T 細胞を 96-well の multi-plate に種々の濃度で混合培養し 5 日目の ^3H -thymidine の取り込みを調べた。意外にも、Pam-212 細胞は Ia 抗原の発現の有無にかかわらず同系および異系の T 細胞を刺激した。その際 Ia 抗原陽性の Pam-212 細胞は Ia 抗原陰性のものに比してより強い増殖刺激活性を有していた。この増殖刺激には抗 Ia 抗体によるブロックがきかなかった。また、Ia 抗原陽性 Pam-212 細胞により増殖する細胞は、Lyt-1(-), Lyt-2(-) いずれの T 細胞群にも存在していた。さらに、この刺激で増殖した細胞は、大きさおよびその表面マーカーの特徴から 2 種類の細胞に分けられた。すなわち、小型の 57% Thy-1(+), 23% Lyt-1(+), 6% Lyt-2(+), 9% asialo-GM1(+) 細胞群と大型の 53% Thy-1(+), 15% Lyt-1(+), 9% Lyt-2(+), 24% asialo-GM1(+) の細胞群とが存在した。以上より、Ia 抗原陽性 Pam-212 細胞には、Ia 抗原を介する抗原提示機能とは別に T 細胞を刺激する活性が存在することが明らかとなった。

本論文で、ケラチノサイトが、接触皮膚炎などの炎症性皮膚疾患において、Ia 抗原発現を通して積極的に免疫反応に参加していることを明らかにしたとともに、さらにその Ia 抗原陽性ケラチノサイトに何らかの T 細胞刺激活性が存在することを示した点は、著者のこれまでの一連の研究をさらに発展させたものとして学位論文に値するものと評価した。