

## 溶連菌抗原に対する免疫抑制の解析

### 小児慢性腎疾患の予防管理に関する研究 小児腎疾患の遺伝に関する研究

笹月 健彦

溶連菌の細胞壁抗原に対する免疫低応答性を規定するHLAと連鎖した免疫抑制遺伝子は、抗原特異的サブレッサー-T細胞を介して免疫応答性をコントロールしているが、この抑制性回路にT細胞表面抗原の1つである2H4分子(CD45R)が重要な役割りをしていることが示唆された。

#### 免疫抑制遺伝子, HLA, サブレッサー-T細胞, T細胞表面抗原

(研究方法): 溶連菌に自然感作された健康成人のボランティアより、末梢血リンパ球を分離し、さらに、10cm $\phi$ ディッシュで一時間培養し、附着細胞をマクロファージ(M $\phi$ )分画として回収し、非附着細胞は、さらに、ヒツジ赤血球ロゼット法により、T細胞と非T細胞に分離した。得られたT細胞は、4 $^{\circ}$ Cで30分、抗CD8抗体(MID4, Sela Lab)1000倍希釈液にてインキュベートし、洗浄後、さらに、家兎血清(補体)に浮遊し、50分、37 $^{\circ}$ Cインキュベート後、ハンクス液にて洗浄し、CD8陰性T細胞分画とした。この分画のCD8陽性細胞混入率は3%以下であった。溶連菌細胞壁抗原(SCW)に対する*in vitro* T細胞増殖反応には、PBL  $1 \times 10^5$ 個あるいは、T細胞( $1 \times 10^5$ ) + マクロファージ( $1 \times 10^4$ )、あるいは、CD4 T細胞( $6 \times 10^4$ ) + マクロファージ( $1 \times 10^4$ )を、ヒト血清を添加した培養液0.2mlに浮遊し、96ウエルマイクロタイタープレートにて、抗原と共に7日間培養し、最後の16時間の分裂細胞の3H-チミジンの取り込みを、液体シンチレーションカウンターにて測定しcpm表示した。培養の際には、第3回国際白血球分化抗原ワークショップに提出された80種のT細胞分化抗原に対する単クローン

抗体を最終濃度300倍になるように培養中に添加し、各々の単クローン抗体の免疫応答への影響を観察した。

(結果): SCWに非応答者であるKS、あるいはMUのPBLに、CD45R<sup>(2H4)</sup>あるいはCD11<sup>(Leu 15)</sup>に対する単クローン抗体を共培養すると、SCW特異的免疫応答性の回復がみられた。これに対し、CD28に対する抗体では影響はみられなかった。これらの非応答者のT細胞分画よりCD8陽性のサブレッサー-T細胞分画を除去すると免疫応答性は回復するが(表1)、その反応系に、これらの抗体を共培養してその影響を観察した。表1のように、2H4あるいはLeu 15抗体は、CD4 T細胞の反応には、影響しなかったが、T細胞分画(CD4+CD8)の反応性は、非応答より高応答へとその反応性を転換できた。以上のことより、観察した2名の非応答者のSCW抗原特異的サブレッサー-T細胞の抑制効果は、2H4あるいはLeu 15抗体によって阻止されることが強く示唆された。

(考察): 環境要因(病原微生物、ウイルス等)の不明な種々の疾患において、宿主の免疫応答性と発症との関係を解析するのは非常に

九州大学・生体防御医学研究所

Takehiko Sasazuki, M. D.

Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

困難である。そこで我々はすでに、環境要因の明らかなスギ花粉症について、宿主の抗原特異的 IgE 抗体産生反応を指標にして、遺伝解析を行ない、HLA と連鎖した免疫抑制遺伝子により低応答性が支配され、その低応答性は、CD8 陽性。サプレッサー T 細胞の発現を介してもたらされていることを明らかにしている。すなわち、HLA と連鎖した免疫抑制遺伝子により、発症自体が抑えられていたのである。HLA - DRw13-Dw19 との相関が証明されている急性溶連菌感染後腎炎においても、同様な機序が発症に重要な役割りを演じている可能性が考えられる。今回の研究から溶連菌抗原特異的サプレッサー T 細胞が確かに存在し、その機能は、抗 HLA-DQ 抗体、あるいは、抗 CD45 R、CD11 抗体にて阻止されることが明らかとなった。培養中のリンパ球を各抗体で染色し、2カラー-FACSにて解析すると HLA-DQ はマクロファージの一部、B 細胞、活性化 T 細胞に、また、CD45 R は、B 細胞、T 細胞の一部 (CD4 陽性の) に表現されていた。これらの分子が、抗原特異的な免疫抑制系にどのように関与しているのか解明することが今後の課題である。

(文献)

- 1) Sasazuki, T., Hirayama, K., Matsushita, S., Kikuchi, I., Morimoto, C., F. Schlossman and Z. Chen. The effect of monoclonal antibodies on the Suppression of IgE response to cryptomeria Japonica pollen antigen in Leukocyte Typing III ed A. Mcmicheal. 1987.
- 2) Hirayama, K., Matsushita, S., Kikuchi, I., Iuchi, M., Ohta, N. and Sasazuki, T. HLA-DQ is epistatic to HLA-DR in controlling the immune response to schistosomal antigen in humans.

Nature, 327: 426-430, 1987

- 3) Watanabe, H., Matsushita, S., Kamikawaji, N., Hirayama, K., Okumura, M., Sasazuki, T. Immune Suppression Gene On HLA-Bw54-DR4-DRw53 Haplotype Controls Nonresponsiveness In Humans To Hepatitis B Surface Antigen Via CD8 Suppressor T Cells. Hum. Immunol in press.
- 4) Matsushita, S., Morimoto, C. F. Schlossman and Sasazuki, T. Monoclonal Antibody 4B4 Blocks Suppression of the Immune Response to Cryptomeria japonica Pollen Antigen Human Immunol in press.

Table I. The suppression of the T cell response to SCW was blocked by the addition of the mAbs.

mAbs	Cells			Immune response to		
	T	T4	Mφ	SCW	Med	cpm
(-)	+	-	+	4,614	1,403	3,207
	-	+	+	19,693	1,570	18,123
2H4	+	-	+	14,952	1,679	13,273
	-	+	+	14,562	2,359	12,203
Leu-15	+	-	+	27,744	1,016	26,728
	-	+	+	21,447	939	20,508
4B4	+	-	+	4,333	2,191	2,142
	-	+	+	4,789	1,788	3,001



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



溶連菌の細胞壁抗原に対する免疫低応答性を規定する HLA と連鎖した免疫抑制遺伝子は、抗原特異的サブレッサーT 細胞を介して免疫応答性をコントロールしているが、この抑制性回路にT細胞表面抗原の1つである 2H4 分子(CD45R)が重要な役割りをしていることが示唆された。