

起腎炎性溶連菌抗原に対する免疫低応答性における HLA-DQの役割

小児腎疾患の進行阻止に関する研究 進行阻止に関する免疫・遺伝・病態生化学的研究

笹月 健彦

HLA-DQのDNAタイピングにより、DQA1*0102, DQA1*0103と起腎炎性溶連菌細胞壁(SCW)抗原に対する低応答群との相関が明らかになった。また、DQw6(DQA1*0103-DQB1*0601)を遺伝子導入した形質転換細胞を用いて、DQw6がSCW抗原をT細胞に抗原提示できることが明らかにされた。このDQw6に拘束されたT細胞は、CD8⁺T細胞の増殖を促し、低応答性を規定している可能性が示された。

HLA-DQ 遺伝子、形質転換細胞、起腎炎性溶連菌抗原、免疫遺伝

(研究方法) SCW抗原に対するT細胞増殖反応の集団調査: 80名の健常人によりFicoll-Paque比重遠沈法にて分離した末梢血リンパ球(PBL)1×10⁵個/wellを、10%ヒト血清を含むRPMI 1640培養液に浮遊し、溶連菌抗原5μg/mlと共に7日間培養し、T細胞への³Hチミジンの取り込みを測定した。

形質転換細胞の作成: HLA-Dw15ホモ接合体由来のDRA, DRB1, DRB4, DQA, DQB及び、HLA-Dw12ホモ接合体由来のDRA, DRB5, DQA, DQBをLtk⁻細胞に導入して、DR4, DRw53, DQw4, DR2(AB5), DQw6をそれぞれ発現した形質転換細胞を得た。また、Dw12由来のDRA, DRB1を導入したDR2(AB1)形質転換細胞は、東海大学猪子英俊博士より提供された¹⁾。

SCW抗原特異的T細胞株の樹立及び解析: 新たに分離したPBLを、5μg/mlのSCWを含む10%ヒト血清加RPMI-1640培養液(Gibco)に、1×10⁶/mlの割合で浮遊し7日間(37℃、5%CO₂)培養した。Ficoll-Paque比重遠沈法にて回

収した生細胞5×10⁵と、ガンマ線照射(30Gy)した自己のPBL2×10⁶を、SCW(1μg/ml)及びIL-2源としてMLA144の培養上清(CTLL20を用いたbioassayにてIL-2 5u/ml相当)を含む20%ヒト血清加RPMI-1640培養液にて培養を続けた。7日毎に生細胞を回収し、ガンマ線照射したPBLを加え、同様の条件で培養を続け、SCW特異的T細胞株を得た。各形質転換細胞を25μg/ml Mitomycin C(MMC:Sigma)含有培養液にて30分間処理(37℃)後3回洗浄し20%ヒト血清加RPMI-1640培養液に浮遊して3.5×10⁴/wellの割合で96well flat-bottomtray(Falcon)に播種した。12時間培養後形質転換細胞が再附着した事を確認し抗原提示細胞とした。T細胞株2×10⁴/wellを、SCW20μg/ml、抗原提示細胞と3日間培養後、T細胞増殖反応を³H-thymidineの取り込みにより測定した。測定は、トリブリケートで行った。T細胞株中のT細胞サブセットは、蛍光抗体染色した細胞をFACScan(Becton Dickinson)を用いて解析した。

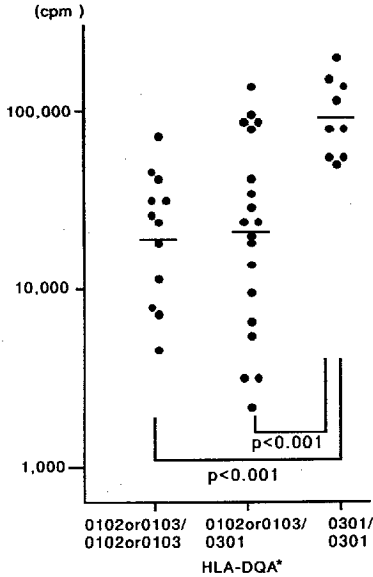
(結果) 80名の健常人の溶連菌抗原に対する免疫

九州大学生体防御医学研究所・遺伝学部門

Takehiko Sasazuki

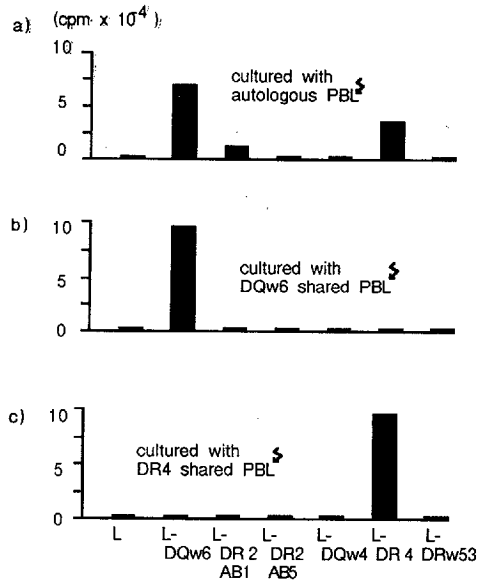
Department of Genetics, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University.,
Fukuoka 812.

応答性を、試験管内T細胞増殖反応として定量し、DNAレベルで解析したDQ対立遺伝子の多型と比較した。T細胞増殖反応は、2峰性の分布を示し低応答群46名と高応答群34名に分けられた。低応答群でDQA1*0102 ($X^2=4.1$)、DQA1*0103 ($X^2=4.18$)および、DQB1*0601 ($X^2=4.2$)の有意の増加を、高応答群でDQA1*0301 ($X^2=8.72$)、DQB1*0303 ($X^2=7.4$)および、DQB1*0401 ($X^2=4.78$)の有意の増加を認めた。低応答性と相関のあるハプロタイプと高応答性と相関のあるハプロタイプのヘテロ接合体であるDQA1*0102またはDQA1*0103/DQA1*0301のドナーの応答性は、DQA1*0102ないしDQA1*0103のホモ接合体同様、低い応答性を示し、優性形質として低応答性を支配する免疫抑制遺伝子の存在が家系調査同様確認された。(図1)

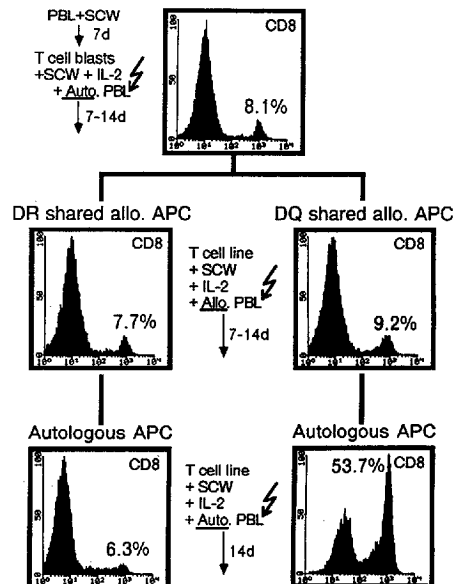


HLA-Dw12(DR2-DRw(-)-DQw6)/Dw15(DR4-DRw53-DQw4)のヘテロ接合体で、SCW抗原に対する低応答者のドナーより、抗原特異的T細胞株を樹立し、DR2(AB1)、DR2(AB5)、DQw6、DR4、DRw53、DQw4のうち、いずれの分子がT細胞に抗原提示を行なっているのかを検討した。T細胞株を抗原の存在下に、DQw6、DR2(AB1)、DR4形質転換細胞と混合培養した場合に増殖反応が認められ、これらの

クラスII分子に拘束されたT細胞の存在が確認された(図2a)。このT細胞株を、DQw6のみあるいは、DR4のみを共有するアロPBLをそれぞれ抗原提示細胞として培養することにより、DQw6単独あるいは、DR4単独に拘束されたT細胞を分離した。得られたT細胞株は、それぞれ、DQw6形質転換細胞+SCW(図2b)あ



(図3)



るいは、DR4形質転換細胞+S C Wの存在下においてのみ増殖反応を示した(図2c)。

アロ抗原提示細胞と培養して得られたDQw6あるいは、DR4拘束性T細胞株には、いずれもCD8⁺T細胞が少量存在していたが、再び、自己のPBLを抗原提示細胞として培養すると、DQw6拘束性T細胞株では、CD8⁺T細胞の割合が、時間経過と共に増大したのに対し、DR4拘束性T細胞株では、時間経過と共にCD8⁺T細胞の割合は徐々に減少した(図3)。

また、DQw6拘束性T細胞株におけるCD8⁺T細胞の増大は、ガンマ線照射した自己PBLと培養した場合にのみおこり、DQw6のみを共有したアロPBLと培養を続けた場合、CD8⁺T細胞の割合は、徐々に減少した。

(考察) 著者らは、溶連菌感染後急性糸球体腎炎とHLA-Aw33-B12-Dw19-DQw6との強い相関を明かにし²⁾、本症の遺伝要因としてHLAが重要であることを明らかにした。従って、溶連菌感染後に腎炎が発症する機序を考えるうえで、溶連菌に対する免疫応答がHLAによってどのようにコントロールされているかを明らかにすることは、重要なことであると考えた。これまでに、健康人の溶連菌に対する免疫低応答性がHLAに連鎖した遺伝子により単純優性遺伝形質発現することを家系調査により明らかにし³⁾、また、単クローン抗体を用いた実験によりHLA-DQが、低応答性をコントロールし、HLA-DRが応答性をコントロールしている可能性⁴⁾及び、低応答性にCD8⁺T細胞が関与している可能性⁵⁾を示唆してきた。低応答性を規定しているDQ対立遺伝子を同定するため、DNAタイピングを行い、DQA1*0102、DQA1*0103およびDQB1*0601が溶連菌に対する低応答群と相関することが明らかになった。しかし、HLA領域には、強い連鎖不平衡があるため、DR2-DRw(-)-DQA1*0102 DQB1.5(DQw6)、DR2-DRw(-)-DQA1*0103 DQB1*0601(DQw6)が低応答性と相関があると考えられ、これらのうちDQが低応答性を支配しているとは、結論できない。そこで、Dw12/Dw15のヘテロ接合体で、S C W

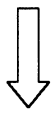
に対する低応答者より、DQw6に拘束されたT細胞株とDR4に拘束されたT細胞株を樹立し両者を比較した。DQw6拘束性T細胞株においてのみ、自己のPBLを抗原提示細胞とした場合に限り、CD8⁺T細胞の強い増殖を認めた。つまり、DQに拘束されたCD4⁺T細胞には、DRに拘束されたCD4⁺T細胞に比べ、より効率的にCD8⁺T細胞を活性化すると推測された。また、CD8⁺T細胞の増殖に自己の抗原提示細胞が必要であることからおそらく、T細胞レセプターによる抗原提示細胞上の多型を有する膜蛋白の認識を介した特異的増殖であると考えられた。今後、これらの細胞間の相互作用、CD8⁺T細胞の免疫抑制活性および拘束分子などを解析していくことにより、HLAに連鎖したS C W抗原に対する低応答性の機序が明らかになるものと期待される。

(文献)

- 1) Kawai J, Ando A, Sato T, Nakatsuji T, Tsuji K and Inoko H: Analysis of gene structure and antigen determinants of DR2 antigens using DR gene transfer into mouse L cells. *J. Immunol.* 142:312-317, 1988.
- 2) Sasazuki, T., Hayase, R., Iwamoto, I and Tsuchida, H.: HLA and Acute poststreptococcal glomerulonephritis. *The New England Journal of Medicine*, 301:1184-1185, 1979.
- 3) Sasazuki T, Kaneoka H, Nishimura Y, Kaneoka R, Hayama M and Ohkuni H: An HLA-linked immune suppression gene in man. *J. Exp. Med.* 152:297s-313s, 1980.
- 4) Hirayama, K., Matsushita, S., Kikuchi, I, Iuchi, M., Ohta, N. and Sasazuki, T.: HLA-DQ is epistatic to HLA-DR in contributing the immune response to shistosomal antigen in humans. *Nature* 327:426-430, 1987.
- 5) Nishimura, Y. and Sasazuki, T.: Suppressour T cells control the HLA-linked low responsiveness to streptococcal antigen in man. *Nature* 302:67-69, 1983.



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



HLA-DQ の DNA タイピングにより、DQA1*0102,DQA1*0103 と起腎炎性溶連菌細胞壁(SCW)抗原に対する低応答群との相関が明らかになった。また、DQw6(DQA1*0103-DQB1*0601)を遺伝子導入した形質転換細胞を用いて、DQw6 が SCW 抗原を T 細胞に抗原提示できることが明らかにされた。この DQw6 に拘束された T 細胞は、CD8+T 細胞の増殖を促し、低応答性を規定している可能性が示された。