

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 林 砂 緒

審査委員一同は、平成 15 年 1 月 23 日、申請者により提出された論文「Cytolytic and virus neutralizing natural IgM antibodies in normal swine serum」（ブタ血清中に存在する細胞溶解能及びウイルス中和能を有する自然抗体 IgM に関する研究）について審査を行った。本研究では、自然免疫の一つである補体系を活性化させる自然抗体 IgM を SPF ブタ血清中に発見したことが大きな成果であり、またこの自然抗体がウサギ細胞の溶解やウサギ細胞で増殖させたウイルスの中和に関与していることを示した。また、本研究は異種移植などにおいて見られる超急性拒絶反応など、異種抗原に対する自然抗体の存在意義とその実体解明を目的としたものであり、3 章から構成される。論文中には数箇所の修正点がみられたものの、論文自体の完成度は非常に高く、問題意識を明確とした文章構成、ならびに実験結果に対する考察の論理展開は高く評価できる。以下に各章の評価を述べる。

第一章では、非免疫ブタ血清中に存在する豚オーエスキー病ウイルス（PRV）を中和する宿主特異的な自然抗体 IgM についての研究成果を報告した。アルファヘルペスウイルス亜科に属するウイルスでは、増殖させる細胞種の違いにより、非免疫血清に対する感受性が異なるという現象が見られ、例えば、SPF ブタ血清に対し、同種のブタ腎由来 CPK 細胞で増殖させた豚オーエスキー病ウイルス（PRV）は抵抗性を示すが、異種であるウサギ腎由来 RK13 細胞で増殖させた PRV は感受性を示し中和される。またこの PRV 中和能はブタ血清を 56°C30 分間加熱すると失われることから、補体系が関与していると考えられる。さらに、このような感受性の違いは、血清中にウイルスを増殖させるために用いた細胞に対する自然抗体 IgM を持つかどうかで決まることが示唆された。

ヘルペスウイルスは細胞から出芽する際に、感染細胞の細胞膜の一部をエンベロープとして最外殻にまとうことが報告されており、ウイルスの血清に対する感受性が、増殖に用いた細胞と血清との関係とほぼ一致することから、第二章では SPF ブタ血清とウイルス増殖に用いたウサギ腎由来 RK13 細胞との関係について詳細に調べた。ウサギ腎由来 RK13 細胞は SPF ブタ血清により cell lysis を起こす。補体系は、抗体を介する古典経路と補体分子のみで活性化される第二経路に分けられるが、EGTA によってカルシウムイオンをキレートし、古典経路を遮断したブタ血清では、ウサギ RK13 細胞に cell lysis を起こす能力が失われた。SPF 血清であるにも関わらず、抗体を必要とする古典経路を介して RK13 細胞に cell lysis を起こすことから、このブタ血清は RK13 細胞に対する抗体を持つことが推測される。ゲル濾過によるブタ血清の分画、抗ブタ IgM 抗体による競合阻害などのデータより、SPF ブタ血清中には抗 RK13 細胞自然抗体 IgM が存在することが確認された。In vitro では PrV は様々な細胞株に感染するが、実際にはヒトなど異種間での水平感染は起こりにくい。このような感染防御のメカニズムには、ウイルスのエンベロープタンパク質に対す

る自然抗体 IgM を介した補体系古典経路の活性化が関与すると考えられる。

第三章では RK13 細胞のような上皮系細胞以外でも同様の現象が見られるかどうかを、同種であるウサギ血球系の細胞を使って調べた。SPF ブタ血清はウサギ赤血球を溶血させる。一般に、異種血清による赤血球の溶血反応は、抗体の関与しない補体系第二経路による膜障害性複合体 (MAC) の形成が原因であると考えられている。本研究でもブタ血清の補体系第二経路によってウサギ赤血球が溶血することが確認されたが、その反応にはウサギ赤血球膜に特異的に結合する自然抗体 IgM が必要であることが示唆された。ブタ血清は、抗ブタ IgM 抗体による競合阻害、あるいは IgM 抗体の除去によりウサギ赤血球の溶血能を失ったこと、また、赤血球膜上に発現する抗ウサギ赤血球 IgM エピトープを検出したことから IgM 抗体の関与が考えられる。自然抗体が補体系の第二経路活性化に働くという報告は今までほとんどなく、重要な知見であると考えられる。

以上は、自然抗体と細胞の溶解、ウイルスの中和、赤血球の溶血のメカニズムに対して新規性と独創性をもった有用な結果であり、またその成果は、生物の持つ自然免疫において、補体系と自然抗体の果たす役割を研究する上でも大きな貢献をなすと期待できた。以上の審査結果から、審査委員一同は、本論文を博士学位論文として価値あるものと認めた。