

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 卓

本研究は、未だ不明な点が多い、B1細胞の自己免疫病発症における免疫病理学的意義を、ヒト SLE の病態に酷似した表現形質を示す、(NZB x NZW) F1 マウスを用いて検索したものであり、下記の結果を得ている。

1. 自己免疫病を発症した、加齢 BWF1 マウスでは、末梢血中の B1 細胞の増加が認められた。そこで、加齢 BWF1 マウスの末梢血中に増加する B1 細胞の、各臓器への分布についてフローサイトメーターにより解析したところ、肺、腎臓、及び胸腺における B1 細胞の分布が、肥大した局所リンパ節 (pulmonary LN, renal LN) を含む、2次リンパ組織に比較してより高い頻度で検出され、その割合は、脾臓に比べ有意に高いことが明らかとなった。また、若齢 BWF1 マウスの胸腺内 B220 陽性 B 細胞では、腹腔 B1 細胞に特徴的なマーカーである、CD11b の発現は全く検出されなかったが、加齢 BWF1 マウスの CD5 陽性胸腺内 B 細胞では明らかな CD11b 発現を認めたことから、加齢 BWF1 マウスの胸腺内に増加する CD5 陽性 B1 細胞は、腹腔 B1 細胞が胸腺内に遊走したものであると考えられた。さらに、これと一致して、CD11b 陽性の B1a 細胞は、加齢 BWF1 マウスの末梢血中や脾臓においても確認されたが、一方で、若齢 BWF1 マウスの末梢血中や脾臓に局在する B1a 細胞では、CD11b 発現は認められなかった。
2. 加齢 BWF1 マウスの胸腺内 B 細胞の割合は、若齢 BWF1 マウスや加齢

BALB/c マウスに比べ、有意に高い値を示していた。また、免疫組織学的な解析から、加齢 BWF1 マウスでは、胸腺内血管周囲腔 (perivascular space: PVS) の肥大が観察され、その内部には、著明な B220 陽性細胞の集積が認められた。さらに、そのような肥大した PVS を囲む基底膜は、若齢マウスの場合に比べ不明瞭であり、また、明らかな fenestration (間隙) も確認された。実際に、静脈内移入された、腹腔 B1 細胞は、加齢 BWF1 マウス胸腺の拡張した PVS 内に多数局在し、また、一部の移入 B1 細胞は、髄質領域へも移行した。これらの結果は、加齢 BWF1 マウスにおける、血液-胸腺関門バリアーの機能的破綻を示しており、PVS へ集積した末梢血中 B1 細胞が胸腺実質内へと容易に移行しうる可能性を示唆するものと考えられた。

3. 加齢 BWF1 マウスの拡張した胸腺 PVS 内には、リンパ球の血管外移行に重要な接着分子である PNA_d を発現する、高内皮細静脈 (high endothelial venule: HEV) 様の血管が出現し、これらの血管は、同時に ICAM-1 及び VCAM-1 を発現することが判明した。また、加齢 BWF1 マウスでは、B 細胞に特異的なケモカインである BLC の胸腺内発現の亢進が認められ、一部の PVS 内 HEV 様血管では、BLC 蛋白の発現を認めた。よって、これら、胸腺内血管における PNA_d、ICAM-1、VCAM-1 及び BLC 発現は、末梢血中で増加した B1 細胞の、拡張した PVS 内への移行を促進しているものと考えられた。
4. B1 細胞の抗原提示能について、異系白血球混合培養系を用いて解析した。その結果、BWF1 マウス及び BALB/c マウス由来腹腔 B1 細胞は、いずれのマウス由来の細胞を用いた場合にも、異系 CD4 陽性 T 細胞に対して、脾臓由来樹状細胞と同程度の細胞増殖を誘導し、この反応は、B2 細胞を用いた場合に比べ有意に高い値を示した。

5. 新生仔期胸腺は、内因性スーパー抗原を介した禁止クローンの排除（ネガティブセレクション）が不十分であるため、成体マウスでは完全に排除されてしまうような V β TCR を発現する成熟 T 細胞を高頻度に含んでいる。腹腔 B1 細胞と新生仔胸腺細胞との同系白血球混合培養の結果、B1 細胞は、禁止クローンに対し強力な細胞増殖を誘導した。よって、この細胞増殖は、B1 細胞が提示する内因性スーパー抗原を介した反応であると考えられた。
6. 成体 BWF1 マウスの胸腺内においても、B1 細胞によって活性化されうる T 細胞が存在するか否かを、成体マウス胸腺細胞を用いた同系白血球混合培養実験により検討した。IL-2 存在下、B1 細胞との混合培養を行った群では、明らかな胸腺 CD4 陽性 T 細胞（4SP）の分裂及び活性化が認められた。しかしながら IL-2 存在下、B2 細胞を加えた群、または IL-2 のみで胸腺細胞を培養した群では、このような分裂 4SP 細胞は、ほとんど検出されなかった。このことから、新生仔マウス同様、成体マウスの胸腺にも、B1 細胞によって、分裂・活性化される自己反応性 T 細胞が存在することが示された。また、この培養系において、B1 細胞によって分裂増殖が誘導された 4SP 細胞は、内因性スーパー抗原に反応する T 細胞クローン（禁止クローン）を含まないことから、B1 細胞によって誘導される成体マウス胸腺 4SP 細胞の活性化は、新生仔胸腺細胞との共培養実験で見られたような、B1 細胞の提示する内因性レトロウイルス由来のスーパー抗原を介したものではなく、それ以外の自己抗原を介した反応であると考えられた。よって、これらの結果は、胸腺内に異所性に遊走した B1 細胞が、自己反応性 T 細胞の増殖・活性化を誘導する可能性を示唆している。

以上、本研究では、加齢 BWF1 マウスに認められる、胸腺内構築の変化、胸腺

内血管における接着分子発現の亢進、及び BLC の胸腺内での異所性高発現について明らかにした。さらに、これらの異常によって引き起こされると考えられる、B1 細胞の胸腺内遊走が、自己反応性 T 細胞の活性化をもたらす可能性について示した。よって、本研究は、全身性自己免疫疾患における免疫寛容破綻の機序説明につながる可能性があると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。