抗 DNA 抗体産生のクラス特異的免疫統御系

関 川 巖

Jpn. J. Clin. Immun., 10(4) : 358~367, 1987.

Class-specific Regulation of Anti-DNA Antibody Synthesis in (NZB×NZW) F₁ Hybrid Mice

Iwao Sekigawa

Department of Pathology, Juntendo University School of Medicine

【Summary】

Investigations of regulatory helper and suppressor T cells in the *in vitro* anti-DNA antibody synthesis in NZB×NZW (B/W) F₁ hybrid mice were initiated by the development of an *in vitro* system in which G 10-passed B cells from B/W F₁ mice were cocultured with mitomycin C-treated T cells in the presence of concanavalin A and either presence or absence of lipopolysaccharide. It was revealed that each IgG and IgM anti-DNA antibody synthesis was under the regulation of separate L3T4⁺ helper and Ly2⁺ suppressor T cells. The function of these class-specific regulatory T cells was age dependent. While the helper effect of L3T4⁺ T cells on IgG antibody synthesis increased, the effect of L3T4⁺ T cells on IgM antibody production decreased in B/W F₁ mice with aging. The IgG anti-DNA antibody production in the cocultures of L3T4⁺ T cells and B cells was suppressed by addition of Ly2⁺ T cells from young but not aged B/W F₁ mice, whereas the production of IgM anti-DNA antibodies was suppressed by Ly2⁺ T cells from aged, but not young B/W F₁ mice. It was also found that although IgM anti-DNA antibody producing B cells were already present in 2-mo-old mice, B cells producing IgG antibodies under the influence of L3T4⁺ T cells appeared in mice at 7 months of age. These data clearly indicate that separate class-specific regulatory T cells are involved in the production of each IgM and IgG anti-DNA antibodies and that the total serum level of the antibodies is reflected by both their age-associated changes and the generation of antibody-forming B cells in B/W F₁ mice.

Key words : SLE,

B/W F₁ マウス,
抗 DNA 抗体

【概 要】

SLE (全身性エリテマトーデス) のモデルマウスである NZB×NZW (B/W) F₁ マウスを用いて抗 DNA 抗体産生における T 細胞統御系につき検討した。このような統御系について *in vitro* の系で検討を行なうには、*in vivo* において既に活性化されている B 細胞が混在する条件は不適当である。我々は、こうした活性化 B 細胞の多くが Sephadex G 10 カラムにより除去されることを明らかにするとともに、G 10 通過 B 細胞と T 細胞の混合培養系を確立して、抗 DNA 抗体産生に対する T 細胞統御系につき検討することを可能にした。

その結果、IgG および IgM クラスの抗 DNA 抗体産生が、各々異なるクラス特異的 L3T4⁺ T 細胞補助効果に依存していることを明らかにした。しかも、IgG 抗 DNA 抗体産生に対し補助的に作用する L3T4⁺ T 細胞機能は、加齢とともに増強するのに対し、IgM 抗 DNA 抗体産生に対する補助機能は、若齢期に強く、加齢によりむしろ減弱することがわかった。一方、IgG および IgM 抗 DNA 抗体産生に対し抑制的に作用するクラス特異的 Ly2⁺ T 細胞の存在も明らかとなった。IgG 抗 DNA 抗体産生に対し抑制的に作用する Ly2⁺ T 細胞機能は、若齢期に強く加齢により減弱するのに対し、IgM 抗 DNA 抗体産生に対する抑制的 T 細胞機能は、加齢とともに増強した。

従来から、SLE における自己抗体産生機構に多クローン性 B 細胞活性化をはじめとする B 細胞機能の異常が強調されていたが、今回の我々の研究によって、抗 DNA 抗体の産生には明らかにクラス特異的統御系 T 細胞が関与しており、しかもその加齢変化が SLE の発症と密接な相関を示す IgG 抗 DNA 抗体産生に重要な要因となっていることが示された。

I. はじめに

抗 DNA 抗体を含む種々の自己抗体の産生に特徴づけられる全身性エリテマトーデス (SLE) の病因を解明する上で、そのリンパ球機能についての研究は極めて重要な意味をもっている。この点に関し従来より、NZB, NZB×NZW (B/W) F₁, MRL/lpr などヒト SLE に酷似した病態を自然発症するモデル系マウスを用いて数多くの研究が行われてきた。初期の頃の研究では、一時サプレッサー T 細胞機能の異常が強調されていた^{1,2)}が、その後、こうしたマウスにも正常のサプレッサー T 細胞機能が存在するという報告も数多く出るに及び、この点に関する結論は得られないまま今日に至っている³⁾。一方、その後種々の B 細胞機能の異常が発見され、自己免疫の発症との関連が注目されるに及んでいる。その中には、生後早期より自然に多クローン性 B 細胞活性化 (Poly-clonal B cell activation) が出現すること、あるいは、種々の抗原や B 細胞活性化物質に対し B 細胞が過剰の反応性を示すことなどの発見が報告されている⁴⁻⁷⁾。しかしながら、従来のこうした報告の多くは、ヒツジ赤血球 (SRBC) や、ハプテン特異的抗原など外来抗原に対する抗体産生系や非特異的リンパ球活性化因子などを用いた系で調べたものであり、自己抗体産生について直接調べたものは数少ない。そのため、実際の自己抗体産生にいかなるリンパ球亜集団の機能異常が関与しているかという点が未だ解決されていないのが現状といえる。

SLE を特徴づける抗 DNA 抗体についてみると、出現する抗体のクラスが SLE 症状と密接な関連を示すことが知られている。特に高度の腎疾患をともなう SLE は、IgG クラスの抗 DNA 抗体の出現とよく相関している。一方、B/W F₁ マウスでは、若齢期で未だ SLE 症状が顕著でない時期には IgM クラスの抗体が優位に検出されるのに対し、加齢とともに SLE 症状が増強するにつれてこれが IgG 優位に変換するという現象が知られている⁸⁾。このような現象の起こる機構を最もよく説明できるのが、加齢にともなうクラス特異的免疫統御系の変化であるが、上にも述べたように未だ抗 DNA 抗体産生に係わる免疫細胞学的解析はごく断片的にみられるのみで、その機構についてもまったく不明である。

ところで、従来から抗 DNA 抗体の産生機能を *in vitro* の系で解析するためにまず解決しなければならない一つの問題があった。それは、既に *in vivo* において活性化されている B 細胞が *in vitro* の系に混在していると、これが即座に抗体産生を行なうために、抗体産生に対する統御系の影響をみるのが困難であるという点である。実際に、このような活性化 B 細胞が統御系 T 細胞の影響を受け難いということも明らかになっている⁹⁻¹¹⁾。このような問題点を我々は、あらかじめ活性化 B 細胞を Sephadex G 10 カラムにより除去するという方法で解決し、抗 DNA 抗体産生のクラス特異的統御機構につき免疫細胞学的検討を加えた。

図1 *In vitro* productions of IgG class and IgM class specific anti-DNA antibodies by spleen cells from 2-, 4- and 7-mo-old B/W F₁ mice. Bar represents mean and SD.

II. 実験方法

1. 動物

当施設飼育の2, 4および7ヵ月齢, 雌 B/W F₁ マウスを用いた。

2. 細胞の分離と培養

上記マウス脾細胞を NH₄Cl 処理により赤血球を除去した後, 96 穴平底プレート (Corning, No. 25860) を用い培養した。培養液には, 10% FCS (GIBCO) と 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol を添加した RPMI 1640 を使用した。活性化B細胞とマクロファージを除去する目的で Ly および Mishell らの方法¹²⁾ に従って脾細胞を Sephadex G 10 カラム (Pharmacia) に2回通過させた。T細胞の除去には, 抗 Thy-1 抗体 (OLAC, clone F7D5) と家兎補体 (Cederlane) による細胞障害試験を行なった。この方法によりT細胞は4%以下になることを確認した。T細胞分画を得るために“panning”¹³⁾ およびナイロンウールカラム法を用い, 更にT細胞亜分画を得る目的で, 抗 L3T4 抗体 (Dr. L.A. Herzenberg より恵与) および抗 Ly 2 抗体 (Beckton Dickinson Monoclonal Inc.) と補体とによる細胞障害試験にて, 各々 Ly 2⁺ T 細胞あるいは L3T4⁺ T 細胞分画を得た。T細胞分画は, $50 \mu\text{g}/5 \times 10^7$ 細胞濃度の mitomycin C (MMC) 処理を1時間行ない使用した。*in vitro* での T-B 細胞混合培養による抗 DNA 抗体産生は, 各々 T および B 細胞を 5×10^5 個/300 μl /well の濃度で5日間培養し検討した。実験では, 必要に応じ concanavalin A (Con A, $10 \mu\text{g}/\text{ml}$, Sigma) と lipopolysaccharide (LPS, $50 \mu\text{g}/\text{ml}$, E. coli 0111:B4, DIFCO) を培養系に加えた。

3. Radioimmunoassay

培養上清中の抗 DNA 抗体価は, Eaton らの方法¹⁴⁾ に

従じ, protamine sulphate をあらかじめ付着させ, 更に, 熱処理子牛胸腺 DNA (Sigma) を乾燥固定させた8連結丸底プレート (Dynatec, M 1748 A) を用い測定した。二次抗体は, goat anti-mouse IgG と goat anti-mouse IgM (Cappel) 抗体を使用し, クラス特異的抗 DNA 抗体価の測定を行なった。

III. 実験結果

1. 抗 DNA 抗体産生の加齢変化

図1には, 各月齢の B/W F₁ マウス由来の脾細胞を未処理のまま5日間 *in vitro* で培養し, 抗 DNA 抗体産生の程度を調べた結果を示してある。図からも明らかなように, IgG 抗 DNA 抗体は, 2および4ヵ月齢 B/W F₁ マウス脾細胞からは産生されず, 7ヵ月齢をまっけてはじめて産生されるのに対し, IgM 抗 DNA 抗体は, 若齢期より産生され, 加齢にともなってむしろその産生は低下する傾向が認められた。

2. G 10 通過 B 細胞の抗 DNA 抗体産生

図2には, 7ヵ月齢 B/W F₁ マウス脾細胞の Sephadex G 10 カラム通過前後の抗 DNA 抗体産生能を示してあるが, G 10 通過後の細胞で著明に抗 DNA 抗体産生の低下が認められた。この現象は, IgG 抗 DNA 抗体産生で特に顕著であった。一方, このような Sephadex G 10 カラム通過細胞分画は, LPS 刺激を加えることにより再び IgG および IgM 抗 DNA 抗体を産生した (図3)。こうした G 10 通過脾細胞分画の抗 DNA 抗体産生に T細胞が影響を与えているか否かを調べるために, これら細胞を抗 Thy-1 抗体を用いた細胞障害試験により処理し, その後の LPS 誘発抗 DNA 抗体産生能について調べてみた。その結果, IgG 抗 DNA 抗体産生は著しく低下したが, IgM 抗 DNA 抗体産生は T細胞存在下と同じ程度に認められた (図4)。同様の結果は, 細胞障害試験により G 10 通過脾細胞から L3T4⁺ T細胞を除去

図2 *In vitro* productions of IgG class and IgM class specific anti-DNA antibodies by spleen cells from 7-mo-old B/W F₁ mice, before (pre-G 10) and after (post-G 10) passages through a Sephadex G 10 column.

した場合にも認められた。

3. IgG 抗 DNA 抗体産生に対する補助 T 細胞の加齢変化

以上の結果をもとにして、抗 Thy-1 抗体処理 G 10 通過 B 細胞と T 細胞との混合培養系を確立し、更に詳細に IgG 抗 DNA 抗体産生の T 細胞依存性を調べた。実験では図5に示すように、7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの G 10 通過 B 細胞と、各々 2, 4 および 7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの MMC 処理 T 細胞を Con A および LPS 添加の下に混合培養した結果、4 および 7 ヶ月齢 B/W F₁ マウス由来の T 細胞を加えることにより B 細胞の IgG 抗 DNA 抗体産生能に回復がみられた。

こうした補助的 T 細胞の T 細胞亜分画を調べるために、T 細胞分画を抗 L3T4 抗体および抗 Ly2 抗体と補体による細胞障害試験にて L3T4⁺ T 細胞と Ly2⁺ T 細胞に分画し、7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの G 10 通過 B 細胞との混合培養を行なった。その結果、図6に示したように、IgG 抗 DNA 抗体産生に対し補助的に作用するのは L3T4⁺ T 細胞であることが明らかとなった。また、この補助効果は量依存性に認められた(図7)。

4. IgG 抗 DNA 抗体産生に対する抑制性 T 細胞

同様の混合培養系を用いて、IgG 抗 DNA 抗体産生に対し抑制的に作用する T 細胞の存在につき検討を加えた。表1に示すように、7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの G 10 通過 B 細胞と同月齢の L3T4⁺ T 細胞の混合培養による IgG 抗 DNA 抗体の産生系に対し、2 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの Ly2⁺ T 細胞には著明な抑制効果が認められた。同様の抑制効果は7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの Ly2⁺ T 細胞には認められなかった。

5. IgG 抗 DNA 抗体産生 B 細胞の発生

図1に示したように、B/W F₁ マウスにおいて IgM

図3 Effect of LPS on *in vitro* productions of IgG (●) and IgM (○) class anti-DNA antibodies by G 10-passed cells from B/W F₁ mice at 7 mo of age.

抗 DNA 抗体は2 ヶ月齢マウスの脾細胞から産生される。このことは、2 ヶ月齢において既に IgM 抗 DNA 抗体産生 B 細胞の存在することを示している。一方、IgG 抗 DNA 抗体は7 ヶ月齢マウスの脾細胞からのみ産生され、2 ないし 4 ヶ月齢のマウス脾細胞では産生されない。この現象が IgG 抗 DNA 抗体産生 B 細胞の発生の有無に由来するのか、あるいはまた統御系 T 細胞の関与によるものかを明らかにするために、各々 2, 4 および 7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの G 10 通過 B 細胞と 7 ヶ月齢 B/W F₁ マウスの L3T4⁺ T 細胞との混合培養を行ない、その IgG 抗 DNA 抗体産生を調べてみた。結

図 4 Effect of anti-Thy-1 antibodies plus complement on *in vitro* productions of IgG and IgM class anti-DNA antibodies by G 10-passed spleen cells from 7-mo-old B/W F₁ mice. (○), Untreated cells; (●), anti-Thy-1-treated cells.

図 5 Age-associated change in the effect of T cells on the *in vitro* production of IgG class anti-DNA antibodies by the splenic B cells from 7-mo-old B/W F₁ mice. G 10 B, Sephadex G 10 column-passed, anti-Thy-1+complement-treated splenic B cells; T, MMC-treated splenic T cells obtained by panning and nylon wool column passage from 2-, 4- and 7-mo-old B/W F₁ mice. Closed column represents T cell background (cpm ± SD) from each aged mice.

図 6 Helper effect of L3T4⁺ T cells from old, but not young, B/W F₁ mice on the *in vitro* production of IgG class anti-DNA antibodies by the G 10-passed splenic B cells from old B/W F₁ mice. Closed column represents L3T4⁺ and Ly2⁺ T cell background (cpm ± SD) from 2- and 7-mo-old B/W F₁ mice.

表 1 Suppressive effect of MMC-treated $Ly2^+$ T cells from 2-mo-old B/W F_1 mice on *in vitro* IgG-class anti-DNA antibody production

Cells in culture	IgG-class anti-DNA (cpm $\pm$ SD)	% suppression
1) 7 mo whole spleen cells	1,450 $\pm$ 59	—
2) 7 mo G 10-passed B cells	310 $\pm$ 70	—
3) 2)+7 mo $L3T4^+$ T cells	1,478 $\pm$ 373	0
4) 3)+7 mo $Ly2^+$ T cells	1,377 $\pm$ 203	7
5) 3)+2 mo $Ly2^+$ T cells	509 $\pm$ 66	83

果は図8に示したが、7ヵ月齢 B/W F_1 マウスの $L3T4^+$ T 細胞の補助効果により IgG 抗 DNA 抗体産生がみられたのは7ヵ月齢マウス由来の G 10 通過B細胞のみであり、2および4ヵ月齢マウスの G 10 通過B細胞には IgG 抗 DNA 抗体の産生はみられなかった。

6. IgM 抗 DNA 抗体産生に対する補助 T 細胞の加齢変化

図4に示したように、IgM 抗 DNA 抗体は G 10 通過B細胞からも LPS 刺激によって産生される。しかし、この IgM 抗 DNA 抗体産生がやはり補助T細胞に依存した現象であることは、G 10 通過B細胞を LPS の存在しない条件で MMC 処理T細胞と混合培養することによって、これが産生されることから明らかとなった。図9には、7ヵ月齢 B/W F_1 マウスのB細胞と各月齢のT細胞とを Con A 存在下で混合培養した結果を示してあるが、図から明らかなように、IgG 抗 DNA 抗体の場合(図5)とは逆に、IgM 抗 DNA 抗体産生に対する補助効果は若齢期T細胞に強く、7ヵ月齢T細胞ではその機能は著しく低下していた。T細胞亜分画を用いた混合培養の結果、この IgM 抗 DNA 抗体産生に対し補助的に作用するのは $L3T4^+$ T 細胞であり、 $Ly2^+$ T 細胞にはこうした機能の認められないことが明らかとなった(図10)。

7. IgM 抗 DNA 抗体産生に対する抑制性 T 細胞

同様の混合培養系を用いて、IgM 抗 DNA 抗体産生に対し抑制的に作用するT細胞の存在について検討を加えた。表2に示すように、2ヵ月齢 B/W F_1 マウスの G 10 通過B細胞と同月齢の $L3T4^+$ T 細胞との混合培養による IgM 抗 DNA 抗体産生に対し、7ヵ月齢 B/W F_1 マウスの $Ly2^+$ T 細胞は著明な抑制効果を示したが、2ヵ月齢 B/W F_1 マウスの $Ly2^+$ T 細胞にはこの効果は認められなかった。

図 7 Dose dependency of $L3T4^+$ helper T cell activities for *in vitro* IgG class anti-DNA antibody production. The 5×10^5 G 10-passed B cells from a 7-mo-old B/W F_1 mouse were cocultured with $L3T4^+$ T cells from the same mouse at given cell numbers in the presence of Con A and LPS.

IV. 考 案

SLE のモデルマウスである B/W F_1 マウスを用いて、SLE 病態発現に密接に関係すると考えられている抗 DNA 抗体の産生機構につき細胞レベルで検討を加えた。

加齢 B/W F_1 マウスのB細胞を調べてみると、その多くは既に *in vivo* で活性化を受けており、*in vitro* で培養した場合には、B細胞のみで抗 DNA 抗体の産生を行なう。こうした活性化B細胞は統御系T細胞の影響を

図 8 Age-associated generation of B cells responsible for *in vitro* IgG class anti-DNA antibody synthesis. Closed column represents B cell background (cpm $\pm$ SD) from each aged mice.

図 9 Age-associated change in the effect of T cells on the *in vitro* production of IgM class anti-DNA antibodies by splenic B cells from 7-mo-old B/W F₁ mice. See legend to Figure 5.

図 10 Helper effect of L3T4⁺ T cells from young, but not old, B/W F₁ mice on the *in vitro* production of IgM class anti-DNA antibodies by the G 10-passed splenic B cells from young B/W F₁ mice. Closed column represents L3T4⁺ and Ly2⁺ T cell background (cpm $\pm$ SD) from 2- and 7-mo-old B/W F₁ mice.

表 2 Suppressive effect of MMC-treated Ly2⁺ T cells from 7-mo-old B/W F₁ mice on *in vitro* IgM-class anti-DNA antibody production

Cells in culture	IgM-class anti-DNA (cpm $\pm$ SD)	% suppression
1) 2 mo whole spleen cells	1,216 $\pm$ 16	—
2) 2 mo G 10-passed B cells	488 $\pm$ 42	—
3) 2)+2 mo L3T4 ⁺ T cells	1,205 $\pm$ 36	0
4) 3)+2 mo Ly2 ⁺ T cells	1,192 $\pm$ 107	1
5) 3)+7 mo Ly2 ⁺ T cells	436 $\pm$ 80	81

受け難いので、これらを用いてはその統御系の解析を行なうことはできない。我々は先に、こうした活性化B細胞の多くが従来マクロファージ除去に用いられていた Sephadex G 10 カラムに付着性であることを明らかに

するとともに、G 10 通過 B 細胞を用いることによって抗 DNA 抗体産生に関し、T-B 細胞間相互作用を *in vitro* の系で検討することが可能であることを報告した⁹⁾。今回、こうした G 10 通過 B 細胞と T 細胞との混

表 3 Summary of the age-associated changes of splenic T and B cells involved in the production of class-specific anti-DNA antibodies in B/W F₁ mice

Class of anti-DNA antibody	Cell population	Age tested (months)		
		2	4	7
IgG	L3T4 ⁺ T helper	—	+	+
	Ly2 ⁺ T suppressor	+	n.t.*	—
	B	—	—	+
IgM	L3T4 ⁺ T helper	+	+	—
	Ly2 ⁺ T suppressor	—	n.t.	+
	B	+	+	+

* not tested.

合培養系を確立することにより次の諸点を明らかにできた。1) B/W F₁ マウスにおける IgG 抗 DNA 抗体産生には、L3T4⁺ T 細胞の補助効果が必要である。こうした補助機能をもつ L3T4⁺ T 細胞は、2 ヶ月齢には存在せず、4 ヶ月齢以後に出現する。2) IgG 抗 DNA 抗体産生には抑制的に作用する Ly2⁺ T 細胞も関与する。この機能は 2 ヶ月齢のマウスには認められるが、7 ヶ月齢にはほとんど認められない。3) IgM 抗 DNA 抗体産生にも L3T4⁺ 補助 T 細胞が関与する。こうした補助機能をもつ L3T4⁺ T 細胞は、若齢期 B/W F₁ マウスに認められるが、加齢とともにその機能は減弱する。4) IgM 抗 DNA 抗体産生には Ly2⁺ 抑制性 T 細胞も関与している。この Ly2⁺ T 細胞機能は若齢期には弱く、加齢にともなって増強する。5) IgM 抗 DNA 抗体産生を担う B 細胞は若齢期より存在するが、IgG 抗 DNA 抗体産生 B 細胞は 7 ヶ月齢をまわってはじめて出現する。以上の結果をまとめて表 3 に示した。従来から SLE にみられる抗 DNA 抗体を含む自己抗体産生の機序に、多クローン性 B 細胞活性化という現象の重要性が強調されていたが、今回の我々の研究成果により、少なくとも抗 DNA 抗体の産生に関する限り、こうした統御系、つまり補助あるいは抑制性 T 細胞の異常が重要な要因であることが示された。特に、B/W F₁ マウスにおいて SLE 病態の発現にともなって IgM クラスから IgG クラスの抗 DNA 抗体産生へとクラス変換が起こるという現象には、こうしたクラス特異的補助および抑制性 T 細胞の加齢にともなう変化が重要な要因となっていることが示唆された。ところで、図 1 および 5 に示したように、4 ヶ月齢 B/W F₁ マウスでは、*in vivo* と同様に *in vitro* においても IgG 抗 DNA 抗体の産生はみられない。しかし、既にこの時期の T 細胞中には、IgG 抗 DNA 抗体産生に対し補助機能をもった T 細胞が存在する。この事

実は、新たな IgG 抗 DNA 抗体産生 B 細胞の発生が補助 T 細胞の機能に由来していることを示唆するものかも知れない。実際に、B/W F₁ マウスの血中 IgG 抗 DNA 抗体価も 4 ヶ月齢以後になってはじめて上昇することが知られている。

SLE の発症には遺伝的素因が重要な役割を演じていることはよく知られている。B/W F₁ マウスを用いた遺伝学的解析より、抗 DNA 抗体産生に関しては親系である NZB マウスと NZW マウス由来の遺伝子が関与しており、しかもその一部は主要組織適合抗原系 (H-2) に連鎖していると考えられている^{8,15)}。最近広瀬ら¹⁶⁾は、B/W F₁ マウスの H-2 congenic mice を用いることによって、NZB マウス (H-2 d/d) と NZW マウス (H-2 z/z) 由来の H-2 がヘテロ接合体 (H-2 d/z) を形成することが、IgG 抗 DNA 抗体の産生や腎病態の発現に必要であることを発見した。この H-2 ヘテロ接合体の重要性は、現在、免疫応答遺伝子の産物である Ia 抗原の α 鎖と β 鎖が各々 NZB および NZW マウス由来である hybrid Ia 分子の効果を反映したものと考えられている。ところで、最近 NZW マウスでは T 細胞抗原受容体 β 鎖遺伝子 (TcR β) の C β 1, D β 2, J β 2 を含む領域の欠落していることが明らかとなった¹⁷⁾が、B/W F₁ × NZB 退交配マウスを用いた遺伝解析により、H-2 がヘテロ接合体でありかつ、TcR β が NZW マウス由来の欠落をもった F₁ 型であることが、IgG 抗 DNA 抗体産生にとって重要であることも証明されるに至っている¹⁸⁾。以上の事柄を考慮に入れると、B/W F₁ マウスの IgG 抗 DNA 抗体の産生には、B 細胞上の H-2 d/z ヘテロ接合体に由来する Ia 分子の異常と、IgG 抗 DNA 抗体産生に特異的な L3T4⁺ T 細胞上の抗原受容体との相互作用が重要な意味をもつと考えることも極めて妥当なことのようである¹⁹⁾。実際に、最近 B/W F₁ マウスに抗 Ia 抗

体²⁰⁾や抗 L3T4 抗体²¹⁾を投与することで劇的な延命効果をもたせ得ることも報告されている。

今回我々は、SLE 病態発現に深く係わると考えられる IgG 抗 DNA 抗体産生のみならず、IgM 抗 DNA 抗体産生も T 細胞に依存性であることを明らかにした。最近 Laskin ら²²⁾も、NZB マウスの IgM 抗 DNA 抗体産生に対する補助的 T 細胞の存在につき報告している。しかし、今回の実験からも明かなように、IgM 抗 DNA 抗体産生に関しては、LPS などの B 細胞活性化物質の存在により補助的 T 細胞の非存在化でも産生されるので、IgG 抗 DNA 抗体産生に比べその T 細胞依存性は弱く、その一部は多クローン性 B 細胞活性化により産生される可能性も考えられる²³⁾。

B/W F₁ マウスの抗 DNA 抗体産生に対し抑制的に作用する脾および胸腺細胞の存在については以前にも報告がある²⁴⁾が、今回我々は、こうした抑制機能は抗 DNA 抗体のクラスによって異なる Ly2⁺ T 細胞によって行なわれていることを明らかにした。こうなると、血中の抗 DNA 抗体の総量はクラス特異的補助および抑制性 T 細胞の機能的バランスの上に決定されることになるので、SLE のリンパ球機能の解析にはこの点への考慮が重要となってくる。いずれにせよ、今回の我々の研究は、自己免疫疾患のリンパ球機能の解析に、従来より広く行なわれているような自己免疫現象に無関係な抗原抗体反応

系を用いた研究がかならずしも適当でないことを示唆するものである。最近、抗 DNA 抗体を産生する能力をもった B 細胞クローンが、SLE のみならず正常個体にも存在していることが明らかにされている²⁵⁾。この事実は、ますます、こうした B 細胞クローンに対する T 細胞統御系の異常が SLE の発症に重要な役割を果たしていることを示唆するものであり、その異常の本質をさらに深く解析していくことの重要性を示しているものと考えられる。

V. 結 語

SLE モデルマウスである B/W F₁ マウスを用いて、IgG および IgM 抗 DNA 抗体産生の T 細胞統御系につき検討を加えた。その結果、IgG および IgM 抗 DNA 抗体の産生には、各々異なるクラス特異的 L3T4⁺ 補助 T 細胞と、Ly2⁺ 抑制性 T 細胞により統御されていることを明らかにした。こうした統御系 T 細胞機能は加齢にともなって変化し、その総体的なバランスの程度が血中の抗 DNA 抗体量に反映されていることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました順天堂大学医学部第 2 病理学教室白井俊一教授、同内科学教室広瀬俊一教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Krakauer, R.S., Waldmann, T.A., Strober, W.: Loss of suppressor T cells in adult NZB/NZW mice. *J. Exp. Med.*, 144: 662, 1976.
- 2) Cantor, H., McVay-Bourdreau, L., Hugenberger, J. et al.: Immunoregulatory circuits among T-cell sets. II. Physiologic role of feedback inhibition in vivo: absence in NZB mice. *J. Exp. Med.*, 147: 1116, 1978.
- 3) Theofilopoulos, A.N., Shawler, D.L., Eisenberg, R.A. et al.: Splenic immunoglobulin-secreting cells and their regulation in autoimmune mice. *J. Exp. Med.*, 151: 446, 1980.
- 4) Moutsopoulos, H.M., Boehm-Truitt, M., Kasson, S.S. et al.: Demonstration of activation of B lymphocytes in New Zealand Black mice at birth by an immunoradiometric assay for murine IgM. *J. Immunol.*, 119: 1639, 1977.
- 5) Izui, S., McConahey, P.J., Dixon, F.J.: Increased spontaneous polyclonal activation of B lymphocytes in mice with spontaneous autoimmune disease. *J. Immunol.*, 121: 2213, 1978.
- 6) Primi, D., Hammarstrom, L., Smith, C.I.E.: Genetic control of lymphocyte suppression. I. Lack of suppression in aged NZB mice is due to a B cell defect. *J. Immunol.*, 121: 2241, 1978.
- 7) Prud'homme, G.J., Balderas, R.S., Dixon, F. J. et al.: B cell dependence on and response to accessory signals in murine lupus strains. *J. Exp. Med.*, 157: 1815, 1983.
- 8) Kohno, A., Yoshida, H., Sekita, K. et al.: Genetic regulation of the class conversion of dsDNA-specific antibodies in (NZB×NZW) F₁ hybrid. *Immunogenetics*, 18: 513, 1983.
- 9) Sekigawa, I., Ishida, Y., Hirose, S. et al.: Cellular basis of in vitro anti-DNA antibody

- p>production : Evidence for T cell dependence of IgG-class anti-DNA antibody synthesis in the (NZB×NZW) F
- ₁
- hybrid. J. Immunol., 136 : 1247, 1986.
- 10) Roder, J.C., Bell, D.A., Singhal, S.K. : Loss of self-tolerance to single-stranded deoxyribonucleic acid (ssDNA) in vitro. J. Immunol., 121 : 29, 1978.
- 11) Terada, E., Okudaira, H., Ghoda, A. et al. : Age-associated changes of characteristics of autoantibody-forming cells in NZB/W mice. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 74 : 206, 1984.
- 12) Ly, I.A., Mishell, R.I. : Separation of mouse spleen cells by passage through columns of Sephadex G-10. J. Immunol. Methods, 5 : 239, 1974.
- 13) Wysocki, L.J., Sato, V.L. : "Panning" for lymphocytes: a method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 75 : 2844, 1978.
- 14) Eaton, R.B., Schneider, G., Schur, P.H. : Enzyme immunoassay for antibodies to native DNA. Specificity and quality of antibodies. Arthritis Rheum., 26 : 52, 1983.
- 15) Hirose, S., Nagasawa, R., Sekigawa, I. et al. : Enhancing effect of H-2-linked NZW gene(s) on the autoimmune traits of (NZB×NZW) F₁ mice. J. Exp. Med., 158 : 228, 1983.
- 16) Hirose, S., Ueda, G., Noguchi, K. et al. : Requirement of H-2 heterozygosity for autoimmunity in (NZB×NZW) F₁ hybrid mice. Eur. J. Immunol., 16 : 1631, 1986.
- 17) Kotzin, B.L., Barr, V.L., Palmer, E. : A large deletion within the T-cell receptor beta-chain gene complex in New Zealand White mice. Science, 229 : 167, 1985.
- 18) Yanagi, Y., Hirose, S., Nagasawa, R. et al. : Does the deletion within T cell receptor β -chain gene of NZB mice contribute to autoimmunity in (NZB×NZW) F₁ mice? Eur. J. Immunol., 16 : 1179, 1986.
- 19) 広瀬幸子 : New Zealand マウスにおける抗 DNA 抗体産生の遺伝学的, 細胞学的機構. Medical Immunology, in press.
- 20) Adelman, N.E., Walting, D.L., McDevitt, H. O. : Treatment of (NZB×NZW) F₁ disease with anti-I-A monoclonal antibodies. J. Exp. Med., 158 : 1350, 1983.
- 21) Wofsy, D., Seaman, W.E. : Successful treatment of autoimmunity in NZB/NZW F₁ mice with monoclonal antibody to L3T4. J. Exp. Med., 161 : 378, 1985.
- 22) Laskin, C.A., Haddad, G., Christine, A.S. : The regulatory role of NZB T lymphocytes in the production of anti-DNA antibodies in vitro. J. Immunol., 137 : 1867, 1986.
- 23) Sekigawa, I., Okada, T., Noguchi, K. et al. : Class-specific regulation of anti-DNA antibody synthesis and the age-associated changes in (NZB×NZW) F₁ hybrid mice. J. Immunol., 138 : 2890, 1987.
- 24) DeMoor, J.M., Bell, D.A., Singhal, S.K. : Regulation of an in vitro anti-DNA antibody response by thymocytes and T cells from NZB/W and normal mice. Cell. Immunol., 93 : 406, 1985.
- 25) Cairns, E., Block, J., Bell, D.A. : Anti-DNA autoantibody producing hybridomas of normal human lymphoid cell origins. J. Clin. Invest., 74 : 880, 1984.