

論文内容要旨

Blockade of invariant TCR-CD1d interaction specifically inhibits antibody production against blood group A carbohydrates

(多型性のない T 細胞レセプターと CD1d 分子のシグナル遮断は血液型 A 型抗原に対する抗体産生を特異的に抑制する)

Blood, 2013, in press.

主指導教員：大段 秀樹 教授

(応用生命科学部門 消化器・移植外科学)

副指導教員：越智 光夫 教授

(統合健康科学部門 整形外科学)

副指導教員：田代 裕尊 準教授

(応用生命科学部門 消化器・移植外科学)

田澤 宏文

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

(目的)

血液型不適合移植は安全な治療法として普及したが、抗体性拒絶反応は依然として深刻な問題である。当研究室では、血液型 A 抗原を認識する B 細胞が腹腔内などに偏在する $\text{IgM}^{\text{high}}\text{CD5}^+\text{B-1a}$ 細胞に属することをマウスモデルを用い解明した。一方、異種抗原である Gal 抗原や NeuGc 抗原を認識するのは $\text{IgM}^+\text{CD5}^-\text{B-1b}$ 細胞であり、*GalT*^{-/-}マウス (Gal deficient) や *CMAH*^{-/-}マウス (NeuGc deficient) において同定が可能である。本研究では、B-1a 細胞から抗血液型抗体が産生される過程、あるいは B-1b 細胞から抗 Gal 抗体や抗 NeuGc 抗体が産生される過程で、インバリアント NKT (iNKT) 細胞からのシグナルが如何に関わるか、マウスモデルを用い解明した。

(方法)

抗 A 抗体産生において T 細胞や iNKT 細胞との応答に関わるか否かを確認するため、C57BL/6J (B6)、BALB/c、nude、C2D (CD4⁺ T cell deficient)、*CD1d*^{-/-}、*J α 18*^{-/-}マウスをヒト A 型赤血球で免疫し、抗 A 型抗体産生を観察した。また、抗異種抗体産生における iNKT 細胞の関与を検討するため、*GalT*^{-/-}、*GalT*^{-/-} *CD1d*^{-/-}、*CMAH*^{-/-}、*CMAH*^{-/-} *CD1d*^{-/-}マウスを異種抗原の発現したラット胸腺細胞で免疫し、それぞれ抗 Gal 抗体、抗 NeuGc 抗体の産生を観察した。さらに、iNKT 細胞に表出するインバリアント T 細胞レセプター (iTTCR) と CD1d との結合を抗 CD1d ブロックング抗体で抑制することが、抗 A 抗体産生に如何に影響するかを BALB/c マウスを用いて検討した。加えて、A 型赤血球で免疫後の各種サイトカインの動態を観察した。また、O 型健常人の末梢血リンパ球を移入して作製したヒト化 NOG マウスを用い、抗 CD1d 抗体の抗体産生抑制効果を検討した。

(結果)

Nude マウスでは、A 型赤血球で免疫しても全く抗体を産生しないのに対し、C2D マウスでは著明な産生を認めた。iNKT 細胞が欠落した *CD1d*^{-/-}マウスや *J α 18*^{-/-}マウスでは、抗 A 型抗体の産生を認めなかった。すなわち、B-1a 細胞に由来する抗 A 型抗体の産生には、iNKT 細胞の存在が不可欠であることが証明された。一方で *GalT*^{-/-} *CD1d*^{-/-}マウスや *CMAH*^{-/-} *CD1d*^{-/-}マウスは、Gal あるいは NeuGc 抗原で免疫すると *GalT*^{-/-}や *CMAH*^{-/-}マウスと同等の抗 Gal 抗体、抗 NeuGc 抗体を産生した。すなわち、B-1b 細胞に由来する抗異種抗原の産生には iNKT 細胞の存在は必須ではないと言える。BALB/c マウスに、抗 CD1d 抗体を投与した後に A 型赤血球で免疫すると、コントロール抗体投与群と比較して抗 A-IgM、IgG 抗体ともに有意な減少を認めた。続いて BALB/c マウスを A 型赤血球で免疫し、血清中サイトカインを調べた結果、IL-5 のみが一過性に上昇したが、*CD1d*^{-/-}マウスでは認められなかった。また、抗 CD1d 抗体投与下の BALB/c マウスを A 型赤血球で免疫しても、IL-5 の上昇は認めなかった。さらに、抗 IL-5 抗体投与下の BALB/c マウスを A 型赤血球で免疫したところ、抗 A 型抗体の産生は有意に減少した。このモデルにおける IL-5 の産生細胞は、iNKT 細胞であることが確認された。すなわち、A 型糖鎖抗原が CD1d と iTTCR

の結合を介して iNKT 細胞を活性化し、iNKT 細胞からの IL-5 による一過性刺激が B-1a 細胞から抗 A 型抗体産生への分化を促す可能性が示唆された。さらに、抗 CD1d 抗体が抗 A 型抗体産生の抑制薬として作用する可能性が示された。

そこで、抗 CD1d 抗体の効果をヒト化マウスにより検討した。O 型健常人の末梢血リンパ球を NOG マウスへ移入し、マウス内で O 型健常人の免疫環境を作製した（一人分のリンパ球を 2 頭へ移入）。そのマウスの一頭に抗 CD1d 抗体、もう一頭にコントロール抗体を投与し、それぞれヒト A 型赤血球で免疫した。抗 A-IgM、IgG 抗体価は、抗 CD1d 抗体の投与により有意に減少した。

（結語）

抗 CD1d 抗体は、B-1a 細胞からの抗血液型抗体の産生を選択的に抑制することが示唆された。血液型不適合移植における現行の免疫抑制プロトコールでは、抗 CD20 抗体により汎 B 細胞を除去するが、その過程で重症感染症の危険を伴う。抗 CD1d 抗体は、特異性の高い新たな免疫抑制剤になり得る。