

全身性エリテマトーデスの免疫異常 とその成因に関する研究

第 2 編

サブプレッサーT細胞機能に関する研究

岡山大学医学部第三内科学教室 (主任：大藤眞教授)

中 村 善 一

(昭和56年2月13日受稿)

Key words: suppressor T cell function
PWM-induced Ig secretion
polyclonal B cell activation
systemic lupus erythematosus

I. 緒 言

免疫応答は、さまざまな免疫適格細胞の垂集団による一連の複雑な細胞間相互作用により調節されている。生体内ではこの細胞間相互作用は遺伝的に制御されており、suppressorおよびhelper T細胞の巧みなバランスにより、体液性免疫応答ならびに細胞性免疫応答が営まれている。

polyclonal B cell activatorの1つであるpokeweed mitogen (PWM) により、ヒトB細胞は抗体産生細胞に分化し細胞内に免疫グロブリン (Ig) を保有するようになり、最終的には上清中に Ig を分泌するようになる¹⁾²⁾。この反応には T-B 細胞間の相互作用が必要であり³⁾、Waldmann ら¹⁾はこの実験系を用いてヒトにも suppressor T 細胞が存在することをはじめて報告した。その後、生体内での suppressor 機構をどの程度反映しているか不明であるが、種々の suppressor 機構の存在が *in vitro* で証明されている。これらの中には major histocompatibility complex (MHC) バリアーを越えて働くものが多いか⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾、HLA-D locus の一致を必要とする suppressor T 細胞の存在も報告されている⁹⁾¹⁰⁾。

代表的な自己免疫疾患の1つである全身性エリテマトーデス (SLE) では、第1編¹¹⁾で述べ

た如く、多彩な自己抗体の産生と多クローン性高ガンマグロブリン血症を伴い、抗体産生系の機能亢進が認められる。この免疫異常は *in vitro* でも認められ、SLE 患者の末梢単核球は培養上清中に多量の Ig を無刺激にて分泌し^{12),13)}、PWMに対する反応性はかえって失われている¹²⁾¹⁴⁾。

同様のB細胞の機能亢進は、ヒト SLE の疾患モデルである NZB/W F₁, BXSB, MRL/ℓ マウスでも生後早期から認められている¹⁵⁾。BXSB および MRL/ℓ 系マウスでは一般に suppressor 活性は正常であるが¹⁵⁾、NZB/W F₁ マウスでは加齢とともに suppressor T 細胞の機能異常が出現するという報告¹⁶⁾もあり、T 細胞系の異常を自己免疫の原因として重視する作業仮説¹⁷⁾もあるが、これに反駁しB細胞自体の異常、すなわち *in vivo* での polyclonal activation を指摘する報告が最近では多い¹⁵⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。Primi ら²⁰⁾は、B細胞が suppressor 情報を正常に受けることができないことが原因であると報告している。

これまで、SLE の concanavalin A (ConA)-induced suppressor 細胞の、リンパ球混合培養 (MLC) で観察される同種抗原によるT細胞の幼若化反応²¹⁾²²⁾²³⁾および Con A などの非特異的 mitogen によるT細胞の幼若化反応²³⁾に対する抑制機能は低下していると報告されており、抗

T細胞抗体をその要因として挙げている報告がみられる²⁴⁾。しかし、この suppressor 細胞は assay 方法の違いにより多様性が認められ²⁵⁾、その前駆細胞も異なると考えられ²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾、しかも PWM 刺激 Ig 産生系での検索は乏しい。さらに、ヒト SLE でも自己免疫系マウスにみられる様な B 細胞レベルでの異常が報告されており¹²⁾¹³⁾、SLE の suppressor 機能を測定する場合には、SLE の B 細胞の Ig 産生機能に対する抑制効果のみならず、正常ヒト B 細胞の Ig 産生機能に対する抑制効果についても検討する必要がある。

本編では、Con A-induced suppressor 細胞と preculture-induced suppressor 細胞²⁹⁾³⁰⁾の機能を同時に測定することにより、SLE または正常ヒトの末梢単核球による *in vitro* での Ig 産生に及ぼす SLE T 細胞の影響を調べ、SLE でみられる免疫異常の解析を試みた。さらに、急性期 SLE に高率に出現する抗 T 細胞抗体が、suppressor T 細胞に及ぼす影響をあわせて検討し、SLE の免疫異常の成因に関し考察を加えた。

II. 対象並びに方法

1. 対象

アメリカリウマチ協会の診断予備基準³¹⁾をみたし、当科で SLE と診断された入院患者、女性 7 例、男性 4 例の計 11 名を対象とした。2 例の未治療例を除き、全例 40mg/日ないし 10mg/日の prednisolone の投与を受けており、うち 1 例は azathioprine 50mg/日を併用していた。罹病期間および疾患活動性はさまざまであるが、低補体価 (CH50 < 20)、抗 ds-DNA 抗体価高値 (ds-DNA binding activity > 10%) を示し、臨床的に活動期にあると考えられた症例は 7 例であった。

対照として正常人 10 例について抑制機能を測定した。

2. 末梢単核球の分離

末梢静脈より採血し、ガラスビーズによりフィブリンおよび血小板を除去した。培養液 RPMI-1640 にて 2~3 倍に希釈後、Ficoll-Conray 液に静かに重層し 1550r.p.m. (400G) で 30 分遠沈後、境界面に浮遊する単核球層を取り出した。

培養液にて 3 回洗浄し末梢単核球浮遊液とした。

3. suppressor 細胞の誘導

Schwartz らの方法²⁹⁾に準じ、suppressor 細胞を誘導した。すなわち、RPMI-1640 に非働化牛胎児血清 (FCS) と penicillin G (PC-G) 100 万単位/ℓ および streptomycin (SM) 100mg/ℓ を含む培養液を用いて、生細胞数を 1×10^6 /ml に調製して 2 本の培養試験管 (Falcon 社製 # 3033) に 5 ml ずつ分注したのち、一方に ConA (SIGMA 社製) 50μg を添加した。37°C、5% CO₂ incubator で 48 時間培養し、Con A-induced suppressor 細胞および preculture-induced suppressor 細胞を誘導した。培養終了後、0.1 M α-Methyl-D-Mannoside (α-MMS, SIGMA 社製, Grade III) を含む RPMI-1640 にて 3 回洗浄後、さらに RPMI-1640 で一回洗浄して、PWM 刺激 Ig 産生系への Con A の混入を避けた。

4. Ig 産生用単核球培養

培養液は、あらかじめ *in vitro* Ig 産生に対して刺激作用の少ないことを確めた FCS を 10% と、PC-G 100 万単位/ℓ および SM 100mg/ℓ を含む RPMI-1640 を用いた。健康正常人より末梢単核球を新たに分離し、血清中の Ig の混入を避けるため RPMI-1640 にて 5 回洗浄した。生細胞数を 1×10^6 /ml に調製して上記培養液に再浮遊し responder 細胞とした。

Con A 刺激細胞および preculture 細胞も同様に生細胞数を 1×10^6 /ml に調製しこの培養液に再浮遊した。

細胞浮遊液 1 ml を培養試験管に分注し、PWM (GIBCO 製) 10μl/ml を添加後、5% CO₂ incubator 中で 37°C で 9 日間培養した。培養終了後、2,000r.p.m. で 10 分間遠沈し培養上清を村田式ピペットにて採取し -20°C で保存した。

5. 培養上清中の Ig 量の測定

矢野らの報告³²⁾の如く、二抗体法 radioimmunoassay (RIA) にて培養上清中の IgG, IgA および IgM を測定した。すなわち、各種骨髄腫およびマクログロブリン血症患者の血清から各種 Ig を精製し、Chloramine T 法にて¹²⁵I 標識 Ig を作製した。標準曲線用の精製 Ig または各培養上清 0.1 ml と 1/1,000~1/2,500 の正常ウサギ血清を含む 1% BSA-PBS にて、1/2,000

に希釈した抗各種H鎖ウサギ血清0.1mlとを室温にて90分間反応させ、次に約20,000cpm/0.1ml (Ig量として1ng以下)となる様に希釈した各種標識Ig液0.1mlを加え、さらに90分間反応させた。次いで1% BSA-PBSにて1/100~1/200に希釈した抗ウサギγ-globulin 山羊血清0.1mlを添加し、一晚4℃にて反応させた。反応後3,000r.p.m.にて30分遠沈し上清を除去し、沈渣中の放射能活性を測定して標準曲線から上清1ml中に含まれるIg量を求めた。

6. suppressor 活性の測定

suppressor活性は、responder細胞とCon A刺激細胞あるいは preculture細胞を co-cultureした時のIg産生に対する抑制効果をみることににより測定した。この両細胞浮遊液を合計1mlとなる様に、1対1、4対1あるいは他の割合で混合し dose response を観察した。suppressor活性は、1対1 co-culture時のIg産生量から Lipsky らの方法³⁰⁾により次の式を用いて % inhibition を算出し suppressor 活性とした。

$$\% \text{ inhibition} = \left[1 - \frac{\text{Observed Ig secretion}}{\text{Predicted Ig secretion}} \right] \times 100$$

$$\left[\frac{(\text{ng/ml})}{(\text{ng/ml})} \right]$$

この式で observed Ig secretion は、1対1 co-culture 時の Ig 産生量実測値を表わす、predicted Ig secretion は、responder 細胞のみから産生される Ig 量と Con A 刺激細胞のみあるいは preculture 細胞のみから産生される Ig 量の総和の平均である。

7. 抗T細胞抗体の Con A-induced suppressor 細胞に及ぼす影響

正常ヒトより採取した末梢単核球から羊赤血球ロゼット法にて第1編¹¹⁾で述べた如くT細胞分画を分離し、生細胞数を4~5×10⁶/mlに調製して培養液 RPMI-1640 に浮遊した。この細胞浮遊液1mlと、T細胞に対して40%前後のcytotoxicityを示す様に希釈した、抗T細胞抗体価の高いSLE血清1mlとともに4℃にて30分間反応させ、さらにウサギ新鮮血清0.5mlを補体源として加えて15℃で3時間 incubateして、抗T細胞抗体により強い親和性を有する細胞群

を部分的に障害せしめた。対照は健康正常人血清を用い、同様にウサギ血清を加えて incubate した。反応終了後、RPMI-1640にて3回洗浄し生細胞数を1×10⁶/mlに調製して培養液に浮遊した。Con A で suppressor 細胞を誘導するには adherent cell が必要であるため³³⁾、次の操作により反応系に adherent cell を加えた。すなわち、non-T細胞分画をRPMI-1640で3回洗浄後、PC-G, SM, および10%のFCSを含むRPMI-1640に浮遊し、培養試験管に等量ずつ分注して37℃で1時間5% CO₂ incubator中で incubate した。incubate 後、pipettingと洗浄を繰り返し行い、B細胞を含む non-adherent cell を除去し、adherent cell のみを試験管壁に付着せしめた。この試験管に上記のSLE血清と補体で処理したT細胞浮遊液を分注し、Con A 10μg/mlを添加して suppressor 細胞を誘導した。誘導後前述のように、αMMS で洗浄し生細胞数を1×10⁶/mlに調製したのち、同一人より新たに分離した末梢単核球による PWM 刺激 Ig 産生培養系に0.2あるいは0.5ml加えて、正常ヒト血清で処理した場合の抑制効果と比較することにより、抗T細胞抗体が suppressor 細胞の誘導に及ぼす影響を観察した。

III. 結 果

1. suppressor 細胞の PWM 刺激 Ig 産生培養への影響

Fig. 1 に示すように、正常ヒトの Con A-induced suppressor 細胞および preculture-induced suppressor 細胞は、自己のみならず同種の単核球による PWM 刺激 Ig 産生を抑制した。この両 suppressor 細胞による Ig 産生の抑制は、加えた suppressor 細胞の濃度に依存性が認められた。Con A-induced suppressor細胞は preculture-induced suppressor 細胞より強い抑制能を有し、responder 細胞の10%の濃度でも強い抑制効果が認められた。

さらに、興味深いことは、Fig. 2 に示すように SLE 患者の Con A-induced suppressor 細胞および preculture-induced suppressor 細胞も正常同種単核球による Ig 産生に対し suppressor 活性が認められた。正常ヒトでは Con A

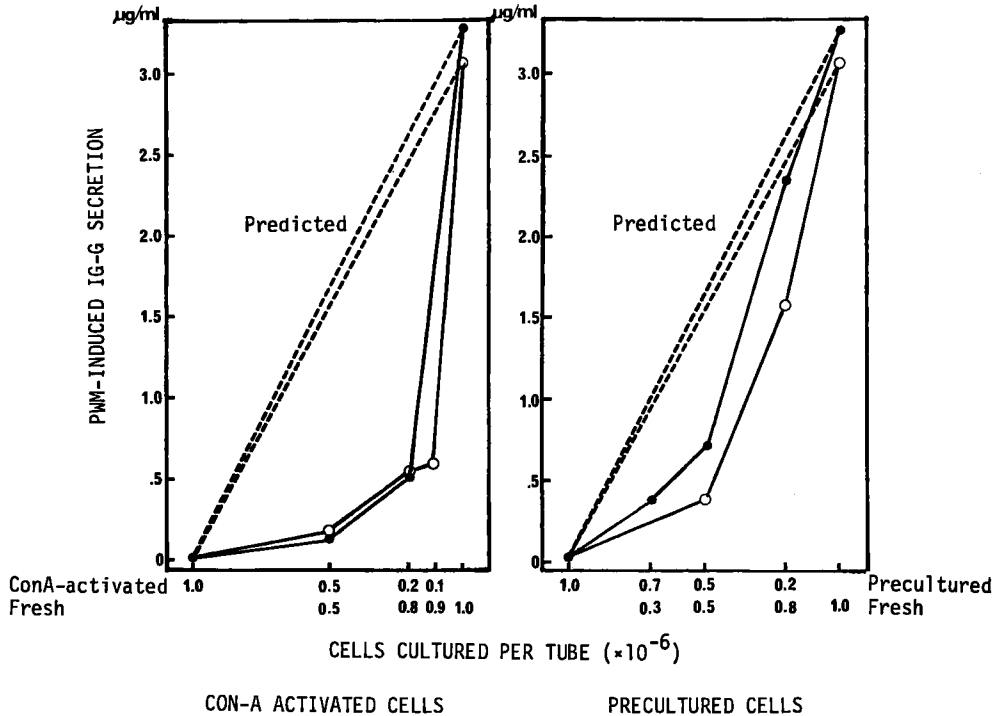


Fig. 1 Effect of co-culturing Con A-activated or precultured cells from normal individuals with fresh autologous(●) or allogeneic(O) peripheral mononuclear cells on the PWM-induced immunoglobulin secretion.

刺激細胞のみあるいは preculture 細胞のみを PWM 添加後さらに培養しても、自己の B 細胞に対する強い suppressor 活性のため産生される Ig 量は 10ng/ml 以下となった。しかし、SLE ではこれら Con A 添加あるいは非添加で preculture された細胞を PWM 刺激下で培養すると、Ig 産生は抑制されるにもかかわらずなお検出可能であり、これらの suppressor 細胞の自己 B 細胞に対する suppressor 活性の低下を示していた。

2. 正常ヒトの Con A-induced suppressor 細胞

responder 細胞の PWM 刺激 Ig 産生量には個体差が認められた。したがって suppressor 細胞との co-culture 時の Ig 産生量で suppressor 活性を相互に比較することはできない。そこで、responder 細胞のみによる Ig 産生量を 100% とし、Con A 刺激細胞あるいは preculture 細胞との co-culture での Ig 産生量を % secretion で表わした。Fig. 3 は正常ヒト 10 例

の Con A 刺激細胞と正常同種単核球との co-culture の結果を示している。10 例とも responder 細胞の PWM 刺激 Ig 産生を強く抑制した。Ig クラス別にみると、IgG および IgA 産生に対する抑制はほぼ似たパターンを示すのに対し、IgM 産生に対してはさらに強い抑制が認められた。この抑制効果には、加えた suppressor 細胞の濃度に依存性が認められたが、responder 細胞の 20% の量では suppressor 活性にかなりのひらきが認められたのに対し、1 対 1 co-culture ではほぼ同程度の強い抑制効果がみられた。

Con A 刺激細胞のみを PWM 存在下でさらに 9 日間培養しても、IgA および IgM の 1 例を除いて全例で Ig 産生は全く抑制されてしまった。このことは、前述の如く誘導された suppressor 細胞が自己の B 細胞に対しても強い抑制効果を有するためと考えられた。

3. SLE の Con A-induced suppressor 細胞

Fig. 4 に SLE 患者の Con A 刺激細胞と正常

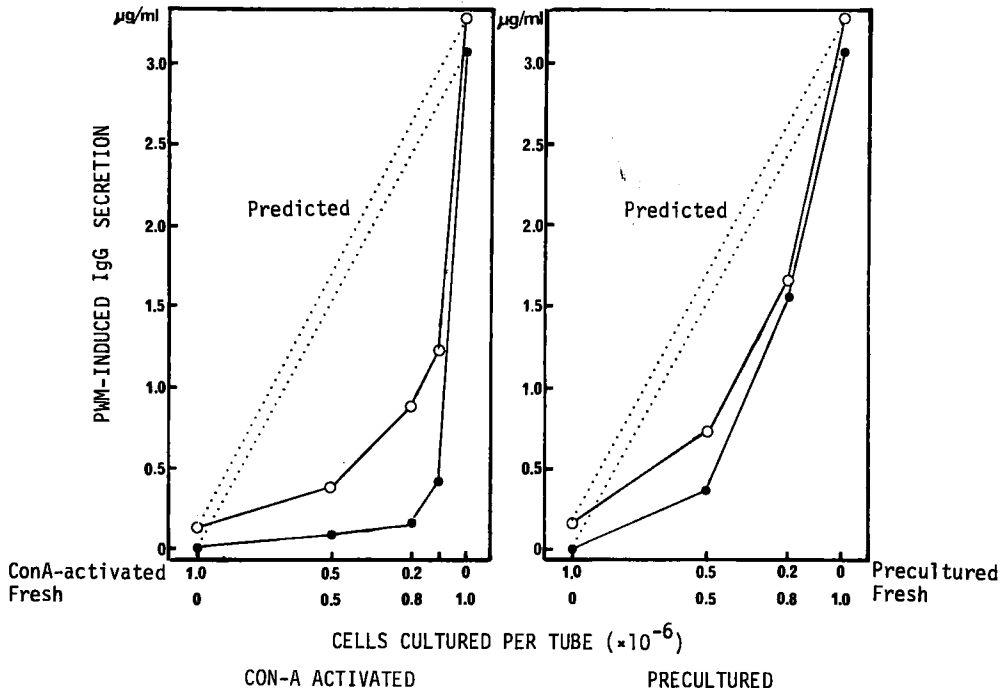


Fig. 2 Typical patterns of suppression by co-culturing Con A-activated cells or precultured cells from a SLE patient (○) or a normal individual (●) with normal fresh allogeneic peripheral mononuclear cells in the PWM-induced immunoglobulin secretion.

同種単核球との co-culture の結果を示したが、最も特徴的なことは、SLE では Con A 刺激細胞のみを PWM 在下でさらに培養すると、正常ヒトの場合と異なり、依然として Ig 産生の認められる症例が存在することである。すなわち、自己 B 細胞に対する抑制効果の減弱が認められた。一方、正常同種単核球との 1 対 1 co-culture でも % secretion が正常ヒトの場合より一見高い症例が認められる。しかしこれは、con A 刺激細胞中の B 細胞による Ig 産生が加わるためであり、この場合 predicted Ig secretion も当然高くなるので、suppressor 活性が低下しているとは言えない。

4. Con A-induced suppressor 細胞の活性

正常ヒト 10 例および SLE 患者 11 例の Con A-induced suppressor 細胞の、同種単核球による PWM 刺激 Ig 産生に対する suppressor 活性を Fig. 5 に示した。正常ヒトでは、IgG 産生に対して 89.1±13.1%、IgA 産生に対して 90.3±

11.6%、IgM 産生に対して 98.1±2.2 % と非常に強い suppressor 活性が認められた。

一方、SLE でも IgG、IgA および IgM 産生に対してそれぞれ 82.6±20.6%、93.2±7.0 % および 95.5±12.2% と正常ヒトとはほぼ同様に強い suppressor 活性が認められた。すなわち、SLE の末梢単核球を Con A で刺激することにより、正常ヒト末梢単核球による PWM 刺激 Ig 産生を抑制する suppressor 細胞を誘導することができた。

5. 正常ヒトの preculture 細胞

正常ヒトの末梢単核球を *in vitro* で 48 時間 preculture すると、Fig. 6 の如く PWM に対する反応性は失われ、IgG および IgM の 1 例を除いて全例で Ig 産生はみられなかった。この preculture 細胞の同種単核球に対する抑制効果を co-culture で観察すると、4 対 1 co-culture では一部で逆に増強効果が認められたが、1 対 1 co-culture ではほぼ全例で同種単核球による

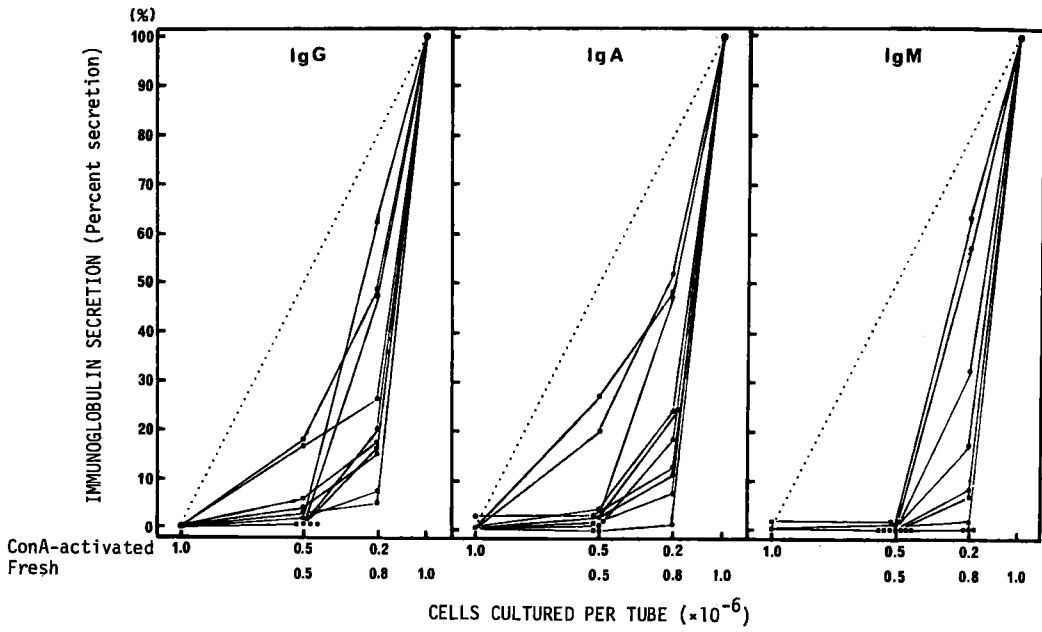


Fig. 3 Effect of co-culturing Con A-activated cells from normal individuals with normal allogeneic peripheral mononuclear cells on the PWM-induced immunoglobulin secretion.

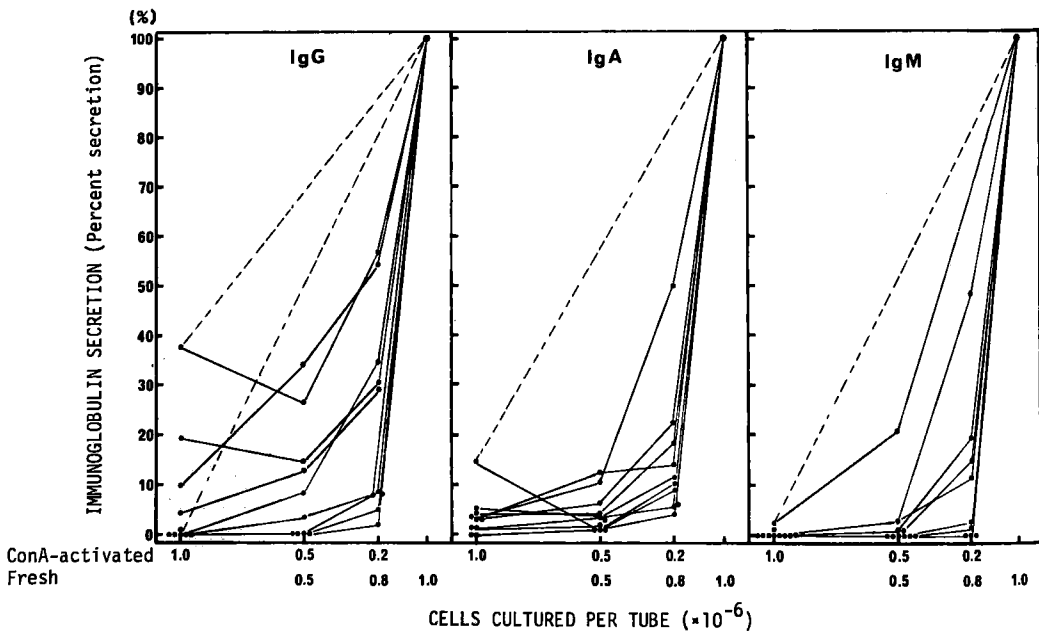


Fig. 4 Effect of co-culturing Con A-activated cells from SLE patients with normal allogeneic mononuclear cells on the PWM-induced immunoglobulin secretion.

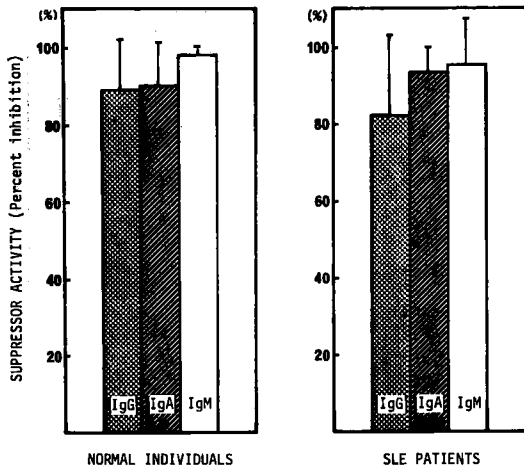


Fig. 5 Con A-induced suppressor activities of peripheral lymphocytes from normal individuals and SLE patients in the PWM-induced immunoglobulin secretion by normal allogeneic peripheral mononuclear cells

Ig 産生を抑制した。

6. SLE の preculture 細胞

SLE 患者の末梢単核球を *in vitro* で48時間 preculture しても, Fig. 7の如くなお検出可能な Ig が産生され, Con A 刺激細胞の場合と同様, 自己B 細胞に対する抑制効果の減弱が示唆された。しかし, 正常同種単核球と co-culture すると1例を除いて抑制能を示した。また, observed Ig secretion の高い例が認められるが, これも Con A 刺激細胞との co-culture の場合と同じ理由によると考えられる。

7. preculture-induced suppressor 細胞の活性

正常ヒト (n=10) では, 1対1の co-culture で IgG 産生に対して $48.0 \pm 27.8\%$, IgA 産生に対して $56.8 \pm 20.1\%$, IgM 産生に対して $60.4 \pm 35.2\%$ と幅広い suppressor 活性が認められた。一方, SLE (n=7) では IgG, IgA および IgM 産生に対してそれぞれ $39.8 \pm 40.1\%$, $39.5 \pm 29.4\%$ および $73.7 \pm 26.6\%$ の suppressor 活性が認められた (Fig. 8)。IgG および IgA 産生に対する suppressor 活性は, 正常ヒトよ

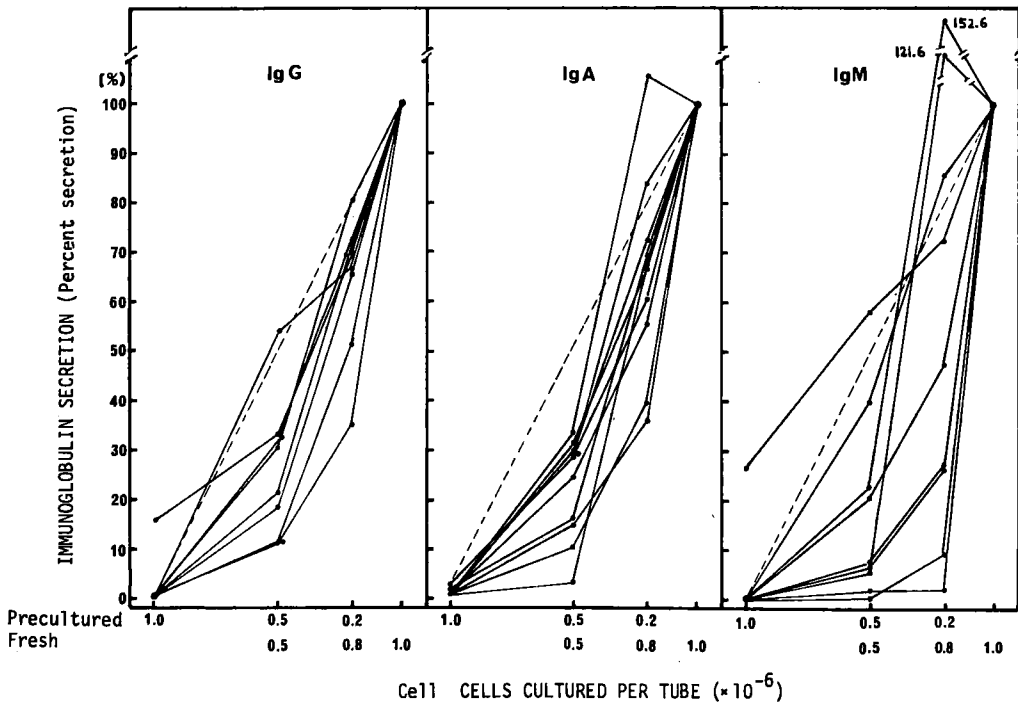


Fig. 6 Effect of co-culturing precultured normal peripheral mononuclear cells with normal allogeneic peripheral mononuclear cells on the PWM-induced immunoglobulin secretion.

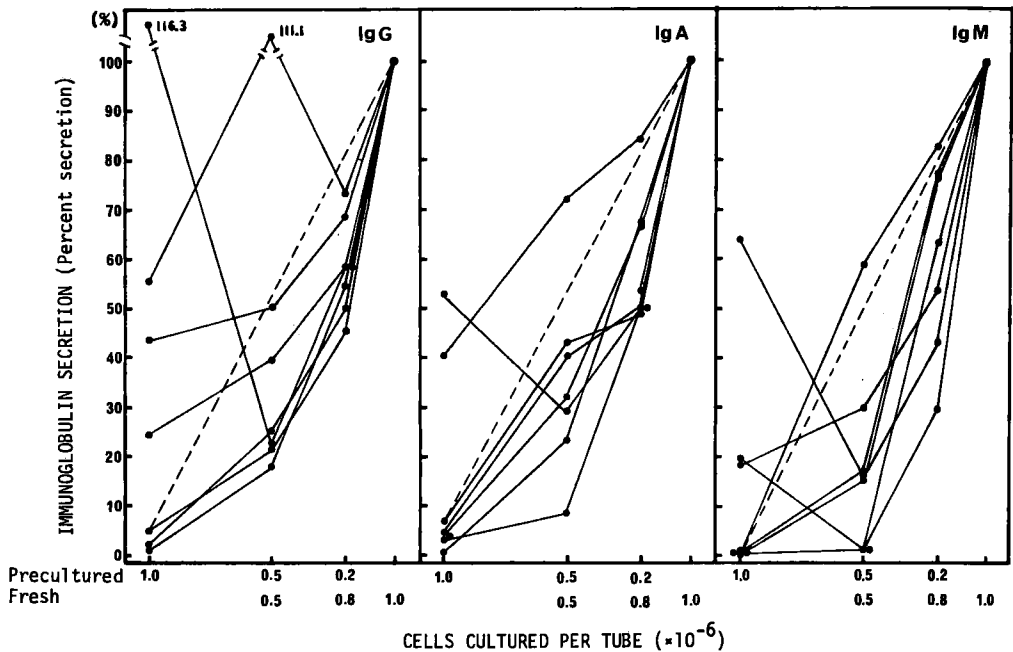


Fig. 7 Effect of co-culturing precultured SLE peripheral mononuclear cells with normal allogeneic peripheral mononuclear cells on the PWM-induced immunoglobulin secretion.

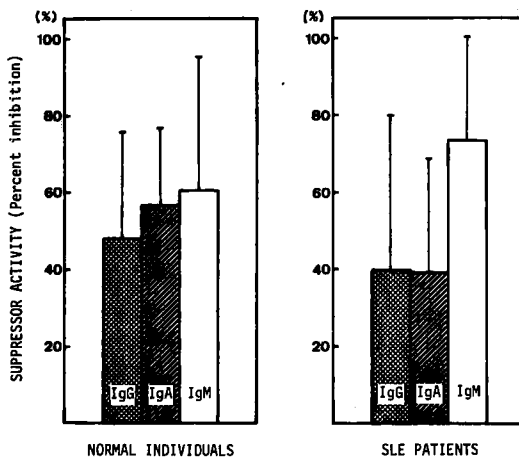


Fig. 8 Suppressor activities of precultured lymphocytes from normal individuals and SLE patients in the PWM-induced immunoglobulin secretion by normal allogeneic peripheral mononuclear cells.

りやや低い統計学的には有意差は認められない。すなわち、SLEの単核球を *in vitro* で48時間培養することにより、正常ヒト単核球によるPWM刺激Ig産生を抑制する suppressor 細

胞をほぼ全例で誘導することができた。

8. 自己B細胞に対する抑制効果

前述のように、Con A刺激細胞および preculture細胞を洗浄後、PWMを添加してさらに9日間培養しても正常ヒトではIgはほとんど産生されない。すなわち、両 suppressor 細胞とも自己B細胞には強い抑制能を有する (Fig. 3, 6)。

一方、SLEではCon A刺激細胞および preculture細胞ともに依然としてIgが産生される例が認められた (Fig. 4, 7)。すなわち、Fig. 9に示すように、偏差が大きいため統計学的にはCon A刺激細胞によるIgA産生のみ有意であったが、正常ヒトと比較すると、SLEでは自己B細胞に対する抑制効果は低下していると考えられた。

9. 両 suppressor 活性の比較と疾患活動性との関連

Con A-induced suppressor 細胞および preculture-induced suppressor 細胞のIgAに対する suppressor 活性を Fig. 10に示した。preculture-induced suppressor 活性の1例を除き、SLEの同種単核球のIg産生に対する suppre-

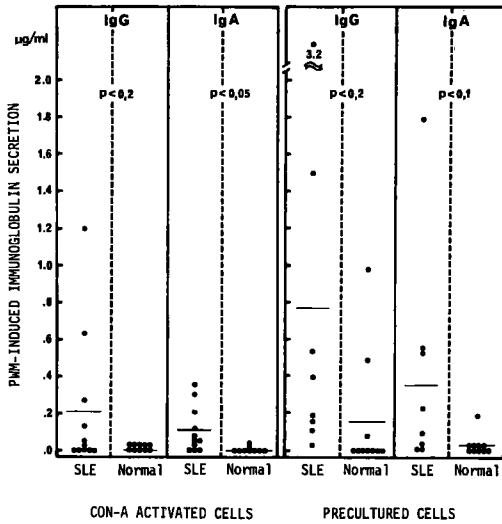


Fig. 9 Impaired suppressor activities of Con A-activated and precultured peripheral lymphocytes from SLE patients in the PWM-induced immunoglobulin secretion by autologous peripheral mononuclear cells.

Con A-activated or precultured peripheral mononuclear cells were further incubated for 9 days in the presence of PWM.

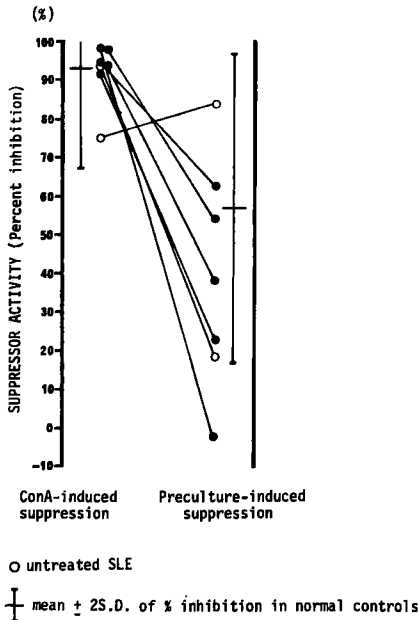


Fig. 10 Reversion of two different suppressor systems in patients with SLE.

ssor 活性は、正常ヒトのその mean \pm 2S. D. に含まれた。正常ヒトでは、全例 Con A-induced suppressor 活性の方が preculture-induced suppressor 活性よりも強かった。SLEでも1例を除き Con A-induced suppressor 細胞の方が強い suppressor 活性を示した。

SLE においては、両 suppressor 細胞とも疾患活動性、prednisolone 投与量および他の検査成績との関連は認められなかった。特に、抗R-NP 抗体および抗T細胞抗体の有無とも関係はみられなかった。

10. 抗T細胞抗体の Con A-induced suppressor 細胞に及ぼす影響

4例の SLE 血清でT細胞を部分的に障害しこのりのT細胞を Con A で刺激して suppressor 細胞を誘導し、PWM刺激 Ig 産生系での抑制効果を観察することにより、SLEに出現する抗T細胞抗体がはたして suppressor 前駆細胞を撰択的に障害するかどうかを検討した。

正常ヒト血清とウサギ補体で処理した対照は、T細胞はほとんど障害されず Con A 添加により suppressor 細胞が誘導され、この細胞を 0.2あるいは0.5ml添加すると IgG 産生量は非添加時のそれぞれ26.5%および16.6%と強く抑制された (Fig. 11)。

一方、4例の SLE 血清とウサギ補体で処理することにより、37~54%のT細胞が障害されたが、このりの生細胞に Con A を添加して培養した場合、やや suppressor 活性が低下する例も認められたが、同等あるいはそれ以上の活性を示す例も存在した。いずれにしろ、Con A 添加により suppressor 細胞は誘導され、また、SLE 血清処理によるT細胞の障害の程度とその時の suppressor 活性とも関連は認められず、SLE 血清中の抗T細胞抗体が、Con A-induced suppressor 細胞の前駆細胞を撰択的に障害するとは考えられなかった。

IV. 考 按

Con A-induced suppressor細胞は、自己のみならず同種の末梢単核球によるPWM刺激 Ig産生を抑制する²⁸⁾²⁹⁾³⁴⁾。この抑制作用は細胞障害によるものではないと考えられており²⁵⁾³⁵⁾、可溶

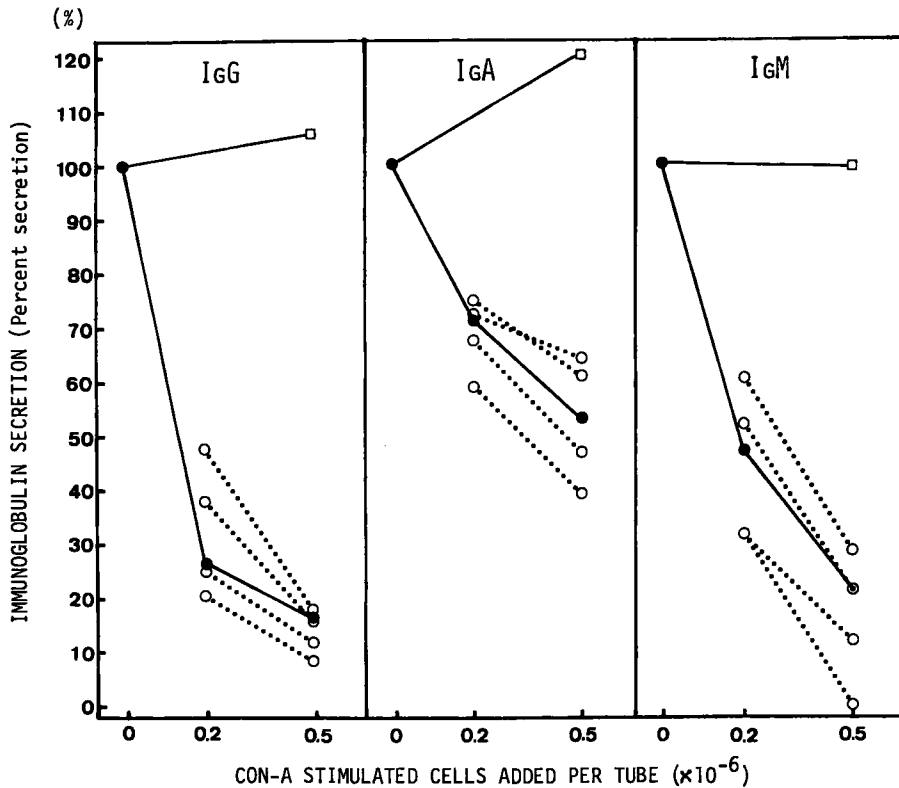


Fig. 11 Effect of anti-T cell antibody on the induction of suppressor cells by Con A stimulation.

Normal peripheral T cells were partially killed by anti-T cell antibody in sera from patients with SLE and rabbit complement, then residual living T cells were stimulated by Con A. These Con A-stimulated cells were added to the autologous PWM-induced Ig secreting system (○-----○). Control cells were incubated with normal allogeneic serum and rabbit complement, then cultured with (●) or without (□) Con A.

性因子の産生によるという報告³⁵⁾もある。もちろんこの抑制効果は PWM 刺激 Ig 産生系への Con A の混入による, responder 細胞中の suppressor 前駆細胞の活性化によるものではない。ちなみに, Con A の混入の有無を検索するために, Con A で 1 時間だけ incubate したのちに α MMS で同様に洗浄し PWM で刺激しても, Con A 非添加の場合と Ig 産生量に差は認められなかった。

ヒト末梢単核球を 24 時間以上 preculture すると, PWM 刺激 Ig 産生を抑制する suppressor T 細胞が出現する²⁹⁾³⁰⁾。48 時間の preculture ではこの suppressor T 細胞は, 自己の B 細胞に対しては強い抑制効果を発揮するが, 同種 B 細胞に対しては抑制的ないし増殖的に働く

という報告²⁹⁾もあり, 実際今回の実験でも少数例では, helper 作用が認められた。より十分に suppressor 細胞を誘導するためには 3 日以上 preculture が必要であるとされているが³⁰⁾, 今回の実験では同時に採取した細胞の Con A-induced suppressor 活性と preculture-induced suppressor 活性を比較するため 48 時間の preculture で誘導した。この preculture-induced suppressor 細胞も MHC バリアーを越えて働くが²⁹⁾³⁰⁾, 細胞障害によるものではないと考えられている³⁰⁾。

SLE ではこの両 suppressor 細胞とも正常ヒトの場合と同様, 正常同種末梢単核球による PWM 刺激 Ig 産生を抑制した。すなわち, SLE の末梢単核球を Con A 添加あるいは非添加の

もとに *in vitro* で培養することにより、正常ヒトと同様に PWM 刺激 Ig 産生を抑制する suppressor 細胞を誘導することができた。Fauci ら¹⁴⁾は、PWM-induced plaque-forming cell (PFC) assay で SLE の Con A-induced suppressor 細胞の正常同種単核球に対する suppressor 活性を検索し、統計学的に有意ではないが、SLE では正常同種単核球による Ig 産生に対する suppressor 活性が低下していると報告している。しかし、彼らは suppressor 活性を 1 対 1 co-culture 時の Ig 産生細胞数で比較しており、これでは前述のように SLE の異常な B 細胞による Ig 産生も加わるため、正確には % inhibition で suppressor 活性を評価すべきであろう。

しかし、SLE の両 suppressor 細胞は自己の B 細胞による Ig 産生を十分に抑制することはできなかった。Ruiz-Arguelles ら³⁶⁾は、SLE 患者から新たに採取した自己の末梢単核球のみを responder 細胞として用い、PWM 刺激 Ig 産生に対するこれら両 suppressor 活性を今回とほぼ同様の方法で測定し、検索した SLE 患者の 68% に両 suppressor 活性の低下を認めたため、SLE では suppressor 細胞の誘導が障害されていると結論している。しかし、彼らは SLE B 細胞が suppressor 細胞に不応性であることを考慮しなかったため、正常ヒト B 細胞に対する suppressor 活性をみておらずこのような結論に達したのであろう。

一方、MLC^{21),22),23)}および Con A²³⁾による T 細胞の幼若化反応に対する Con A-induced suppressor 細胞の機能低下が報告されており、さらに SLE の抗 T 細胞抗体が MLC に対する Con A-induced suppressor 細胞の前駆細胞を他の T 細胞 subset よりもより強く障害するという成績^{24),37)}から、抗 T 細胞抗体による suppressor T 細胞の撰択的な障害を SLE にみられる免疫異常の成因として推定している報告もみられる。しかし、T 細胞の幼若化反応の系で suppressor 活性を測定する方法は最近欠点が指摘されており^{38),39)}、また、今回の実験では SLE の抗 T 細胞抗体は、かならずしも PWM 刺激 Ig 産生を抑制する Con A-induced suppressor 細

胞の前駆細胞に対して特異的に親和性があると考えられなかった。

Herscovitz ら²⁶⁾も、SLE の抗 T 細胞抗体で正常ヒト T 細胞を処理した場合、Con A-induced suppressor 活性は MLC に対しては有意に低下が認められるが、PWM 刺激 Ig 産生に対しては、正常ヒト血清で incubate した場合と有意差はないとしている。

SLE では、末梢 T 細胞の減少あるいは IgG Fc リセプター陽性細胞の減少¹⁴⁾など、確かに T 細胞系の異常が認められ、病態をより複雑にしていると考えられ、この異常に抗 T 細胞抗体が関与していることは否定できない。しかし、Con A-induced suppressor 活性および preculture-induced suppressor 活性は正常であり抗 T 細胞抗体の影響も否定的であった。したがって、*in vitro* での抗体産生異常はむしろ SLE の B 細胞自体に原因があると考えられ、*in vivo* ですでに何らかの原因により B 細胞が preactivated されており、もはや suppressor 細胞の情報に反応しない段階まで分化している可能性が強く示唆された。

V. 結 語

SLE の末梢単核球を concanavalin A (Con A) 添加あるいは非添加で 48 時間培養することにより、正常同種末梢単核球による pokeweed mitogen (PWM) 刺激免疫グロブリン (Ig) 産生を抑制する、Con A-induced suppressor 細胞および preculture-induced suppressor 細胞を正常ヒトと同様に誘導することができた。さらに、SLE に出現する抗 T 細胞抗体が、Con A-induced suppressor 細胞の前駆細胞を撰択的に障害しているとは考えられず、この抗体が原因となって SLE のサプレッサー機能が低下している事実は証明されなかった。

しかし、SLE において誘導されたこの両 suppressor 細胞は、正常ヒトの B 細胞機能を抑制したが、自己の B 細胞に対しては十分に抑制効果を示さないことが判明した。すなわち、SLE の抗体産生異常は、suppressor 細胞の機能低下によるものではなく、むしろその情報を受ける B 細胞の側に欠陥があるためと考えられ、*in*

vivo ですでに B 細胞が preactivate されている可能性が強く示唆された。

藤眞教授に深甚の謝意を表します。また、終始多大の御指導と御援助をいただいた矢野啓介博士に深謝いたします。

稿を終るにあたり御指導と御校閲を賜った恩師大

文 献

1. Waldmann, T. A., Durm, M., Broder, S., Blackman, M., Blaese, R. M., and Strober, W.: Role of suppressor T cells in pathogenesis of common variable hypogammaglobulinemia. *Lancet* ii 609—613, 1973.
2. Siegal, F. D. and Siegal, M.: Enhancement by irradiated T cells of human plasma cell production. Dissection of helper and suppressor functions *in vitro*. *J. Immunol.* 118, 642—647, 1977.
3. Saxon, A., Stevens, R. H. and Ashman, R. F.: Regulation of immunoglobulin production in human peripheral blood leukocytes. Cellular interactions. *J. Immunol.* 118, 1872—1879, 1977.
4. Goodwin, J. S., Bankhurst, A. D. and Messner, R. P.: Suppression of human T cell mitogenesis by prostaglandin. Existence of a prostaglandin-producing suppressor cell. *J. Exp. Med.* 146, 1719—1734, 1977.
5. Rice, L., Laughter, A. H. and Twomey, J. J.: Three suppressor systems in human blood that modulate lymphoproliferation. *J. Immunol.* 122, 991—996, 1979.
6. Innes, J. B., Kuntz, M. M., Kim, Y. T. and Wekster, M. E.: Induction of suppressor activity in autologous mixed lymphocyte reaction and in cultures with concanavalin A. *J. Clin. Invest.* 64, 1608—1613, 1979.
7. Maca, R. D., Bonnard, G. D. and Herberman, R. B.: The suppression of mitogen- and alloantigen-stimulated peripheral blood lymphocytes by cultured human T lymphocytes. *J. Immunol.* 123, 246—251, 1979.
8. Stobo, J. D.: Immunosuppression in man. Suppression by macrophage can be mediated by interactions with regulatory T cells. *J. Immunol.* 119, 918—924, 1977.
9. Engleman, E. G., McMichael, A. J., Batey, M. E. and McDevitt, H. D.: A suppressor T cell of the mixed lymphocyte reaction in man specific for the stimulating alloantigen. Evidence that identity at HLA-D between suppressor and responder is required for suppression. *J. Exp. Med.* 147, 137—146, 1978.
10. Engleman, E. G. and McDevitt, H. D.: A suppressor T cell of the mixed lymphocyte reaction specific for the HLA-D region in man. *J. Clin. Invest.* 61, 828—838, 1978.
11. 中村善一：全身性エリテマトーデスの免疫異常とその成因に関する研究。第1編 抗リンパ球抗体に関する研究。岡山医学会雑誌 93, 1—11, 1981.
12. Asano, T., Yano, K. and Ofuji, T.: Immunological dysregulation in SLE. In *Abstracts of 4th International Congress of Immunology*, ed. J. L., Preud' Homme and V. A. L., Hawken, Imp. Amelot, Paris, Abst. No. 18.8.05., 1980.
13. Blaese, R. M., Grayson, J. and Steinberg, A. D.: Increased immunoglobulin-secreting cells in the blood of patients with active systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.* 69, 345—350, 1980.
14. Fauci, A. S., Steinberg, A. D., Haynes, B. F. and Whalen, G.: Immunoregulatory aberrations in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 121, 1473—1479, 1978.
15. Theofilopoulos, A. N., Shawler, D. L., Eisenberg, R. A. and Dixon, F. J.: Splenic immunoglobulin-secreting cells and their regulation in autoimmune mice. *J. Exp. Med.* 151, 446—466, 1980.
16. Krakauer, R. S., Waldmann, T. A. and Strober, W.: Loss of suppressor T cells in adult NZB/NZW

- mice. *J. Exp. Med.* 144, 662—673, 1976.
17. Gershon, R. K.: Suppressor T cell dysfunction as a possible cause for autoimmunity. In *Autoimmunity*, ed. N., Talal, Academic Press, New York pp. 171—180, 1977.
 18. Theofilopoulos, A. N., McCoahey, P. J., Izui, S., Eisenberg, R. A., Pereira, A. B. and Creighton, W. D.: A comparative immunologic analysis of several murine strains with autoimmune manifestations. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 15, 258—278, 1980.
 19. Cohen, P. L. and Ziff, M.: Abnormal polyclonal B cell activation in NZB/NZW F₁ mice. *J. Immunol.* 119, 1534—1537, 1977.
 20. Primi, D., Hammarstroem, L. and 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—2243, 1978.
 21. Horowitz, S., Borcherdig, W., Moorthy, A. V., Chesney, R., Schulte-Wissermann, H. and Hong, R.: Induction of suppressor T cells in systemic lupus erythematosus by thymosin and cultured thymic epithelium. *Science* 197, 999—1001, 1977.
 22. Kaufman, D. B. and Bostwick, E.: Defective suppressor T-cell activity in systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 13, 9—18, 1979.
 23. Sakane, T., Steinberg, A. D. and Green, I.: Studies of immune functions of patients with systemic lupus erythematosus. I. Dysfunction of suppressor T cell activity related to impaired generation of, rather than response to, suppressor cells. *Arthritis Rheum.* 21, 657—664, 1978.
 24. Koike, T., Kobayashi, S., Yoshiki, T., Itoh, T. and Shirai, T.: Differential sensitivity of functional subsets of T cells to the cytotoxicity of natural T-lymphocytotoxic autoantibody of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 22, 123—129, 1979.
 25. Lobo, P. I. and Speucer, C. E.: Inhibition of humoral and cell-mediated immune responses in man by distinct suppressor cell systems. *J. Clin. Invest.* 63, 1157—1163, 1979.
 26. Herscovitz, H. B., Sakane, T., Steinberg, A. D. and Green, I.: Heterogeneity of human suppressor cells induced by concanavalin A as determined in simultaneous assays of immune function. *J. Immunol.* 124, 1403—1410, 1980.
 27. Haynes, B. F. and Fauci, A. S.: Heterogeneity of concanavalin A-generated suppressor cells of the pokeweed mitogen-induced plaque-forming cell response of human peripheral blood lymphocytes. *J. Immunol.* 121, 559—565, 1978.
 28. Sakane, T. and Green, I.: Human suppressor T cells induced by concanavalin A. Suppressor T cells belong to distinctive T cell subclass. *J. Immunol.* 119, 1169—1178, 1977.
 29. Schwartz, S. A., Shou, L., Good, R. A. and Choi, Y. S.: Suppression of immunoglobulin synthesis and secretion by peripheral blood lymphocytes from normal donors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 74, 2099—2103, 1977.
 30. Lipsky, P. E., Grinsberg, W. W., Finkelman, F. D. and Ziff, M.: Control of human B lymphocyte responsiveness. Enhanced suppressor T cell activity after *in vitro* incubation. *J. Immunol.* 120, 902—910, 1978.
 31. Cohen, A. S., Reynolds, W. F., Franklin, E. C. F., Kulka, J. P., Pope, M. W., Shulman, L. E. and Wallace, S. L.: Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* 21, 643—648, 1971.
 32. 矢野啓介, 浅野太郎, 大藤眞: Staphylococcal phage lysate (SPL)—多クローン性B細胞活性化物質, 医学のあゆみ 115, 264—266, 1980.
 33. Raff, H. V., Cochrum, K. C. and Stobo, J. D.: Macrophage-T cell interactions in the Con A inducti-

- on of human suppressive T cells. *J. Immunol.* **121**, 2311—2315, 1978.
34. Kuritani, T., Hirano, T., Kishimoto, T. and Yamamura, Y.: *In vitro* immune response of human peripheral lymphocytes. II. Properties and functions of concanavalin A-induced suppressor T cells. *Microbiol. Immunol.* **23**, 185—196, 1979.
35. Krakauer, R. S., Cathcart, M. K., and Ilfeld, D. N.: Suppression of polyclonal immunoglobulin biosynthesis by a soluble factor. T cell dependent and T cell independent mitogens. *Immunology* **40**, 53—60, 1980.
36. Ruiz-Arguelles, A., Alarcon-Segovia, D., Illorente, L. and Giudice-Knipping, J. A. D.: Heterogeneity of the spontaneously expanded and mitogen-induced generation of suppressor cell function of T cells on B cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **23**, 1004—1009, 1980.
37. Sakane, T., Steinberg, A. D., Reeves, J. P. and Green, I.: Studies of immune functions of patients with systemic lupus erythematosus. Complement-dependent immunoglobulin M anti-thymus-derived cell antibodies preferentially inactivate suppressor cells. *J. Clin. Invest.* **63**, 954—965, 1979.
38. Feighery, C., Whelan, C. A., Weir, D. G. and Grealley, J. F.: *In vitro* studies of suppressor cell function in human peripheral blood mononuclear cells. *Clin. Exp. Immunol.* **32**, 459—465, 1978.
39. Fernandez, L. A. and Macsween, J. M.: Generation of suppressor cells by concanavalin A. A new perspective. *J. Immunol.* **125**, 267—269, 1980.

**Studies on immunological aberration and its pathogenetic roles
in patients with systemic lupus erythematosus.**

Part 2. Studies on suppressor T cell function

Zenichi NAKAMURA

The 3rd Department of Internal Medicine, Okayama University

Medical School

(Director: Prof. T. Ofuji)

Peripheral mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus(SLE), when incubated for 48hr with or without concanavalinA(ConA), were found to be capable of inhibiting the pokeweed mitogen(PWM)-induced polyclonal immunoglobulin(Ig) secretion of cells from normal individuals. Furthermore, anti-T cell antibody in sera from patients with SLE could not preferentially kill the precursor cells of ConA-induced suppressor cells. However, in SLE these suppressor cells did not significantly affect the Ig secretion of autologous B cells.

These results suggest that defective suppressive activity in patients with SLE does not occur at the T cell level, but that it is most likely due to the defect of B cells in recognizing suppressive information from suppressor T cells, which is caused by *in vivo* polyclonal B cell activation.