

免疫応答とトリプトファン代謝

検査技術科学専攻 長瀬文彦

最終講義 2009. 2. 27

1. ニワトリの免疫応答機構(医学部生化学、細菌学)
2. T細胞ハイブリドーマによる抗原認識(ニューヨーク大学、マウントシナイ大学)
3. T細胞クローンによる抗腫瘍免疫の誘導機構(医学部免疫学)
4. 抗CD3抗体によるFcR陽性細胞の調節(医療短大)
5. 細胞死の誘導機構(医療短大、保健学科)
6. トリプトファン代謝による免疫の調節(保健学科)
7. 長寿遺伝子SIRT1と免疫(保健学科)

1. ニワトリの免疫応答機構

Studies on the immune response in chicken

I . Effect of various immunization procedures on the primary and secondary antibody responses to bovine serum albumin

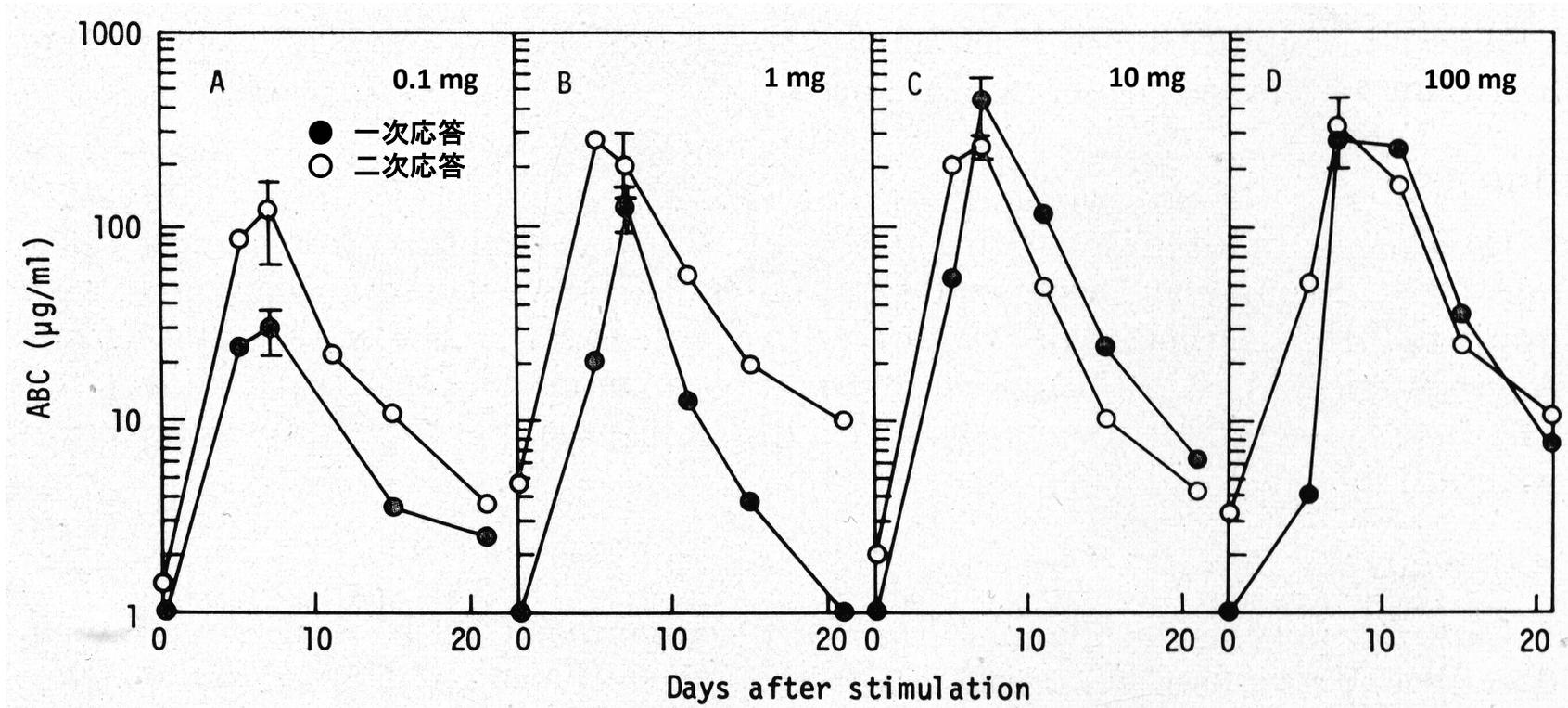
Fumihiko Nagase et al. Z. Immun.-Forsch. (Immunobiology) 154:256 (1978)

ニワトリの免疫応答の研究

I . アルブミンに対する一次と二次の抗体応答に及ぼす種々の免疫操作の影響

哺乳類とニワトリ、抗体応答、免疫記憶、免疫寛容(トレランス)、抗原量、頻回投与、投与部位、抗原の性状、アジュバンド、胸腺依存性抗原、胸腺非依存性抗原、可溶性抗原＝免疫寛容原、凝集抗原＝免疫原、少量と多量の抗原頻回投与はトレランスの誘導

ニワトリのBSAに対する一次と二次の抗体応答に及ぼす抗原量の影響



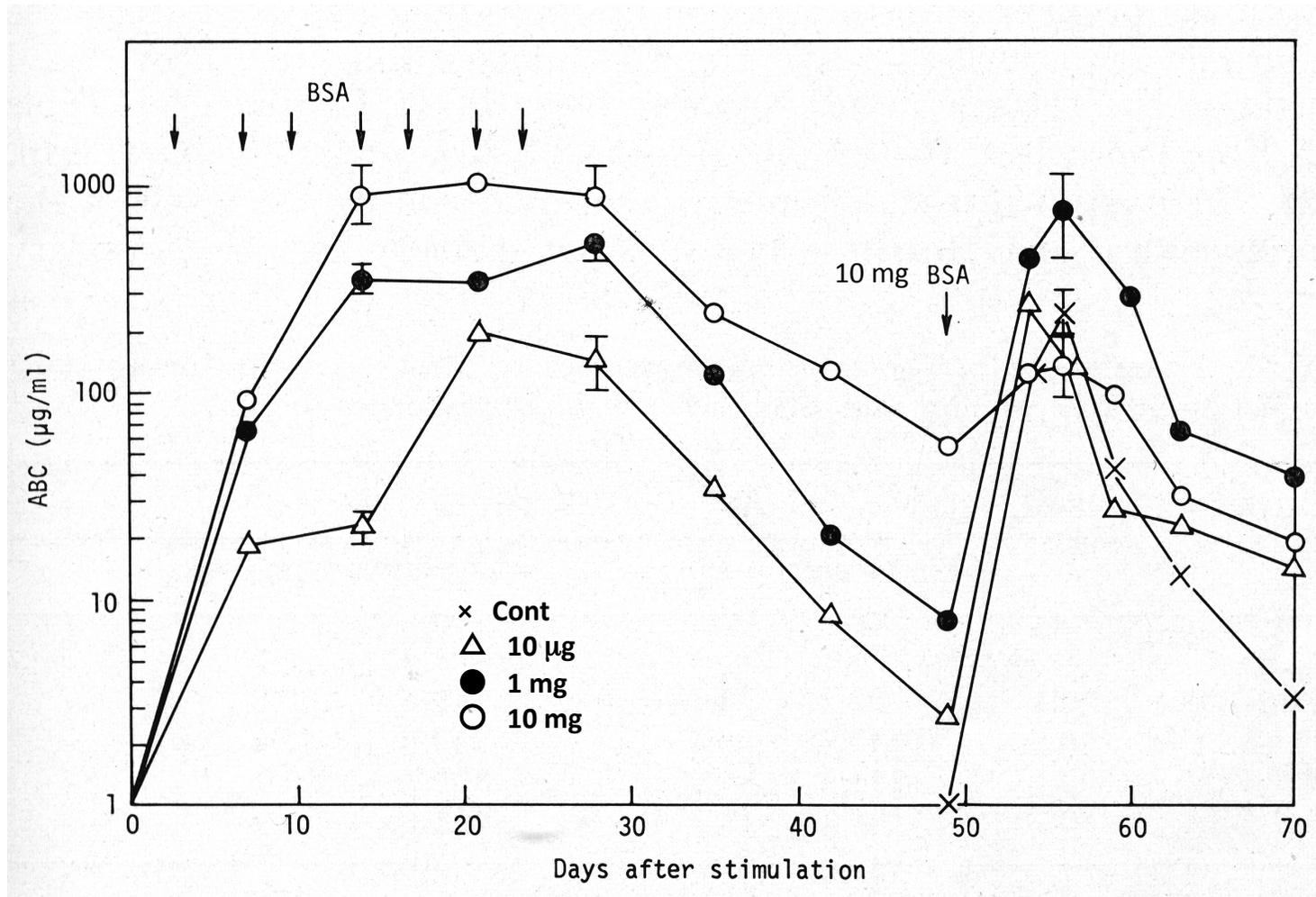
3週間前に10 mgのBSAを投与されたニワトリと正常なニワトリに0,1~100 mgのBSAを投与した。ニワトリは抗原単独投与によって容易に抗体応答を誘起したが、強い免疫記憶を誘導できなかつた。低量の抗原による二次刺激で弱い免疫記憶が検出された。

初回投与のために使われたBSAの物理的性状のBSAに対する一次と二次の抗体応答に及ぼす影響

Antigens primarily injected (mg) ^a	Anti-BSA titers ($\mu\text{g/ml}$) ^b	
	Primary response	Secondary response
None		404.9 \pm 49.7
DAG-BSA 0.1	22.2 \pm 8.1	309.4 \pm 102.6
10	313.4 \pm 66.1	452.6 \pm 55.0
1000	226.8 \pm 87.8	301.7 \pm 89.0
AG-BSA 10	164.5 \pm 48.5	268.1 \pm 75.9

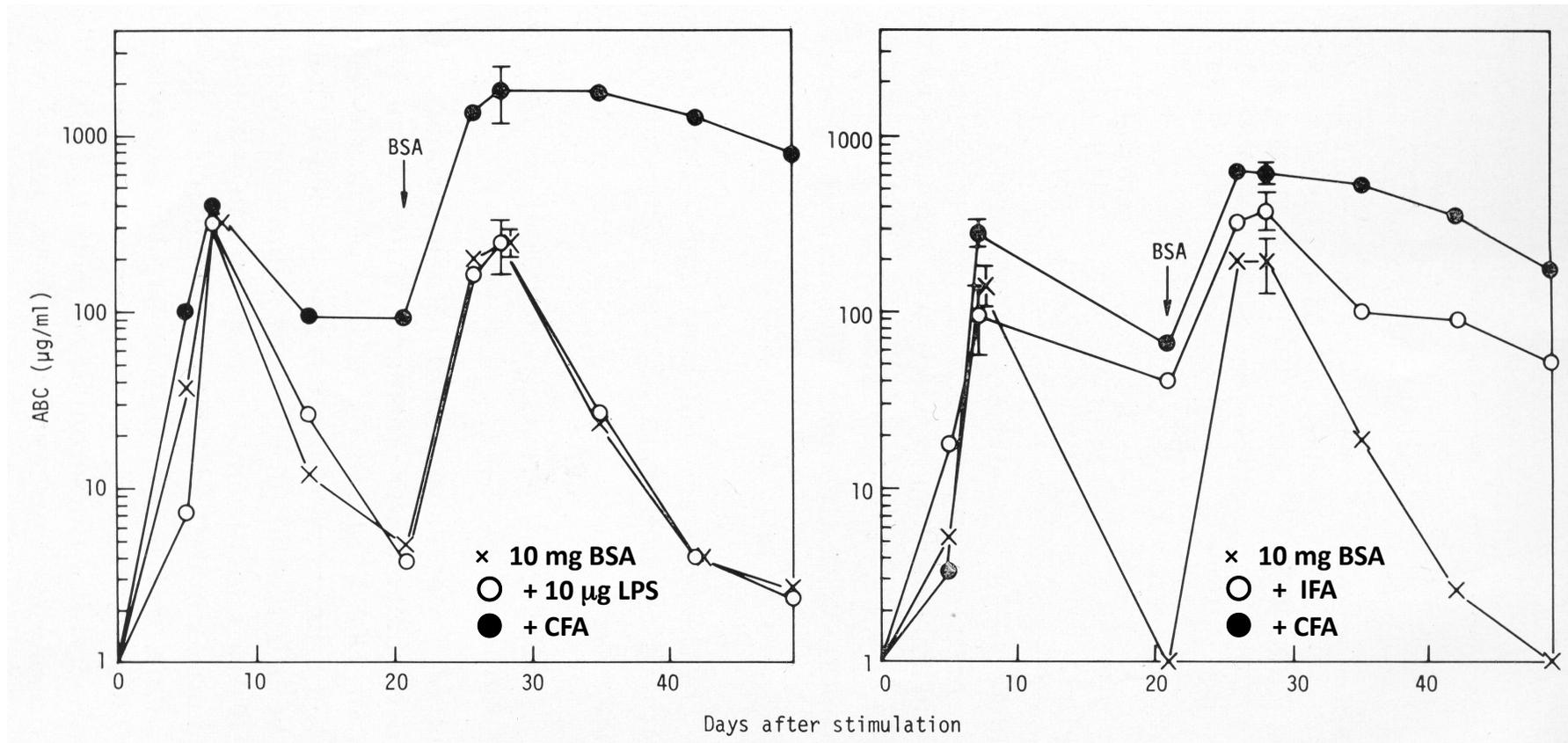
ニワトリでは加熱凝集(AG-BSA)抗原も可溶性抗原(DAG-BSA)も同等に抗体応答を誘起し、記憶の誘導にも影響しなかった。

BSAを繰り返し投与されたニワトリのBSAに対する抗体応答の経時変化



ニワトリの免疫記憶は中程度(1 mg)の抗原量の頻回投与によって誘導された。

初回抗原投与に用いられたBSAとフロイドのアジュバンドの混合物のBSAに対する一次と二次の抗体応答に及ぼす影響



ニワトリはフロイドのアジュバンドを用いると一次応答の高さに変化はないが減少が緩やかになり免疫記憶を誘導した。頻回刺激の結果と合わせて抗原の持続的な刺激が重要である。LPSの影響は全く受けなかった。

マウスとニワトリにおける抗体応答と記憶の成立

	マウス				ニワトリ	
	BSA, BGG, HGG など		細菌由来多糖体		B S A	
	抗体応答	記憶	抗体応答	記憶	抗体応答	記憶
少量抗原 (頻回刺激)	0 ~ ±	- (--)	+	0 ~ ±	+ (++)	± (±)
中量抗原 (頻回刺激)	± ~ +	± ~ +	+	- ~ ±	++ (++)	± (+)
多量抗原 (頻回刺激)	± ~ +	- (--)	0	--	++ (++)	± (±)
凝集抗原	↑	↑	} no or little effect		→	→
非凝集抗原	↓↓	↓↓			→	→
アジュバント併用	↑↑↑	↑↑↑			→	→(↑CFA)

ニワトリの抗体応答機構は抗原単独で容易に抗体応答を誘起できるが、抗原の性状やアジュバンド(CFAを除く)の影響を受けにくく、免疫記憶も誘導されにくい。それゆえ、哺乳類の胸腺非依存性抗原に対する抗体応答機構と似ている。

1. ニワトリの免疫応答機構

Studies on the immune response in chicken II . Functions of carrier-reactive cells in anti-hapten responses

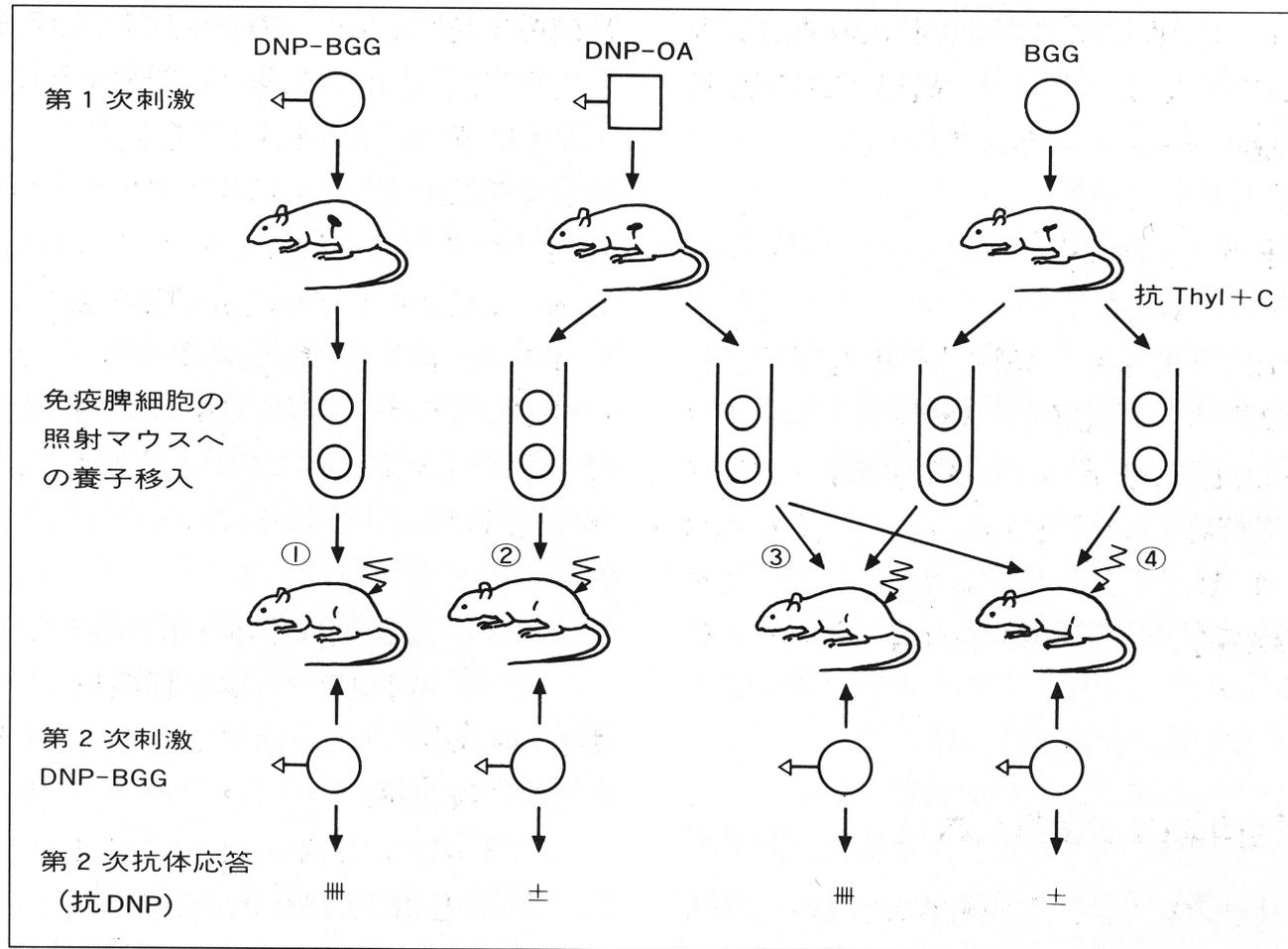
Fumihiko Nagase et al. Z. Immun.-Forsch. (Immunobiology) 154:256 (1978)

ニワトリの免疫応答の研究

II . 抗ハプテン応答におけるキャリアー反応性細胞の機能

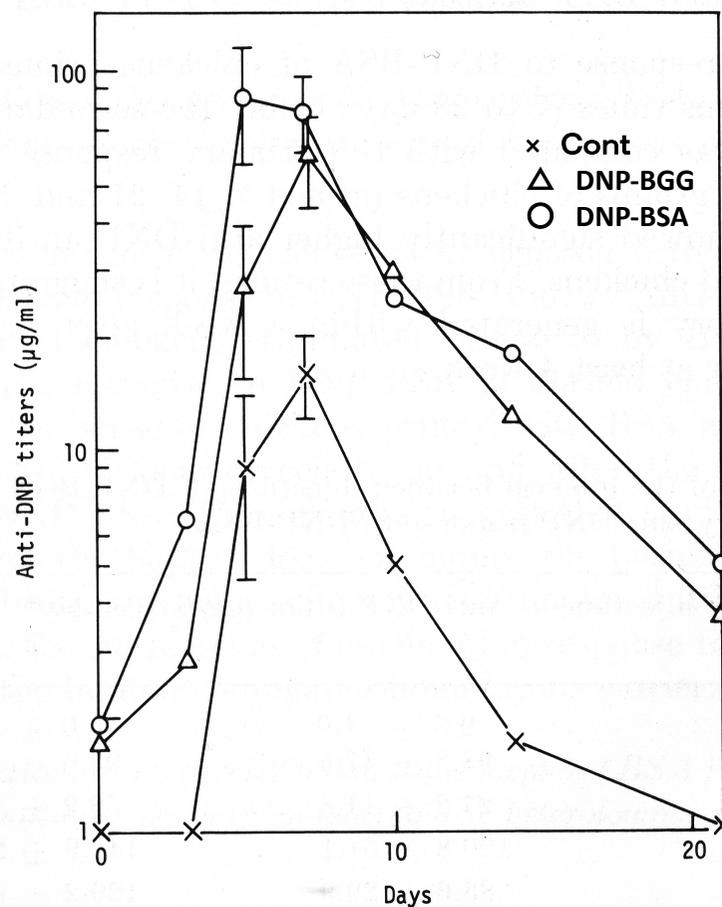
ハプテン-キャリアー抗原、抗ハプテン抗体、ハプテン特異B細胞、キャリアー特異ヘルパーT細胞、ハプテン・キャリアー効果、T-B細胞間相互作用、ヘルパーT細胞非依存性B記憶細胞の誘導、サプレッサーT細胞

ハプテン反応性B細胞とキャリアー反応性T細胞の細胞間相互作用による抗体産生



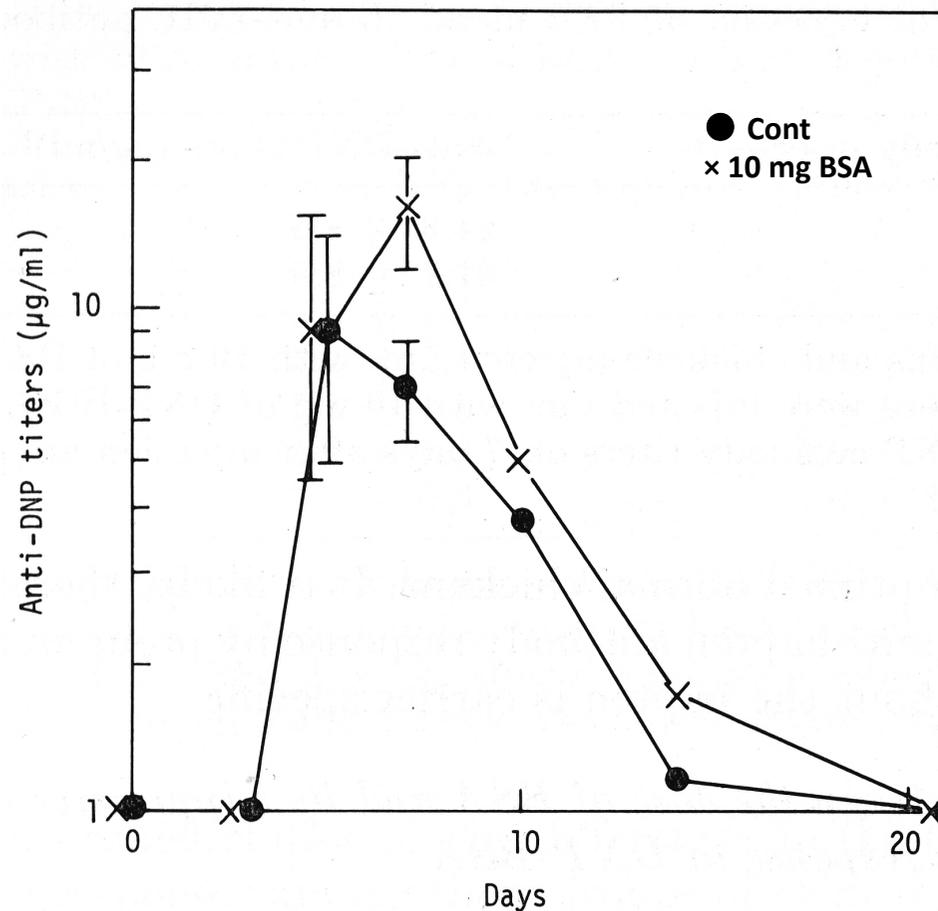
キャリアーを認識するT細胞とハプテンを認識するB細胞が協力することによってハプテンに対する強い記憶が誘導される。

DNA-BSAかDNP-BGG で一次免疫されたニワトリとされていない正常ニワトリのDNP-BSAに対する抗DNP抗体応答の経時変化



3週間前に10 mgのDNP-BSAを投与されたニワトリもDNP-BGGを投与されたニワトリもDNP-BSAの二次投与に対して高い抗DNP応答を示した。ニワトリにおいてハプテン・キャリアー効果は示されないで、T細胞非依存性にB記憶が誘導される。

ニワトリのDNP-BSAに対する抗DNP抗体応答に及ぼすBSA単独投与の影響



10mgのBSAを3週間前に投与するとDNP-BSAに対する抗DNP抗体応答は抑制された。BSA単独前投与によりキャリア特異サプレッサーT細胞が誘導される。

B細胞記憶と抑制性T細胞記憶のバランスの上で免疫記憶が誘導される。系統発生的に未分化な鳥類において十分なT-B細胞間相互作用機構が成熟していない。

1. ニワトリの免疫応答機構

Studies on the immune response in chickens

Ⅲ. Effect of substitution of carrier on elicitation of anti-hapten antibody responses and generation of hapten-specific memory

Fumihiko Nagase et al. Immunology 37:339 (1979)

ニワトリの免疫応答の研究

Ⅲ. 抗ハプテン抗体応答の誘起とハプテン特異記憶に及ぼすキャリアー置換の影響

DNP-Ficoll、DNP-CSA (ニワトリ血清アルブミン)、DNP₄-BSA、DNP₄₂-BSA、ヘルパーT細胞非依存性B細胞記憶の誘導、抗体応答の誘起に必要なヘルパーT細胞

DNP-Ficoll投与による抗DNP抗体応答の誘起とDNP特異記憶の成立

Experiment	Materials injected*		Anti-DNP titres ($\mu\text{g/ml}$)†	
	Primary	Secondary	Primary	Secondary
1	DNP-BSA		20.1 \pm 4.1	
	DNP-Ficoll		1.6 \pm 1.2	
	DNP-BSA + DNP-Ficoll		16.8 \pm 3.2	
2	None	DNP-BSA		22.2 \pm 4.1
	None	DNP-Ficoll		5.6 \pm 1.5
	DNP ₄ -BGG	DNP-BSA	46.6 \pm 8.3	161.0 \pm 39.4
	DNP ₄ -BGG	DNP-Ficoll	28.3 \pm 6.4	9.3 \pm 2.5
	DNP-Ficoll	DNP-BSA	2.9 \pm 0.8	104.3 \pm 28.2

胸腺非依存性抗原をキャリアとしたDNP-Ficollは抗体応答を誘起しないがDNP特異記憶を誘導した。

DNP-CSA投与による抗DNP抗体応答の誘起とDNP特異記憶の成立

Experiment	Materials injected*		Anti-DNP titres ($\mu\text{g/ml}$)†	
	Primary	Secondary	Primary	Secondary
1	None	DNP-BSA		14.9 ± 3.1
	DNP-BSA + CFA	DNP-BSA	16.0 ± 2.3	85.9 ± 25.2
	DNP-BGG + CFA	DNP-BSA	24.8 ± 8.5	122.2 ± 40.5
	DNP-CSA + CFA	DNP-BSA	6.5 ± 2.4	63.2 ± 15.5
2	None	DNP-BSA		10.5 ± 2.0
	None	DNP-CSA		5.5 ± 1.9
	DNP-BGG	DNP-BSA	20.9 ± 5.3	67.0 ± 11.5
	DNP-BGG	DNP-CSA	22.2 ± 4.9	9.8 ± 0.8
	DNP-CSA	DNP-BSA	1.4 ± 0.4	53.1 ± 7.8

ニワトリの血清アルブミンをキャリアーとしたDNP-CSAは抗体応答を誘起しないがDNP特異記憶を誘導した。

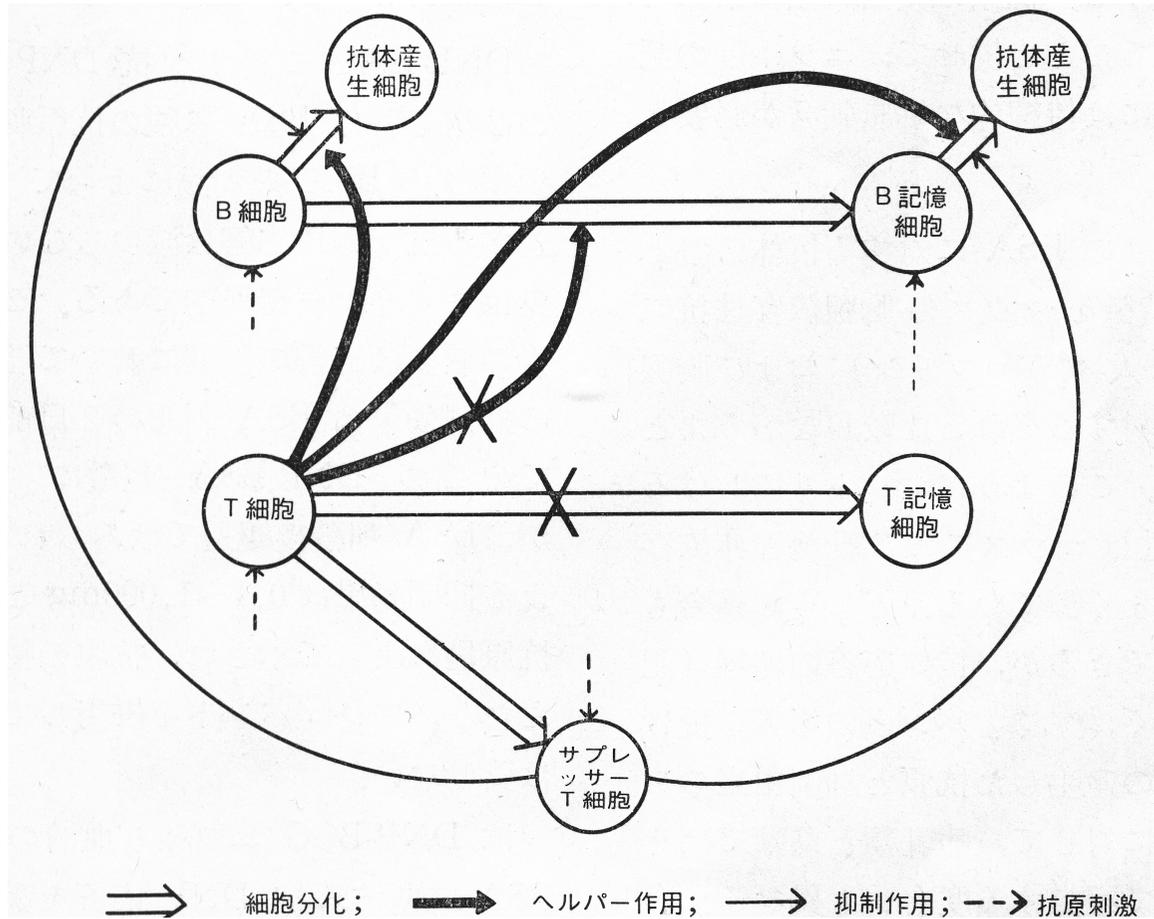
DNP₄-BGGかDNP₄₂-BGG投与による抗DNP抗体応答の誘起とDNP特異記憶の成立

Experiment	Materials injected (mg)*		Anti-DNP titres (μg/ml)†	
	Primary	Secondary	Primary	Secondary
1	DNP ₄ -BGG (5)		24.3 ± 4.0	
	DNP ₄ -BGG (50)		22.2 ± 4.0	
	DNP ₄₂ -BGG (5)		3.1 ± 0.9	
2	None	DNP ₄ -BGG		62.3 ± 12.3
	None	DNP ₄₂ -BGG		5.5 ± 3.9
	DNP-BSA	DNP ₄ -BGG	45.2 ± 11.2	187.9 ± 67.3
	DNP-BSA	DNP ₄₂ -BGG	45.6 ± 20.5	154.6 ± 15.0
3	None	DNP-BSA		22.2 ± 4.1
	DNP ₄ -BGG	DNP-BSA	46.6 ± 8.4	161.0 ± 39.4
	DNP ₄₂ -BGG	DNP-BSA	3.4 ± 1.5	117.4 ± 60.1

高密度にハプテンを結合したDNP₄₂-BGGはDNP特異記憶を誘導し、二次抗DNP抗体応答を誘起したが、一次抗DNP抗体応答を誘起できなかった。

ニワトリの抗DNP抗体応答の誘起にはヘルパーT細胞機能が必要である。

ニワトリのT-B細胞間相互作用



ニワトリにおいて、T細胞非依存性にB記憶が誘導され、キャリアー特異サブレッサーT細胞が誘導される。しかし、B細胞応答の誘起にはヘルパーT細胞機能が必要である。

2. T細胞ハイブリドーマによる抗原認識

Characterization of a (BALB/c X C57BL/6)F₁ T cell hybridoma with double specificity: recognition of antigen in context of I-A^d and autoreactivity

Fumihiko Nagase et al. Eur. J. Immunol. 14:652 (1984)

二重特異性を有する(BALB/c X C57BL/6)F₁ T細胞ハイブリドーマの特性:
I-A^dに拘束された抗原認識と自己反応性

T細胞ハイブリドーマ(正常なT細胞とT腫瘍細胞の融合細胞)、クローニング、KLH特異T細胞ハイブリドーマ(FN13)、抗原提示細胞(APC)、樹状細胞、マクロファージ、B細胞、MHC(主要組織適合性複合体、ヒトのHLA、マウスのH-2)、MHC拘束(自己のMHCと抗原ペプチドの複合体を認識)、マウスのMHCクラスII分子(I-A, I-E)、自己反応性(自己のMHCに対するT細胞の反応)、IL-2産生、IL-2依存性T細胞によるIL-2測定、H-2のリコンビナント(組み換え)マウス

抗原濃度とFN13細胞によるIL-2産生の量的な依存関係

Antigen	Dose ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	IL 2 production in the presence of APC from ^{a)}		
		CB6F ₁ ^{b)}	BALB/c	C57BL/6
Nil		59 ^{b)}	0	101
KLH	0.01	57	0	170
	0.1	55	0	125
	1.0	58	0	176
	10	67	62	180
	40	111	61	88
	100	147	115	116
Cytochrome <i>c</i>	10	57	0	
	100	55	0	
TNP-OVA	10	54	0	
	100	55	0	

T細胞ハイブリドーマFN13はKLHを免疫されたCB6F₁マウスの脾臓細胞から作製した。FN13はBALB/cのAPC存在下でKLHの濃度依存性に、C57BL/6のAPC単独に、CB6F₁のAPCには両親マウスのAPCが存在するように反応してIL-2を産生した。

異なったH-2マウスからの抗原提示細胞(APC)が二つのFN13サブクローンによるIL-2産生に及ぼす影響

APC Strain	Haplotype	IL 2 production by			
		FN13-13		FN13-21	
		KLH ^{a)}	KLH	KLH	KLH
		-	+	-	+
Nil		0	0	0	0
CB6F ₁	b/d	76 ^{b)}	85	203	121
BALB/c	d	< 10	160	0	81
C57BL/6	b	214	159	70	59
CeH/HeJ	k	0	0	< 10	< 10
A/J	a	0	0	0	0
DBA/1	q	0	0	0	0
SJL	s	0	0	0	0
PL/J	u	0	0	0	0
RHJ	r	0	0	0	0

FN13-13とFN13-21はH-2のハプロタイプがdのAPCとKLH及びH-2がbのAPC単独に二重に反応してIL-2を産生した。

FN13-21のIL-2産生に及ぼす抗体の影響

Antibodies added ^{a)}		IL 2 production					
Designation	Specificity	CB6F ₁ ^{b)}		BALB/c ^{b)}		C57BL/6 ^{b)}	
		KLH ^{c)}		KLH		KLH	
		-	+	-	+	-	+
None	None	52 ^{d)}	83	< 10	57	106	57
UPC-10	β ₂ -Fructosan	55	145	0	82	96	79
25-9-35	I-A ^{b)}	0	52	0	91	0	0
MK-D6	I-A ^{d)}	47	16	0	0	96	70

部分的抑制

FN13-21のKLH刺激に対するIL-2産生は抗I-A^{d)}抗体で、C57BL/6かCB6F₁のAPC刺激に対するIL-2産生は抗I-A^{b)}抗体で抑制された。

FN13-21の自己反応特異性の遺伝的な特性

Stimulator cells	H-2 region				IL 2 production
	K	A	E	D	
CB6F ₁	b/d	b/d	b/d	b/d	102 ^{a)}
BALB/c	d	d	d	d	0
C57BL/6	b	b	b	b	222
B10.A(2R)	k	k	k	b	0
B10.A(4R)	k	k	b	b	0
B10.A(5R)	b	b	k	d	211

FN-13-21はH-2のI-AがbのマウスのAPCに反応してIL-2を産生した。

T細胞ハイブリドーマFN13-21はI-A^dに拘束された抗原KLHと自己のI-A^b単独を二重に認識する。

3. T細胞クローンによる抗腫瘍免疫の誘導機構

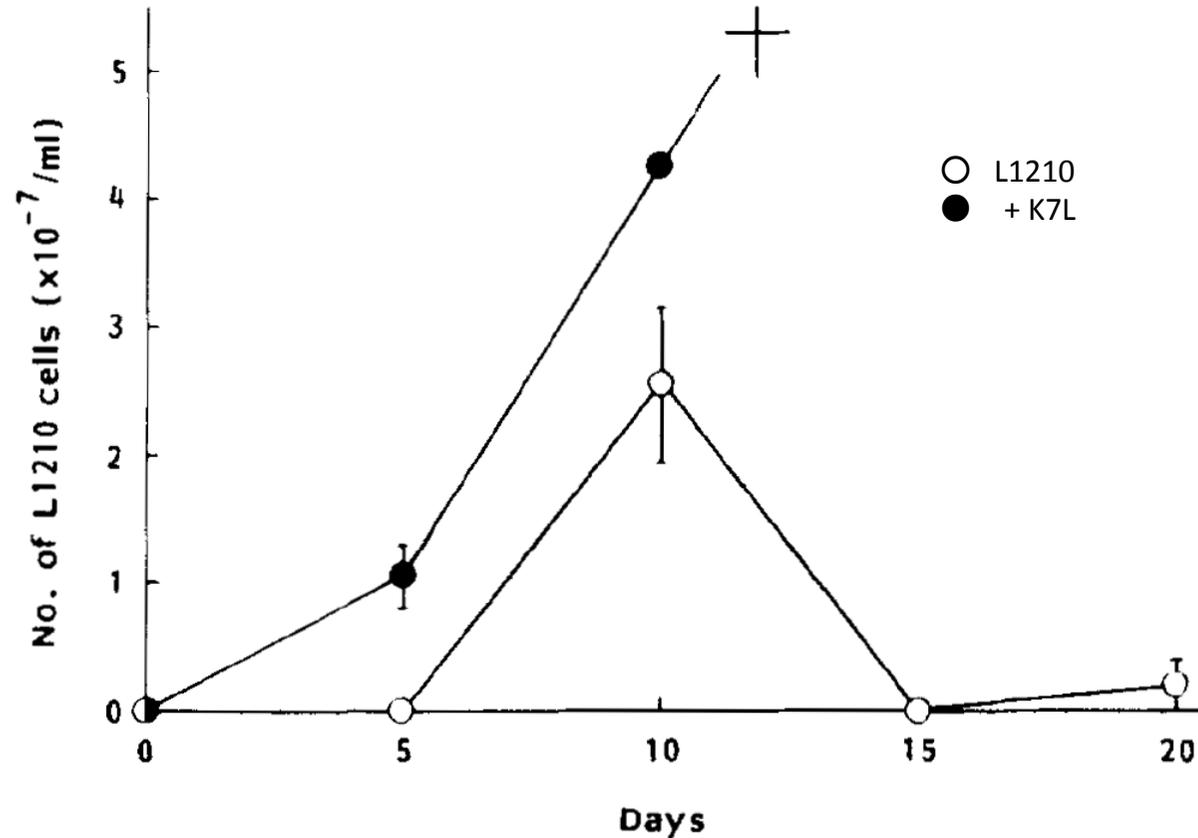
Development of host-dependent high-grade tumor-specific immunity through a novel mechanism triggered by the LYT-2⁺ tumor specific T cell clone (K7L) that induces temporal growth of L1210 leukemia-K7L⁻ variant

Fumihiko Nagase et al. J. Immunol. 138:2359 (1987)

L1210白血病細胞K7L⁻変異株の一時的な増殖を誘導するLYT-2⁺ (CD8⁺)腫瘍特異T細胞クローンにより始動される新しいメカニズムを介した宿主依存性の強い腫瘍特異免疫の展開

クローン化T細胞は1個のT細胞から増殖した細胞集団であり、抗原刺激と細胞増殖因子(IL-2)で生理的活性を維持したまま継代することができる。L1210白血病細胞、L1210特異CTLクローンK7L、L1210白血病細胞K7L⁻変異株

K7Lと共にL1210を投与されたマウスの腹腔内のL1210増殖曲線



10⁵のL1210を腹腔に投与されたマウスでは腫瘍が急速に増殖し、9, 10, 10, 10, 11日で腫瘍死した。L1210を5x10⁶のK7Lと共に投与されたマウスにおいて、5日の腫瘍増殖は完全に抑制されたが、10日に一時的な腫瘍増殖が誘導され、その後拒絶された。これらのマウスの生存日数は21, 25, >60, >60, >60日であった。

初回K7Lと共にL1210を投与されたマウスから増殖したL1210はK7Lのin vitroの抗腫瘍活性に不感受性である

K7L in vivo ^a	[³ H]Thymidine Uptake (cpm) Mean (SE) ^b		% Tumor Growth Inhibition
	-K7L in vitro	+K7L in vitro	
-	25,283 (3,236)	1,916 (72)	92 p < 0.01
+	94,077 (14,087)	79,865 (2,141)	15 p > 0.1

K7Lと共にL1210を投与されたマウスから増殖したL1210はK7Lのin vitroの腫瘍増殖抑制活性に不感受性であった。

K7Lと共にL1210を最初に投与されたマウスにおいて増殖したL1210 (L1210-K7L)の腫瘍原性とK7Lの生体内における抗腫瘍活性に対する感受性

Tumors ^a	Dose	Injection of K7L	No. of L1210 Cells ($\times 10^{-4}/\text{ml}$), Mean (SE) ^b			Survival Times (days)
			Day 5	Day 10	Day 15	
Original L1210	10^3	-	8 (1)	5120 (704)	4864 (866)	12, 14, 14, 15, 16
	10^4	-	218 (46)	6425 (847)	D ^c	12, 13, 14, 14, 15
	10^5	-	2368 (149)	4544 (1728)	D	10, 10, 10, 10, 10
Variant L1210-K7L ⁻	10^3	+	1 (1)	2176 (150)	4 (2)	33, >60, >60, >60, >60
	10^4	-	4 (2)	6060 (683)	2365 (1027)	15, 19, 19, 19, 19
	10^4	-	108 (22)	4800 (257)	3248 (112)	12, 12, 14, 16, 17
	10^5	-	1958 (200)	4288 (258)	D	10, 10, 11, 11, 11
	10^5	+	2291 (286)	3656 (584)	D	10, 10, 10, 12, 13

L1210とL1210-K7Lはin vivoで同等の腫瘍原性を示したが、L1210-K7LはK7Lに対して不感受性であった。K7Lは標的腫瘍抗原Aを発現しているL1210の増殖を阻止し、抗原Aを欠損したL1210-K7Lの増殖を選択する。

初回K7Lと共にL1210を投与されたマウスにおいて変異L1210が完全に退行した後大量に再投与されたオリジナルのL1210を拒絶する強力な抗腫瘍免疫が発現する

Expt.	Cells Initially Injected ^a	On Day	No. of L1210 Cells ($\times 10^{-4}$ /ml), Mean (SE) ^b		Survival Time (days)
			Day 5	Day 10	
1	Nil		2006 (687)	D ^c	6, 7, 8, 8
	L1210 + K7L	-86	61 (34) p < 0.05	<1	>60, >60, >60, >60, >60 p < 0.01
2	Nil		5088 (1076)	D	7, 7, 7
	L1210 + K7L	-106	1 (1) p < 0.01	<1	>60, >60, >60, >60 p < 0.025

L1210 (10^5) と K7L (25×10^5)を86～106日前に投与され生存したマウスは 10^7 のL1210の再投与に対して全マウスが腫瘍の増殖を阻止し、60日以上生存した。

3. T細胞クローンによる抗腫瘍免疫の誘導機構

Induction of high-grade tumor-specific immunity in a host using a cytotoxic T-lymphocyte clone specific for a stable tumor antigen on murine leukemia L1210

S. M. Jamshedur. Rahman et al. Cancer Res. 48:6450 (1988)

マウス白血病L1210の安定した腫瘍抗原特異細胞傷害性Tリンホサイトクローンをを用いた宿主の高度な腫瘍特異免疫の誘導

L1210白血病細胞、L1210特異CTLクローンK4L、L1210白血病細胞K4L-変異株生成の欠如

T細胞クローンK4Lの細胞傷害活性の特異性

Experiment	E/T ratio	% of ⁵¹ Cr release ^a from			
		L1210	L1210-K7L ⁻	P388	L5178Y
1	10	29	39	ND ^b	ND
	5	33	27	ND	ND
2	10	44	32	2	ND
	5	49	31	ND	ND
3	10	62	20	5	2
	5	65	18	ND	ND

K4LはL1210とL1210-K7L⁻の両方に細胞傷害活性を示したが、L1210とH-2が同じP388細胞やL5178Y細胞には示さなかった。

T細胞クローンK4Lのin vivoにおける腫瘍の中和

Experiment	Cells injected ^a on day 0	E/T ratio	No. of tumor cells ($\times 10^{-4}$ /ml) in ascites ^b on			Survival times ^b (days)
			Day 5	Day 10	Day 15	
1	L1210 alone		960 (370)	D ^c		10, 10, 10
	L1210 + K4L	1	340 (170)	2827 (602)	D	12, 13, 14 ($P < 0.05$)
		5	<1	708 (609)	5 (4)	28, 33, >60 ($P < 0.05$)
		25	<1	<1	<1	39, >60, >60 ($P < 0.05$)
2	L1210 alone		997 (173)	2080	416	14, 14, 16
	L1210 + K4L	5	17 (15)	95 (83)	<1	22, >60, >60 ($P < 0.05$)
	L1210 + K7L	5	1 (0.6)	564 (320)	<1	>60, >60, >60 ($P < 0.05$)

K4LはE/T(K4L/L1210)=25で完全にL1210増殖を阻止し、E/T=5では一時的なL1210増殖を誘導したが、いずれのマウスも長期間生存した。

K4Lと共にL1210を投与されたマウスにおいて増殖したL1210 (L1210-K4L)のK4Lに対する感受性

Cells injected ^a on day 0	No. of tumor cells ($\times 10^{-4}$ /ml) in ascites ^b on		
	Day 5	Day 10	Day 15
L1210 alone	1348 (594)	D ^c	
L1210 + K4L	1 (0.5)	2666 (388)	1133 (1130)
L1210-K4L alone	3189 (131)	D	
L1210-K4L + K4L	3 (1)	2773 (431)	10 (9)

> $P < 0.001$

オリジナルなL1210とK4Lと共にL1210を投与されたマウスにおいて増殖したL1210 (L1210-K4L)のin vivoにおける増殖はK4Lによって同等に抑制された。K4Lの標的腫瘍抗原はL1210-K4LにもL1210-K7Lにも安定に発現している抗原である。

L1210はK7Lの標的腫瘍抗原AとK4Lの標的腫瘍抗原Bを発現しており、抗原A欠損変異細胞だけが生成する。



K4Lと共にL1210を投与されたマウスにおける強力なL1210特異免疫の立証

Cells injected ^a on		No. of tumor cells ($\times 10^4$ /ml) in ascites ^b on			Survival times ^d (days)
Day -77 (immunization)	Day 0 (challenge)	Day 5	Day 10	Day 15	
Nil	L1210	3893 (214)	D ^c		8, 8, 8, 8
	P388	4640 (882)	D		10, 10, 10, 10
L1210 + K4L	L1210	<1	<1	<1	30, >60, >60, >60
	P388	4480 (339)	D		8, 9, 9, 11
	L1210 + P388	3800 (740)	2960 (80)	D	11, 11, 12, 13

L1210 (10^5)とK4L (2×10^6)を77日前に投与されて生存したマウスは 10^7 のL1210の再投与に対して強力な免疫を誘起したが、p388腫瘍細胞に対してはできなかった。

K4Lと共にL1210を投与する前に抗L3T4(CD4)か抗Lyt-2(CD8)モノクローナル抗体を投与すると腫瘍を拒絶する免疫の誘導は阻止される

Antibody injected ^a on day - 2	Cells injected ^a on day 0	No. of L1210 cells ($\times 10^{-4}$ /ml) in ascites ^b on			Survival times ^b (days)
		Day 5	Day 10	Day 15	
Nil	L1210 alone	826 (62)	3400 (1046)	D ^c	10, 12, 13, 15
Nil	L1210 + K4L	37 (21)	1671 (570)	162 (159)	17, 23, >60, >60
Anti-L3T4	L1210 + K4L	53 (10)	D		10, 10, 10, 10
Anti-Lyt-2	L1210 + K4L	468 (110)	1040	D	10, 10, 10, 12

K4LとL1210によって強力な抗腫瘍免疫が誘導されるには宿主のヘルパーT細胞とキラーT細胞が必要であった。

3. T細胞クローンによる抗腫瘍免疫の誘導機構

Dynamics of generation of antigen loss variants from L1210 murine leukemia clones detected by a tumor-specific T cell clone

Fumihiko Nagase et al. Cancer Res. 47:6494 (1987)

腫瘍特異T細胞クローンによって検出されるL1210マウス白血病細胞からの抗原欠損変異株生成のダイナミクス

L1210サブクローン、L1210サブサブクローン、L1210K7L-変異細胞を生成しやすいサブクローンと生成しにくいサブクローン

初めにK7Lに感受性であったL1210クローンにおいて、短期間in vitroで継代した後K7Lと共にマウスに投与し一時的に増殖する活力は異なる

L1210 clones ^a	K7L	No. of L1210 ($\times 10^{-4}$ /ml) (mean \pm SE) ^b		
		Day ^c 5	Day 10	Day 15
L1210/1	-	1072 \pm 144	1624 \pm 66	564 \pm 557
	+	3 \pm 1	<1	2 \pm 1
L1210/2	-	2072 \pm 451	1016 \pm 363	D
	+	<1	1 \pm 0.6	1 \pm 0.5
L1210/4	-	3573 \pm 42	3168 \pm 432	D
	+	1 \pm 0.3	117 \pm 79	172 \pm 170
L1210/7	-	3600 \pm 336	2288 \pm 83	1008
	+	4 \pm 1	2027 \pm 1024	2 \pm 2

L1210/1とL1210/2: in vitroで18月間継代しても変異細胞の出現なし

L1210/7: 高い変異細胞の出現頻度、ただし変異細胞の割合は0.1%以下に維持

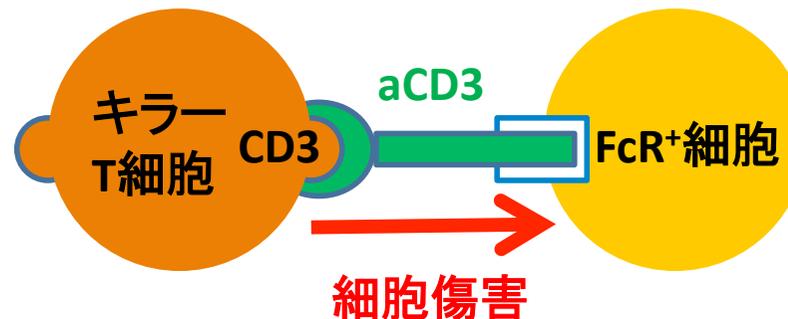
4. 抗CD3抗体によるFcR陽性細胞の調節

Down-regulation of T-cell proliferation in response to soluble anti-CD3 antibodies through development of redirected cytolytic activity

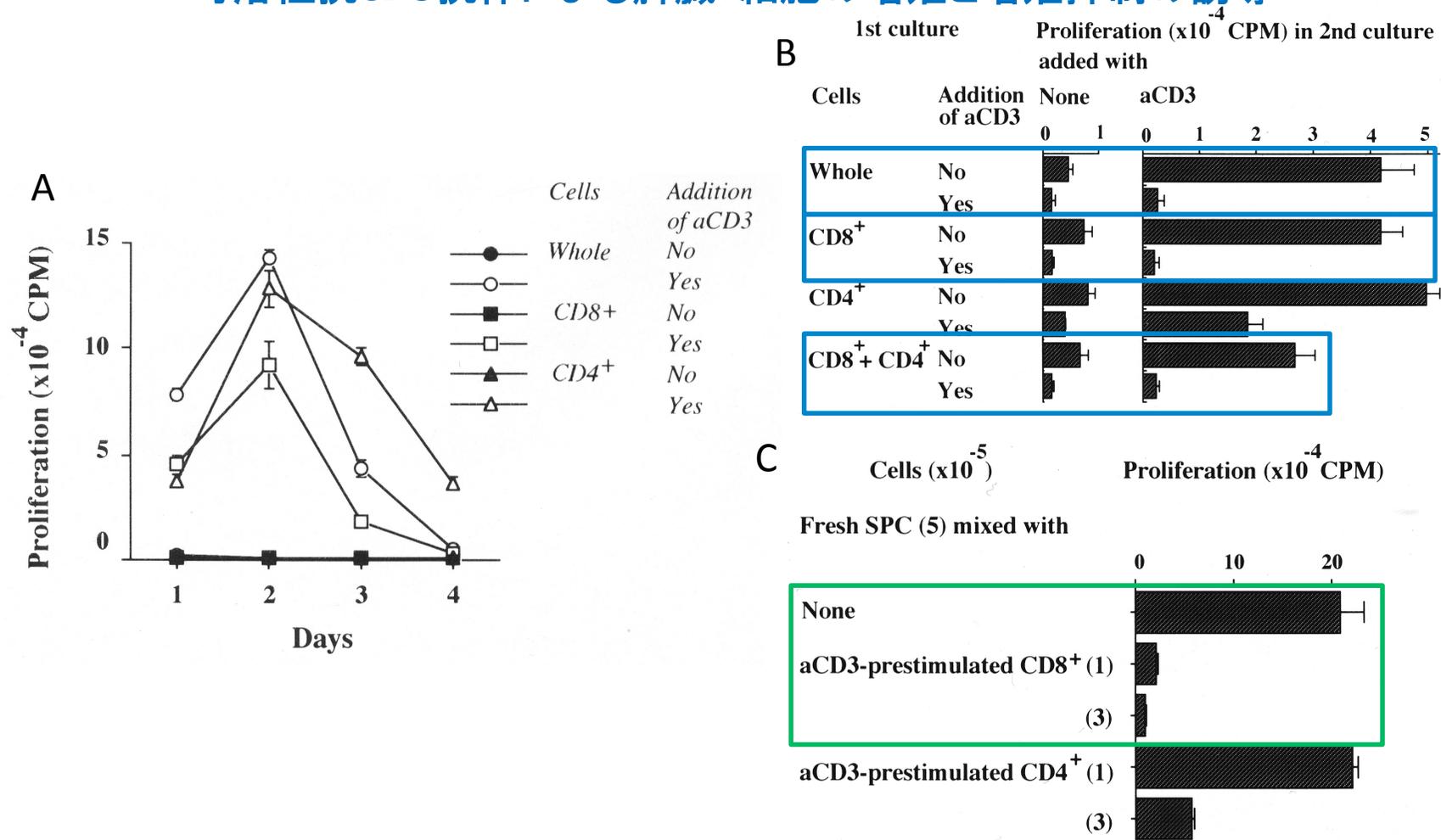
Tint Lwin et al. Microbiol. Immunol. 39:599 (1995)

可溶性抗CD3抗体に対する応答において逆方向の細胞傷害活性が展開されることによるT細胞増殖の抑制

可溶性抗CD3抗体、キラーT細胞 (CTL, $CD8^+$)、ヘルパーT細胞 ($CD4^+$)、Fcレセプター、逆方向 (redirected) の細胞傷害活性 (抗CD3抗体で架橋されたFcR⁺細胞に対するキラーT細胞による傷害活性)、抗原提示細胞 (APC)、共刺激細胞、マクロファージ、B細胞、免疫抑制、抗イデオタイプ抗体

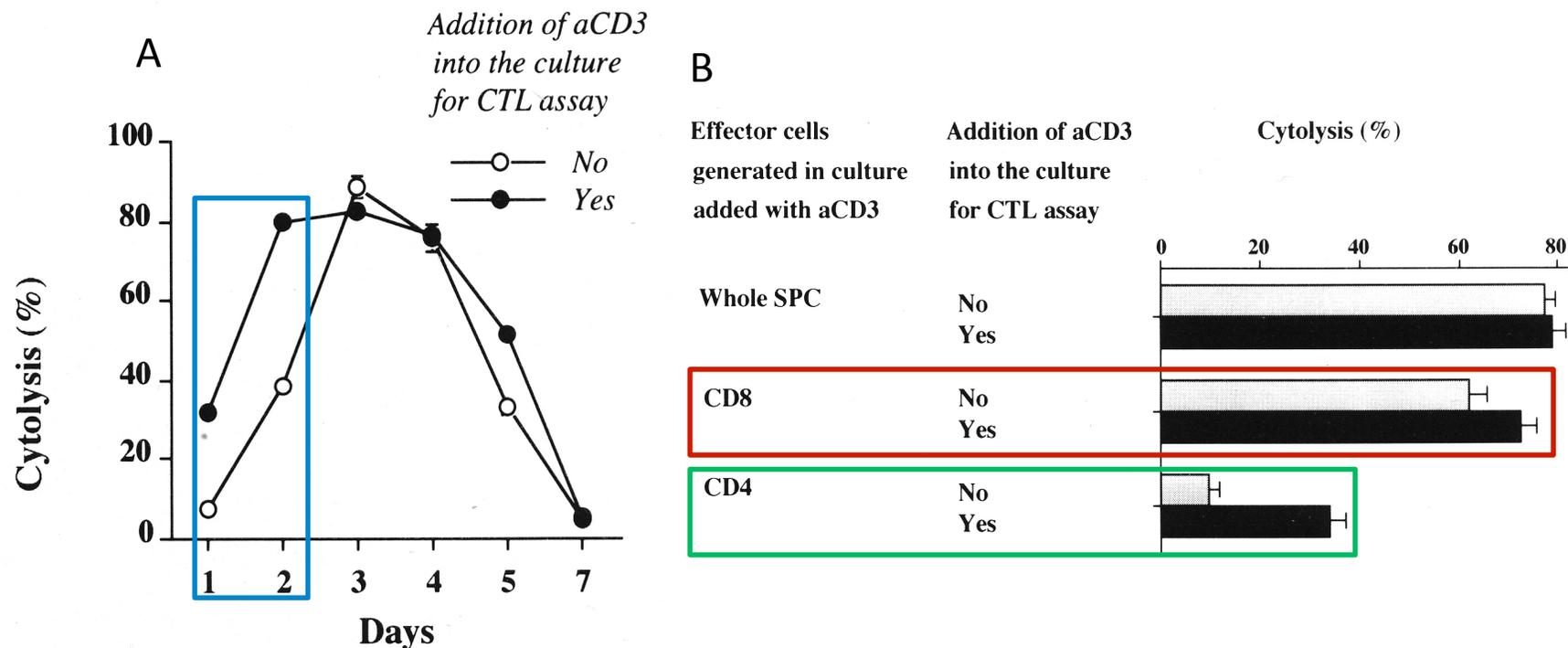


可溶性抗CD3抗体による脾臓T細胞の増殖と増殖抑制の誘導



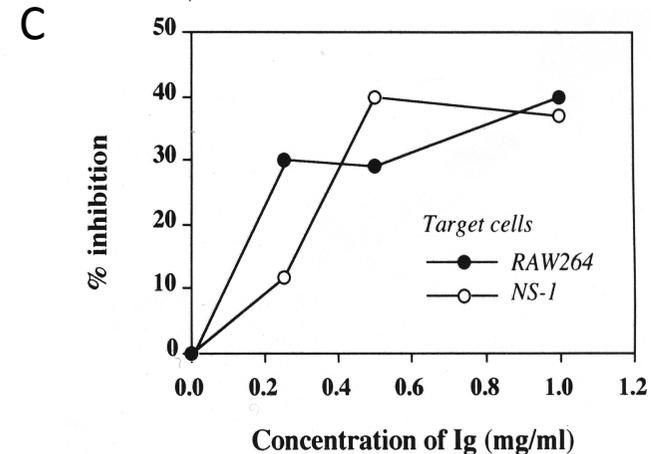
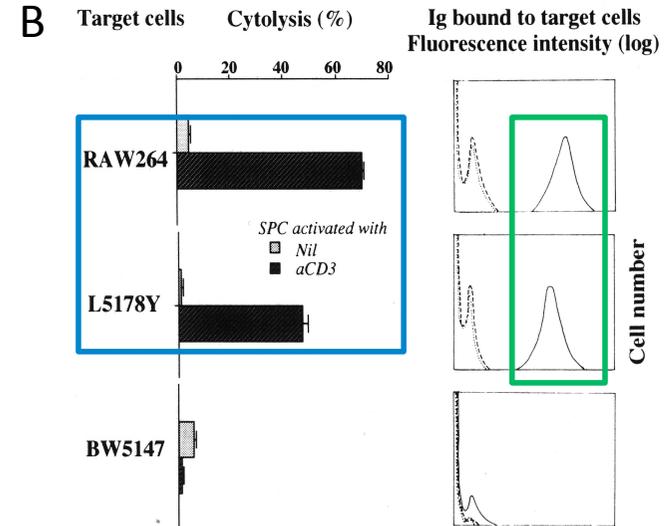
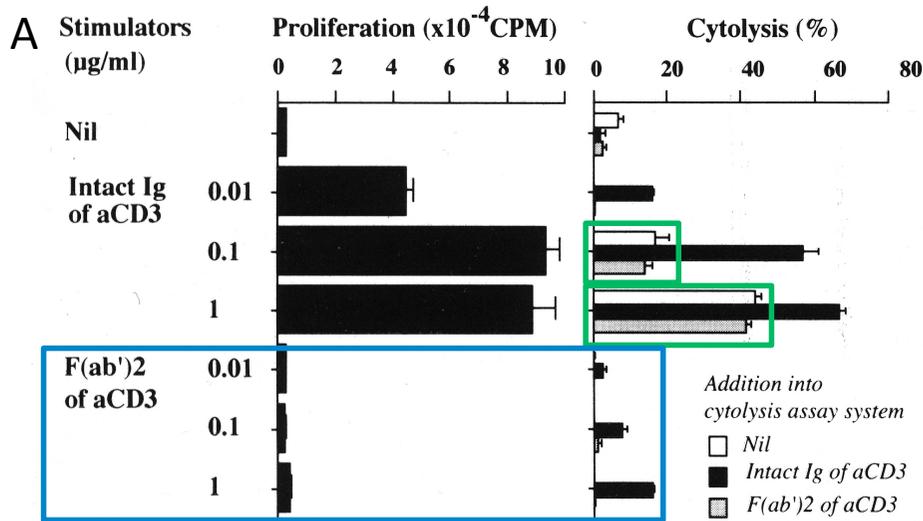
(A) 抗CD3抗体による全脾臓細胞、CD8⁺T細胞、CD4⁺T細胞の一次増殖の誘導、CD8⁺T細胞の増殖の減少は急激、(B, C)抗CD3抗体に応答して一度増殖したCD8⁺T細胞による(B) CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、(C)新鮮なT細胞の抗CD3抗体による増殖誘導の抑制

抗CD3抗体で刺激された脾臓細胞、CD8⁺T細胞、CD4⁺T細胞の細胞傷害活性



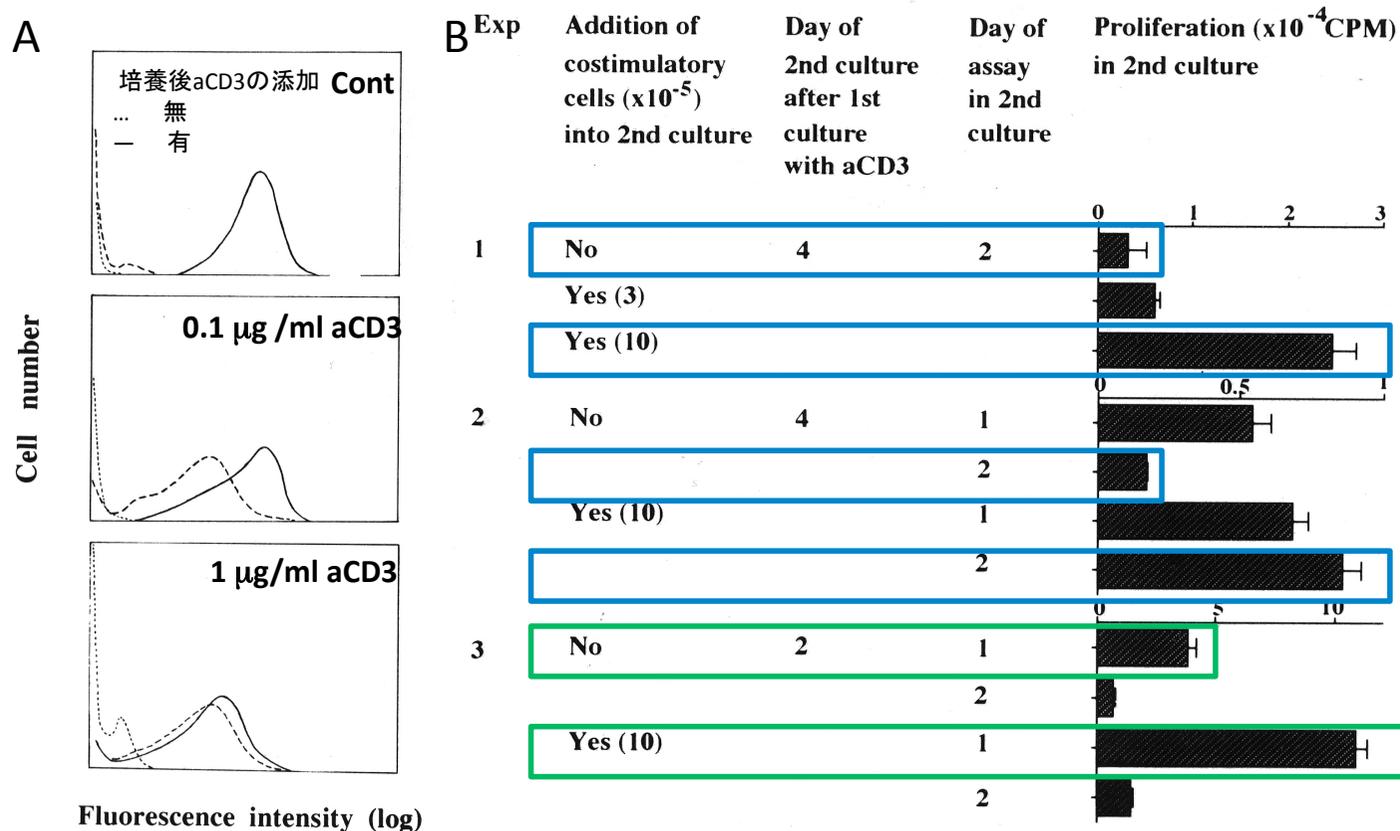
(A)抗CD3抗体で刺激された脾臓細胞のL5178Y細胞に対する細胞傷害活性の経時変化と(B)CD8⁺T細胞及びCD4⁺T細胞のL5178Y細胞に対する細胞傷害活性。CTL測定系に抗CD3抗体を添加すると、(A)細胞培養の初期と(B)CD8よりCD4陽性のT細胞で細胞傷害活性が増加した。

抗CD3抗体による細胞傷害活性の誘導はCD8⁺T細胞のCD3とFc陽性細胞が抗CD3抗体を介して架橋されることが必要である



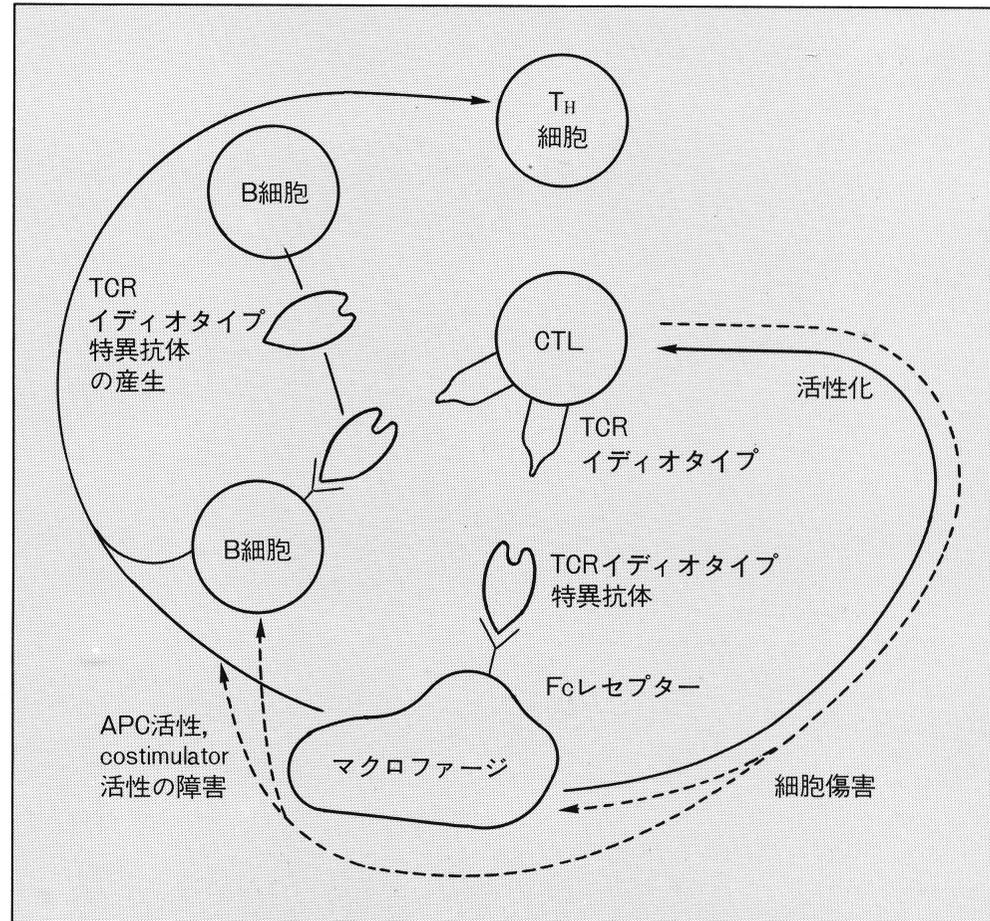
(A)抗CD3抗体の(Fab')₂は増殖応答の誘導も細胞傷害活性も誘導しないし、細胞傷害の測定系への添加による細胞傷害活性の増強もしなかった。細胞傷害活性には正常な抗CD3抗体が必要である。(B)CD8⁺T細胞の標的細胞として細胞傷害の感受性がある腫瘍細胞は加熱凝集マウスIgの結合性を示した。(C)抗CD3抗体で活性化されたCD8⁺T細胞の細胞傷害活性は過熱凝集マウスIgにより抑制された。

抗CD3抗体^{の再刺激}に対するT細胞増殖の新しい共刺激細胞添加による部分的な回復



(A)抗CD3抗体刺激によるT細胞のCD3発現の減少(実線)と抗CD3抗体のT細胞への結合(破線)、(B)二次培養に 10^6 の共刺激細胞を添加すると、一次と二次の培養間隔が4日間(Exp 1, 2)では二次培養の2日目、2日間(Exp 3)では二次培養の1日目に共刺激細胞の強い効果が示された。

抗体とCTLの共同による免疫抑制



抗CD3モノクローナル抗体を用いたモデル実験から抗イデオタイプ抗体がCTLと抗原提示細胞とをFcRを介して架橋して活性化し、その後FcR⁺のBリンパ球やマクロファージが活性化されたCTLと結合し傷害される。これによってThへのAPC活性、共刺激細胞活性が低下する。