

松本 恵 論文内容の要旨

主論文

Thymic myoid cell as a myasthenogenic antigen and antigen-presenting cells

胸腺筋様細胞の重症筋無力症惹起性と抗原提示能

松本 恵、松尾秀徳、岡 剛史、福留隆泰、
林 一彦、白石裕一、本村政勝、澁谷統壽、綾部公懿

Journal of Neuroimmunology May;150(1-2):80-87,2004

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻
(指導教授：永安 武 教授)

【緒言】

重症筋無力症（以下 MG）はニコチン性アセチルコリン受容体（以下 AChR）に対する自己抗体が神経筋接合部の AChR の減少を引き起こし神経筋伝達障害をおこす自己免疫疾患である。この自己抗体産生は T 細胞依存性と考えられており、どのようにして自己の AChR に感作されるかが自己免疫病発生の重要なステップだと考えられている。しかしこの免疫反応が神経筋接合部で行われている証拠はない。一方胸腺には AChR を表出した筋様細胞（以下 myoid cell）や胸腺上皮細胞、T 細胞や B 細胞などの免疫細胞、樹状細胞のような抗原提示細胞が存在し、AChR に対する免疫反応の引き金になる場所と考えられてきた。今回 myoid cell の重症筋無力症惹起性を確認するために rat thymic myoid cell を同種ラットの胸腺内注入・免疫を行い、抗 AChR 抗体を誘導できるか否かを観察した。加えて myoid cell が抗原提示細胞として機能するか否かについて検討した。

【材料と方法】

- 1) 細胞：Fisher rat の胸腺細胞から樹立された myoid cell line (ST1B) を用いた。この細胞表面には AChR が発現していることが確認されている。
- 2) myoid cell の注入：ST1B (5×10^6 または 1×10^7) をアジュバントとともに 1 回または 2-3 週毎に 3 回足底に免疫した。また ST1B を IFN- γ で処理した群と処理しない群に分け、それぞれ 1×10^6 または 5×10^6 ずつ直視下に Fisher rat (6 週齢, 雌) 胸腺に注入した。一部の rat では ST1B を実験的自己免疫性重症筋無力症（以下 EAMG）ラット血清やマイトマイシン C 処理後に注入した。上記各群において血中の抗 AChR 抗体価および胸腺の病理学的変化を観察した。

- 3) 抗原特異的 T 細胞ライン：抗原として *Narke Japonica* の電気器官から抽出精製した AChR、ミエリン塩基性蛋白(MBP)、Ovalbumin(OVA)、精製ツベルクリン (PPD) を用いた。それぞれの抗原をアジュバントとともに Fisher rat に免疫し所属リンパ節から細胞浮遊液を作成し、抗原刺激と増殖因子添加培養を繰り返すことで抗原特異的 T 細胞ラインを樹立した。
- 4) リンパ球幼若化反応：BrdU を用いた cell proliferation ELISA kit でアッセイを行った。
- 5) IFN- γ 産生：Proliferation assay の well から培養上清を採取し cytokine ELISA kit を用いて測定した。
- 6) 電気生理学的検索：EAMG 発症の有無について神経筋伝達障害について検討した。
- 7) 組織学的検索：myoid cell を注入した胸腺を摘出し HE 染色、一部は anti-desmin や anti-cytokeratin で免疫染色を行った。

【結果】

- 1) myoid cell 1×10^7 を 1 回免疫した群で低いながらも抗 AChR 抗体価が上昇し、myoid cell の繰り返し免疫群では全例で抗 AChR 抗体を誘導できた。しかし、これらの群でも EAMG 様症状（筋力低下や体重減少）は認められず、微小電極法でも神経筋伝達の障害は軽微で有意差はなかった。免疫後に摘出した胸腺の組織像は軽度の萎縮と胸腺周囲のリンパ節の腫脹を認めたが、胸腺の過形成や胚中心の形成は認めなかった。
- 2) myoid cell を胸腺内に直接注入した場合は EAMG の臨床症状は確認できず、抗 AChR 抗体価も上昇しなかった。移植後の胸腺内には横紋をもった筋組織を認めたが、MG で認められるような過形成や胚中心形成はなかった。一部では myoid cell が筋上皮細胞や Hassall 小体に分化していることが示唆された。
- 3) myoid cell が抗原提示細胞として外来抗原をそれぞれの抗原特異的 T 細胞に抗原提示できることが明らかとなった。また myoid cell はその表面に存在する内因性 AChR で AChR ペプチド特異的 T 細胞を活性化することはできなかったが、IFN- γ の産生を認めた。

【考察】

本研究により 1) myoid cell は抗原として免疫することで自己の AChR に対する抗体を誘導できること、2) myoid cell が胸腺内で増殖しただけでは抗 AChR 抗体や MG で見られるような胸腺異常は誘導されないこと、3) myoid cell は外来抗原を抗原提示し、T 細胞を活性化できることが明らかになった。従って myoid cell は抗 AChR 抗体を誘導する抗原性を持つが、myoid cell が増加しただけでは MG の原因とはならないと推察される。しかし一旦感作が成立すれば、そのクラス II 分子の発現と抗原提示能により myoid cell がこの疾患の発症に関与する可能性が示唆された。今後は MG での胸腺異常の発生機序について、胸腺内での末梢リンパ組織様構造形成の観点から検討する。