

## I型糖尿病モデル動物BB/Wer Ratの糖尿病発症におけるTリンパ球の関与

笹岡 知子

明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学

**要旨** : インスリン依存型糖尿病 (IDDM) は自己免疫疾患の1つである。過去において他の自己免疫疾患発症におけるTh1細胞の関与が報告されている。本実験ではIDDM発症におけるTh1細胞の役割をBB DR ラットを用いて検討した。

DR ラットに抗RT6.1抗体とpoly I:Cを併用投与するとIDDMが誘発できるが、加えてTh1抑制物質を投与したところ発症抑制傾向が見られた。これよりTh1細胞の発症における役割を細胞活性とサブセットの変化により検討した。その結果、DR ラットのIDDM発症においてTh1細胞の活性亢進が重要である可能性が推測された。

### I はじめに

ヒトI型糖尿病はインスリン依存型糖尿病 (IDDM) であり、若年性に好発し多尿、口渇、体重減少などの臨床症状を呈し、その治療にはインスリン療法を必要とするため血糖のコントロールは不良であることが多い。また後年、糖尿病性の合併症を併発する事が多いため、早急に解決を要する疾患である。IDDMを含む自己免疫疾患の発症機序については未だ不明な点が多いが、本疾患患者の膵島にはリンパ球の浸潤が認められ<sup>1)</sup>、末梢血中には抗膵島細胞抗体が高頻度に検出される<sup>2)</sup>。またIDDM発症早期にサイクロスポリンを投与しT細胞の活性化を抑えると糖尿病の進展が抑制されることより<sup>3)</sup>、本疾患の病因としてT細胞の活性化の関与が推定されている。その発症の主な機序として胸腺における自己反応性T細胞の除去不全と、末梢での自己反応性T細胞の抑制性T細胞による抑制の不全により、自己反応性T細胞の活性化が誘導されたと考えられる。この自己

反応性T細胞の活性化に深く関与しているのがヘルパーT (Th) 細胞で、 $\gamma$ -IFNおよびIL-2を分泌するTh1と、IL-4、IL-10を分泌するTh2の2つのタイプがあり、IDDMでは膵臓にTh1細胞の浸潤が見られている<sup>1)</sup>。ラットにおいてCD45RC陽性Th細胞は主として細胞性免疫に関与し $\gamma$ -IFN、IL-2を分泌する。また、CD45RC陰性Th細胞は主として液性免疫に関与しIL-4を分泌することより<sup>4)</sup>、本研究では、産生するサイトカインによりCD45RC (OX22) 陽性Th細胞をTh1細胞の指標とした。

IDDMのモデル動物としては1977年にカナダで開発されたBio-Breeding (BB) ラットが広く用いられている<sup>5)</sup>。BBラットにはIDDMを自然発症するDiabetes Prone (DP) と、自然発症はしないが潜在的にIDDMを発症する素因を持つDiabetes Resistant (DR) がある。DPラットではTリンパ球サブセットの欠損があり<sup>6)</sup>、IDDMの発症前より膵島にはリンパ球の浸潤や、血液中に

**Key Words** : インスリン依存型糖尿病 Insulin dependent diabetes mellitus, 自己免疫疾患 autoimmune disease, Tヘルパー1細胞 T helper 1 cell, BB DR ラット BB DR rat

抗膵島細胞抗体の出現が認められ、若齢未発症 DP ラットに急性期糖尿病ラットのリンパ球を移入することにより疾病を誘発し得る<sup>7)</sup>。また、新生児胸腺摘除にて IDDM 発症が防止されることにより<sup>8)</sup>、DP ラットの IDDM 発症に自己免疫が関与していると考えられている。一方、DR ラットでは IDDM を自然発症することはほとんど無く、リンパ球サブセットの欠損も認められないが、免疫抑制剤の投与や、軽度の X 線照射により DP ラットと同様の IDDM の発症を誘発する事ができる<sup>9)</sup>。また、Tリンパ球サブセットに発現する膜表面分子 (RT6.1) に特異的モノクローナル抗体 (DS4.23) の投与により T 細胞サブセットの一部 (RT6.1 陽性 T 細胞) を除去すると同時にインターフェロン誘導剤である poly I:C を投与すると、DR ラットは IDDM を発症する<sup>10)</sup>。このことから、DR ラットには自己反応性 T 細胞が存在し、通常はこれに対して RT6.1 陽性 T 細胞が抑制的に働いているが、抗 RT6.1 抗体及び poly I:C の投与によって抑制の解除と自己反応性 T 細胞の活性化が起こり IDDM が発症することが推測された。そこで、抗 RT6.1 抗体及び poly I:C 投与による DR ラットでの IDDM 発症系を用いて自己免疫糖尿病の発症に対する Th1 細胞の関与を検討した。

本研究では DR ラットにおいて、抗 RT6.1 抗体及び poly I:C 投与に加え Th1 細胞抑制物質である Pentoxifylline<sup>11)</sup> を投与することにより、糖尿病発症の抑制が認められた。また DR ラットへの抗 RT6.1 抗体投与により脾細胞における *in vitro* Con A 刺激による  $\gamma$ -IFN 産生能の増強が認められ、Th1 細胞の反応性の亢進が示唆された。これらの結果から、DR ラットでの IDDM 発症における Th1 細胞の関与が強く示唆されたのでここに報告する。

## II 材料及び方法

### 1. 動物

BB DR ラットはシオノギ製薬株式会社油日ラボラトリーズにて Specific Pathogen Free (SPF) 条件下で 30 日令まで飼育したものをを用いた。本学

動物舎クリーンラック内にて室温は 23~25°C、明暗周期は 12 時間 (明期は午前 7 時~午後 7 時) で飼育した。飼育中は滅菌飼料と酸性水 (pH 2.0) を自由に摂取させた。

### 2. 抗体及び薬剤

#### (1) 抗 RT6.1 抗体

抗 RT6.1 モノクローナル抗体産生 cell line (DS4.23) はマサチューセッツ大学のロッシェニ博士より供与されたものをを用いた。DS4.23 細胞は、5% FCS, 2 mL-gultamate, penicillin (50U/ml), streptomycin (50  $\mu$ g/ml) 添加 RPMI1640 培地にて 3 日間、5% CO<sub>2</sub> 条件下で培養し、その培養上清を実験に使用した。

#### (2) 抗 CD4 抗体, 抗 CD45R 抗体

フローサイトメトリー用抗体として、Phycoerythrin (PE) 標識抗 CD4 抗体 <W3/25> (serotec 社) および、Fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識抗 CD45RC 抗体 <OX22><sup>12)</sup> (serotec 社) を使用した。

### 3. 抗 RT6.1 抗体及び poly I:C の併用による BB

#### DR ラットの糖尿病誘発実験

BB ラットの自己免疫疾患発症においては環境からの影響も大きな要素であり、感染症による影響についても報告されているため<sup>13)</sup>、本学動物舎クリーンラック内でも DR ラットに抗 RT6.1 抗体及び poly I:C 併用投与により既知の通り糖尿病発症率を示すかを検討するために本実験を行った。30 日令 DR ラットを抗 RT6.1 抗体単独投与群 (n=10), poly I:C 単独投与群 (n=10), 抗 RT6.1 抗体及び poly I:C 併用投与群 (n=18) に分け、抗 RT6.1 抗体は 4 ml/ラット, poly I:C (sigma 社) は 500  $\mu$ g/kg Body Weight で、各群 1 週間に 3 回隔日で腹腔内投与を行い 60 日令まで観察し、その間随時尿糖と血糖の測定により糖尿病発症の確認を行い、屠殺後膵を組織学的に検討した。糖尿病発症及び膵島炎の判定方法については下に示す通りに行った。

### 6. Th1 細胞抑制物質 : Pentoxifylline 投与による IDDM 発症抑制実験

30 日令 DR ラットに抗 RT6.1 抗体は 4 ml/ラッ

ト, poly I:Cは500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Body Weightで実験群 ( $n=7$ ), コントロール群 ( $n=9$ ) 共に1週間に3回隔日で腹腔内投与を行い, 実験群にはPentoxifyllineを1.8mg/g滅菌固型飼料に含有させたものを飼育期間中与え60日令まで観察を行った. その間週3回の尿糖および血糖の測定で糖尿病の確認を行い, 屠殺後脾を組織学的に検討した.

#### 5. 抗RT6.1抗体投与によるDRラット脾細胞の $\gamma$ -IFN産生能への影響

30日令DRラットに抗RT6.1抗体は4ml/ラットで腹腔内投与しエーテル麻酔にて屠殺後, 無菌的に脾臓を摘出し金属メッシュ上にて単細胞化した. Ficoll-paque (Pharmacia Biotech社)にて200G, 20分間, 常温にて遠心分離した後Ficoll-paqueと溶液の境界面(リンパ球分画)を取り出し, 10%FCS加RPMI 1640溶液にて150G, 5分間, 4°Cで3回洗浄した. その後細胞は $5 \times 10^6$ 個/mlに調整し, 同溶液にて細胞浮遊液を作成した. 6穴平底プレート(Nunc社)に脾細胞浮遊液を $1 \times 10^6$ 個/2ml/wellで分注し, 実験群( $n=3$ )とコントロール群( $n=3$ )各個体6wellずつ作製し, Concanavalin Aを2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ および5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ の各濃度を添加し, 37°C, 5%CO<sub>2</sub>条件下で24時間培養した. その後, 培養上清と, 標準曲線用スタンダード・ラットインターフェロンをRat Interferon Gamma ELISA test kit (GIBCO社)のanti-rat IFN固相済み96wellプレートに各150  $\mu\text{l}/\text{well}$  duplicateで加え37°Cで1時間反応させた. 緩衝液にて3回洗浄した後, ビオチン標識抗ラットIFNとアルカリ性-ストレプトアビジン フォスファターゼを1時間前より室温にて混和しておき, それを100  $\mu\text{l}/\text{well}$ 加え37°Cで1時間反応させた. 緩衝液にて3回洗浄後, 基質であるPNPP溶液を100  $\mu\text{l}/\text{well}$ 加え37°Cで遮光にて反応させた. 反応開始30分から以降30分置きに, Micro Plate Reader MPR A4 (TOSHO社)で415nmの波長にて計測を行った. スタンダード・ラットインターフェロン $1 \times 10^4$  pg/ml濃度の値が1.0~2.0の間に入ったら, 3M NaOHを30  $\mu\text{l}/\text{well}$ 加え, 再度415nmで測定し

値とした. 尚, 測定した6穴の平均値をその検体の値として用いた.

#### 4. 抗RT6.1抗体投与によるCD45RC陽性Th細胞ポピュレーションの検討

poly I:Cのみの投与ではT細胞サブセットはほとんど影響されないが<sup>13)</sup>, 抗RT6.1抗体のみの投与でTh1細胞ポピュレーションに影響があるのかを検討した. 30日令DRラット( $n=3$ )に抗RT6.1抗体を4ml/ラットで3日間腹腔内投与した後エーテル麻酔にて屠殺し, 頸部リンパ節を摘出し金属メッシュ上にて単細胞化した. 10%FCS加RPMI1640溶液にて150G, 5分間, 4°Cで1回洗浄後,  $1 \times 10^7$ 個/mlに調整し同溶液にて細胞浮遊液を作成した. 100  $\mu\text{l}$ の細胞浮遊液を順次, PE標識抗CD4抗体, FITC標識抗CD45R抗体の各標識抗体10  $\mu\text{l}/\text{チューブ}$  (Falcon社)と混和し, 30分間遮光にて反応させた. 尚, PE標識抗CD4抗体, FITC標識抗CD45R抗体の2重染色を行った. 細胞の取り込み及び解析はFACScan (ベクトン・デッキンソン社)と, 解析用プログラム Consort 30にて行った.

#### 7. 糖尿病発症の確認

全ての実験における糖尿病の判定は, 尿糖は尿糖検査紙テストテープ(シオノギリリー製), 血糖はグルコースオキシターゼ法にて行い, 尿糖(+++)以上, かつ血糖が200mg/dlをもって発症とした.

#### 8. 脾島炎の確認

脾島炎については屠殺後脾臓を摘出し, 20%ホルマリンにて3日間固定後, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%アルコールで各8時間づつ低濃度から脱水を行った. キシレン(40分)で透徹を行い, その後恒温室内(60°C)にて軟パラフィン(2時間), 硬パラフィン(4時間)で置換した後, 硬パラフィンにて包埋した. その後, ユング式ミクロトームにて3  $\mu\text{m}$ に薄切し卵白グリセリンを混ぜた蒸留水に浮かせ伸展させながらスライドガラスに貼付し乾燥させた. 脱パラフィンはキシレン(30分)→100%→95%→90%→80%→70%アルコール(各5分)→流水にさらす(30分)と, 行った.

その後、Hematoxylin・Eosin染色を行った。膵島周囲にリンパ球の浸潤があるものから膵島細胞の破壊が見られるものまでを陽性とした。

9. 結果の有意差検定には、二者非対応型t検定法を用いた。

### III 結 果

#### 1. BB DR ラットへの抗RT6.1抗体及びpoly I:Cの併用投与によるIDDM誘発

BB DR ラットに抗RT6.1抗体とpoly I:Cを併用投与し、本学動物舎クリーンラック内においても既知の報告<sup>10)</sup>と同様にIDDMの発症が認められるか検討した。表1に示すとおり、抗RT6.1抗体とpoly I:Cの併用投与群では18例中9例(50%)にIDDMの発症が見られた。抗RT6.1抗体またはpoly I:Cの単独投与では10例中0例(0%)であった。膵島炎発現においても、併用投与群では67%(18例中12例)に発現を認めたが、単独投与群ではいずれも0%(10例中0例)であった。よって本学動物舎クリーンラック内で抗RT6.1及びpoly I:C投与によるIDDM誘発の再現が確認できた。

#### 2. Th1細胞活性抑制物質：Pentoxifylline投与によるIDDM発症抑制

DRラットのIDDM発症誘導におけるTh1細胞の役割を、Th1細胞活性抑制物質であるPentoxi-

表1 BB DR ラットへの抗RT6.1抗体およびpoly I:C併用投与による糖尿病誘発

抗RT6.1抗体+poly I:C併用によるBB DR ラットでの糖尿病発症：30日令BB DR ラットに対し抗RT6.1抗体単独投与、poly I:C単独投与、抗RT6.1抗体+poly I:C併用投与を行い、各群における糖尿病発症の有無を観察した。

匹(%)

	n	diabetes	insulinitis
抗RT6.1抗体のみ	10	0(0%)	0(0%)
poly I:Cのみ	10	0(0%)	0(0%)
抗RT6.1抗体+poly I:C	18	9(50%)	12(67%)

表2 Pentoxifyllineの糖尿病発症に及ぼす影響

Pentoxifyllineの糖尿病発症に及ぼす影響：RT6.1抗体+poly I:C併用投与に加えTh1抑制物質であるPentoxifyllineを経口摂取させた時の糖尿病発症率の変化を示した。

匹(%)

	anti-RT6.1+poly I:C	anti-RT6.1+poly I:C+POX
diabetes	4(44.4%)	2(28.5%)
insulinitis	6(66.6%)	2(28.5%)
total	9	7

fyllineを用いて検討した。抗RT6.1抗体及びpoly I:C投与に加えPentoxifyllineを経口投与して発症抑制が見られるか観察したところ、表2の通り、コントロール群での9例中4例(44.4%)のIDDM発症に比し、実験群では7例中2例(28.6%)と発症抑制を認めた。また膵島炎発現もコントロール群の9例中6例(66.6%)に比し実験群では7例中2例(28.6%)と少なかった。IDDM発症率及び膵島炎発現率においてPentoxifyllineによる抑制傾向が見られたので、Th1細胞がIDDM発症に対して重要な役割を担っていることが推測された。

#### 3. 抗RT6.1抗体投与DRラット脾細胞のin vitroの $\gamma$ -IFN産生能

DRラットのIDDM発症においてTh1細胞の促進的働きが示唆されたため、抗RT6.1抗体投与時のTh1細胞活性を脾細胞を用いてConA刺激 $\gamma$ -IFN産生を指標に検討した。図1に示す通り、ConA 2 $\mu$ g/mlの刺激ではコントロール群の $\gamma$ -IFN産生能は $(1.23 \pm 0.38) \times 10^3$  pg/mlに比し実験群では $(5.94 \pm 0.25) \times 10^3$  pg/mlと有意に高値を示した( $P < 0.001$ )。ConA 5 $\mu$ g/mlの刺激ではコントロール群の $(2.66 \pm 0.31) \times 10^3$  pg/mlに比し実験群では $(8.06 \pm 0.25) \times 10^3$  pg/mlで、ConAの用量に依存して $\gamma$ -IFN産生量は両群共に上昇した。また、実験群での $\gamma$ -IFN産生能はコントロール群に比して高値を示していた( $P < 0.001$ )。これらの結果は、抗RT6.1抗体投

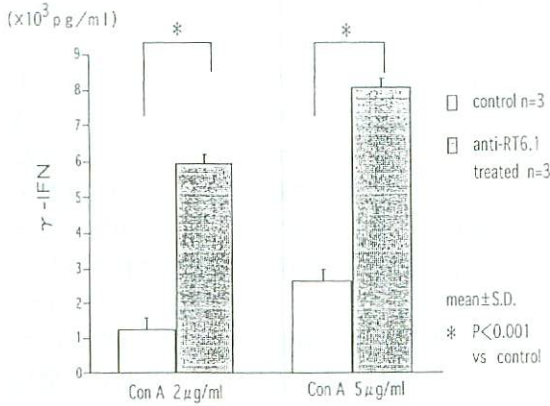


図1 Concanavalin A stimulated interferon-γ production from splenic cells

Concanavalin A stimulated interferon-γ production from splenic cells : 抗RT6.1抗体投与DRラットの脾細胞をin vitroでCon A刺激した時の、γ-IFN産生量を示した。

与によるT細胞サブセットの除去が、Th1細胞の反応性の亢進に何らかの影響を与えたものと考えられる。

4. 抗RT6.1抗体投与によるT細胞サブセットの変化

IDDMの発症にTh1細胞の関与が考えられたため、抗RT6.1抗体投与により、どのT細胞サブセットに変化がみられるかをTh1細胞の指標と考えられている、抗CD45R抗体を用いて検討した<sup>4)</sup>。また、結果の数値は各群内の平均値を用いた。図2に示す通りCD4陽性CD45R陽性T細胞は、対照群の25.75%に比べ抗RT6.1抗体の投与により7.95%へと減少した。CD4陽性CD45R陰性T細胞は対照群の19.05%に比べ抗RT6.1抗体の投与により23.21%へと相対的増加を示した。CD4陰性CD45R陽性T細胞は、対照群の55.95%に比べ抗RT6.1抗体の投与により68.39%へと増加した。Th1細胞としてCD4陽性CD45R陽性T

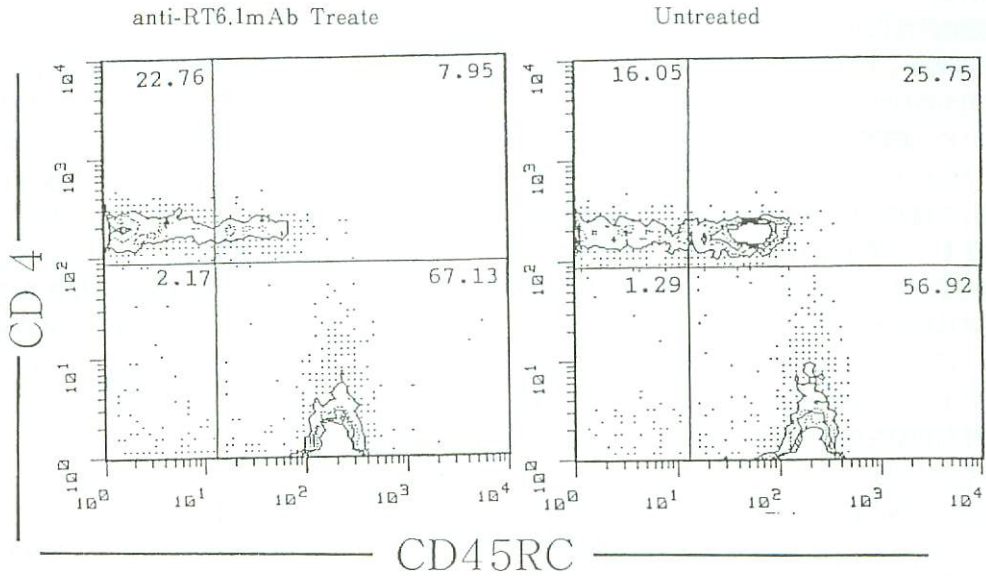


図2 Flow Cytometric Analysis of Lymph Node Cells

Flow Cytometric Analysis of Lymphnode Cells : 抗RT6.1抗体+polyI:C併用投与を行い糖尿病発症を認めた群と非投与群でのCD45R陽性CD4陽性T細胞サブセットの変化を、頸部リンパ節細胞を用いて解析した。

細胞が言われているが、抗体投与により CD4 陽性 CD45R 陽性 T 細胞は減少した。

#### IV 考 察

今回、本学動物舎クリーンラック内においても DR ラットに抗 RT6.1 抗体及び poly I:C を併用することによって自己免疫糖尿病を誘発できることが確認された。抗 RT6.1 抗体及び poly I:C の併用投与による発症では、RT6.1 陽性 T 細胞の除去により自己免疫反応抑制性 T 細胞が減少し、加えて poly I:C による免疫の賦活化、特に IFN の産生誘導による自己反応性 T 細胞の活性化が起こって発症すると考えられる。そこで自己反応性 T 細胞の活性化に Th1 細胞が関与しているか否か検討するため Th1 細胞の活性抑制剤である pentoxifylline を投与した結果、IDDM の発症率が減少した。また抗 RT6.1 抗体投与 DR ラット脾細胞を用いて  $\gamma$ -IFN 産生能を指標に Th1 細胞活性を検討したところ、無処置群の  $\gamma$ -IFN 産生能に対し活性は有意に上昇していた。これらのことより Th1 細胞の活性化が自己反応性 T 細胞による IDDM の発症に関与している可能性が強く示唆された。Th1 細胞が活性化されると、 $\gamma$ -IFN、IL-2 が分泌されるため、細胞障害性 T 細胞やナチュラルキラー (NK) 細胞が活性化されると考えられる。現在までの報告では BB ラットでは NK 細胞が膵島細胞障害性をもつと考えられ<sup>15)</sup>、別のヒト IDDM モデル動物である NOD マウスでは、細胞障害性 T 細胞が膵島細胞へのエフェクター細胞である<sup>16)</sup>。よって、活性化された Th1 細胞より分泌されたサイトカインがこれらのエフェクター細胞を活性化して膵島細胞を傷害し、その結果として IDDM を発症したと推測できる。

抗 RT6.1 抗体の投与による CD45RC 細胞ポピュレーションの変化を検討したところ Th1 細胞サブセットと考えられる CD4 陽性 CD45RC 陽性 T 細胞は約 3 分の 1 の割合にまで減少していた。このことは先に述べたような  $\gamma$ -IFN 産生能の結果から考えると CD4 陽性 CD45RC 陰性細胞の 1 部が  $\gamma$ -IFN 産生細胞である可能性、CD4 陽性 CD45RC

陰性細胞の中に  $\gamma$ -IFN 産生を負に調節する細胞が存在する可能性が推測される。

現在まで、関節リュウマチ、多発性硬化症、I 型糖尿病、SLE 患者の末梢血中で、Th2 細胞が減少していることが報告されている<sup>17, 18, 19, 20)</sup>。また PVG ラットを用いた実験においても RT6.1 陽性・CD4 陽性・CD45RC 陰性細胞 (Th2) の移入による自己免疫糖尿病の発症防止が報告されている<sup>21)</sup>。BB ラットにおいて同様の報告はされていないが、おそらく類似の Th2 細胞が IL-4、IL-10 を介して Th1 細胞を抑制することにより<sup>22)</sup> IDDM の発症防止機序が推定され、この細胞が抗 RT6.1 抗体の投与によって除去されることが IDDM 発症に関与することが推測される。しかし、DR ラットの IDDM 発症には Th2 の関与が考えられるが、直接 Th2 細胞の役割を示す結果は得られていない。

インターフェロン誘導剤である poly I:C の投与は、抗 RT6.1 抗体の投与にてある程度活性化されていた Th1 細胞をさらに活性化させたと考えられ、この活性化が DR ラットに IDDM を最終的に誘導したと思われる。今日まで自己免疫糖尿病の発症に関して、ウィルス感染症の関与が常に議論されており、実際、ヒト IDDM 患者の膵島内にウィルス感染を発見したとの報告もあるが<sup>23)</sup>、IDDM 発症とウィルス感染の関係については、まだ明確な説明はされていない。今回、インターフェロンが Th1 細胞を活性化させている可能性も推測され、ウィルス感染により誘発されたインターフェロンが Th1 細胞の活性化において、IDDM の発症に何らかの関与をしている可能性も示唆された。

#### V ま と め

今回、DR ラットを用いて IDDM 発症におけるヘルパー T 細胞の関与を検討した結果、1) 抗 RT6.1 抗体及び poly I:C 投与による IDDM 誘発実験系に Th1 抑制物質を併用投与すると発症抑制傾向が見られた。2) RT6.1 陽性 T 細胞除去 DR ラット脾細胞では *in vitro*  $\gamma$ -IFN 産生能は

上昇していた。3) 抗RT6.1抗体投与によりCD4陽性CD45R陽性T細胞(Th1)は減少した。以上のことより、DRラットのIDDM発症においてTh1細胞の活性化が深く関与している可能性が示唆された。

## VI 謝 辞

本研究を行うにあたり、終始御懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました明治鍼灸大学内科学教室 中村直登教授に深謝いたします。

また、終始御指導頂きました明治鍼灸大学免疫・微生物学教室 雨貝孝教授、に深謝いたします。

研究の過程において、有益な御助言を賜りました明治鍼灸大学免疫・微生物学教室助手 糸井マナミ先生に厚く感謝いたします。

I型糖尿病モデル動物〈BB DRラット〉を供与していただいた、塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ 中尾博之博士、牧野進博士に感謝いたします。

## VII 参考文献

- 1) Gepts W : Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*, **14** : 619~623, 1965.
- 2) Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Donoach D : Islet antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*, **2** : 1279~1282, 1974.
- 3) Bougneres PF, Carel JC, Casutano L, et al : Factors associated with early remission of type I diabetes in children treated with cyclosporine. *N. Engl. J. Med.* **318** : 663~670, 1988.
- 4) Mason D, Powrie F : Memory CD4+ T cells in man form two distinct subpopulations, defined by their expression of the leucocyte common antigen, CD45. *Immunology*. **70** : 427~433, 1990.
- 5) Nakhoda A F, Like A A, Chappel C I, et al : The spontaneously diabetic Wistar rat.: Metabolic and morphologic studies. *Diabetes*, **26** : 100~112, 1977.
- 6) Woda B A, Padden C : Bio-Breeding/worcester (BB/Wor) rats are deficient in the generation of functional cytotoxic T cells. *J. Immunol.* **139** : 1514~1517, 1987.
- 7) Koevary S, Rossini A A, Stiller W, et al : Passive transfer of diabetes in the BB/W rats. *Science*, **220** : 727~728, 1983.
- 8) Like A A, Kislauskis E, Rossini A A, et al : Neonatal thymectomy prevents spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. *Science*. **216** : 644~646, 1982.
- 9) Handler E S, Mordes J P, McKeever U, et al : Effect of irradiation on diabetes in the BB/W rat. *Autoimmunity*, **4** : 21~30, 1989.
- 10) Nakamura N, Tsutsumi Y, Kimata S, et al : Induction of diabetes by polyI:C and anti-RT6.1 antibody treatment in DR-BB rats. *Endocrinol Japon*, **38** : 523~526, 1991.
- 11) Rott O, Cash Evelyne, Fleischer B : Phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline, a selective suppressor of T helper type 1- but not type 2-associated lymphokine production, prevents induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. *Eur. J. Immunol.* **23** : 1745~1751, 1993.
- 12) McCall M N, Shotton D M, Barclay A N : Expression of soluble isoforms of rat CD45. Analysis by electron microscopy and use in epitope mapping of anti-CD45R monoclonal antibodies. *Immunology*. **76** : 310~317, 1992.
- 13) Guberski D L, Thomas V A, Shekw R, et al : Induction of type I diabetes by kilham's rat virus in diabetes-resistant BB/Wor rats. *Science*, **254** : 1010~1013, 1991.
- 14) Thomas V A, Woda B A, Handler E S, et al : Altered expression of Diabetes in BB/Wor rats by exposure to viral pathogens. *Diabetes*. **40** : 255~258, 1991.
- 15) Nakamura N, Woda B, Taffuri A, et al : Intrinsic cytotoxicity of Natural Killer cells to pancreatic islets in vitro. *Diabetes*, **39** : 1990.
- 16) Bach J F : Mechanisms of autoimmunity in insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin. Exp. Immunol.* **72** : 1~8, 1988.
- 17) Emery P, Gentry K C, McKay I R, et al : Deficiency of the suppressor inducer subset of T lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **30** : 849~856, 1987.
- 18) Rose L M, Ginsberg A H, Rothstein T L, et al : Selective loss of a subset of T helper cells in active multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82** : 7389~7393, 1985.
- 19) Faustman D, Eisenbarth G, Daley J, et al

- : Abnormal T lymphocyte subsets in type-1 diabetes. *Diabetes*. **38** : 1462~1468, 1989.
- 20) Mimura T, Fersten P, Jarjour W, et al : Autoantibodies specific for different isoforms of CD45 in systemic lupus erythematosus. *J. Exp. Med.* **172** : 653~662, 1990.
- 21) Fowell D, Mason D : Evidence that the T cell repertoire of Normal rats contains cells with the potential to cause diabetes. Characterization of the CD4+ T cell subset that inhibits this autoimmune potential. *J. Exp. Med.* **177** : 627~636, 1993.
- 22) Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR, et al : Two types of mouse helper T cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J. Exp. Med.* **170** : 2081~2090, 1989.
- 23) Yoon JW, Austin M, Onodera T, et al : Virus-induced diabetes mellitus : Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N. Engl. J. Med.* **300** : 117~124, 1979.

### Role of T Lymphocyte in the Development of Diabetes in type-1 Diabetes Model BB/wor Rats.

SASAOKA Tomoko

*Department of Internal Medicine, Meiji College of Oriental Medicine.*

**Summary:** Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) has been supposed to have autoimmune pathogenesis. It has been reported that TH1 cells play important role to develop autoimmunity in the other autoimmune disease. Therefore, we studied the role of TH1 cells in the development of IDDM in BB DR rats. Depletion of RT6 positive cells by anti-RT6 antibody and administration of poly I:C induced IDDM in BB DR rats, but concomitant administration of pentoxiphylline, which suppress activity of TH1 cells, reduced incidence of diabetes and insulinitis. In this study, we investigated the activity of TH1 cells and proportion of CD45 positive cells. As a conclusion, it is suspected that the activation of TH1 cells might be an important factor to induce IDDM in BB DR rats.