

医研第325号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Requirements for the functional expression of OX40 ligand on human
activated CD4⁺ and CD8⁺ T cells.

(ヒト活性化 CD4⁺ 及び CD8⁺ T 細胞上の機能的 OX40 ligand 発現の必要条件)

氏名 近藤 佳代



[背景] 抗原特異的T細胞が外来微生物に対して生体防御応答を実行するには、抗原受容体で抗原提示細胞(APC)上の抗原ペプチドを認識する事、そしてAPCから補助刺激を受ける事が必要である。T細胞上で補助刺激に関与する分子として、免疫グロブリンスーパーファミリーのCD28やICOSの他に、TNFRスーパーファミリーのOX40や4-1BBの重要性が知られている。OX40は活性化T細胞に発現し、その特異的リガンドはOX40Lであり、OX40を介するシグナルはT細胞の分化や接着等に関与する。一方、OX40LはAPCである樹状細胞やB細胞の他にも肥満細胞、血管内皮細胞に発現する事が報告されている。これまで、環境によってはT細胞にもOX40Lが発現する事がヒトやマウスの系で報告され、T-T細胞間でのOX40/OX40LシグナルがT細胞の長期生存に働く可能性のある事が示唆されている。

[目的] 様々な環境においてヒトT細胞がどの様にOX40LとOX40を発現するのかが不明であり、その動的発現性を明らかにし、OX40/OX40Lの免疫学的な役割をより明らかにする事を目的とした。

[方法] 健常人の末梢血単核球(PBMC)をインターロイキン2(IL-2)の含む培地に浮遊させ、1型ヘルパーT(Th1)誘導サイトカインであるIL-12、Th2誘導サイトカインであるIL-4存在下において固相化抗CD3抗体で刺激培養を行った。細胞の表現形は種々の抗CD抗体群、抗OX40及び

OX40L等に対する単クローン抗体を用いるフローサイトメトリーで解析した。機能性を調べる為に可溶性OX40やOX40Lとの結合能を調べた。また、OX40を発現させたHIV-1潜伏感染細胞株と活性化T細胞を混合培養し、細胞上清中に産生されるHIV-1p24量をELISAで測定し、シグナル伝達能を調べた。

[結果] 抗CD3の刺激後3日目に殆ど全てのT細胞にOX40の発現がみられたが、OX40Lの発現は殆どみられなかった。ところが、3日毎に刺激を繰り返す毎にCD4⁺T細胞とCD8⁺T細胞の両方で、特にTh2環境下でOX40L⁺T細胞の頻度が高くなった。また、その他のサイトカインによる影響を調べた所、TGF- β 1が初期刺激3日後にはOX40Lの発現を誘導した。Th2環境下の長期培養又はTGF- β 1で短期に誘導されたOX40L⁺細胞には可溶性OX40が結合した。さらにこれらのOX40Lの刺激伝達能を示すために、OX40⁺HIV-1潜伏感染細胞を用いウイルス産生誘導性を測定した。その結果、双方のT細胞群ともウイルス産生を誘導した。

[結論] 以上の結果よりヒトT細胞はTh2環境における頻回刺激やTGF- β 1存在下での刺激により機能的OX40Lを発現し同時に発現するOX40との相互反応が免疫応答の調節に関与している事が示唆された。

(1193字)

*要旨は3枚(1200字以内)にまとめること。

(別紙様式第 7 号)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報 告 番 号	課程博 * 第 325 号	氏 名	近藤 佳代
論 文 審 査 委 員	審 査 日	平 成 20 年 10 月 30 日	
	主 査 教 授	渡部 久実	
	副 査 教 授	上 星 博	
	副 査 教 授	藤田 次郎	
(論 文 題 目)			
Requirements for the functional expression of OX40 ligand on human activated CD4 ⁺ and CD8 ⁺ T cells. (ヒト活性化 CD4 ⁺ 及び CD8 ⁺ T 細胞上の機能的 OX40 ligand 発現の必要条件)			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p> <p>研究の背景と目的</p> <p>後天性免疫機構において、抗原特異的 T 細胞が外来微生物に対して応答するには T 細胞抗原受容体を介するシグナルと補助刺激シグナルが必要である。T 細胞上の補助刺激受容体としては、免疫グロブリンスーパーファミリー(CD28, ICOS 等)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー (OX40, 4-1BB, CD27, CD30 等) が知られている。OX40 は活性化 T 細胞に発現が認められる膜糖蛋白であり、OX40 の特異的リガンド (OX40L) との結合によりエフェクターメモリー T 細胞の生存、サイトカインの産生増強、ならびに血管内皮細胞への接着現象等に関与する事が報告されている。これまで OX40L を発現する主な細胞は、樹状細胞等の非 T 細胞である事が報告されているが、特殊な条件下では T 細胞も OX40L を発現する事がヒトの系で報告されていた。特に HTLV-I 感染 T 細胞では OX40L の発現が知られている。しかし正常な T 細胞において OX40L や OX40 の発現がどのように調節されているのかはこれまで不明であった。そこで本研究は、ヒト T 細胞の OX40L の発現動態について明らかにする事を目的とした。</p> <p>研究内容</p> <p>OX40L は繰り返し活性化した T 細胞群に見られ、特に IL-4 存在下で培養した場合に強く発現した。一方、IL-12 存在下で繰り返し刺激培養した場合、OX40L の発現は低く、OX40 の発現は高かった。OX40L は活性化 CD4⁺ T 細胞と CD8⁺ T 細胞に発現した。これらの OX40L は機能的であり、組換え可溶性 OX40 と結合した。一方、組換え可溶性 OX40L は IL-12 刺激 T 細胞に強く結合した。興味ある事に、免疫抑制サイトカインである TGF-β1 存在下で刺激した T 細胞には、培養早期に機能的 OX40L の有意な発現が認められた。</p>			

研究成果の意義と学術的水準

刺激条件によってヒトの活性化 T 細胞には OX40 と OX40L が同時に誘導される事が明らかにされた。つまり OX40L が T 細胞に有意に発現する環境は、IL-4 と TGF- β 1 で作られる事、逆に IL-12 は OX40L の誘導を抑制し OX40 の発現を助長する事が分かった。この事実は、T 細胞遺伝子改変マウスを用いた研究で T 細胞上の OX40L 発現は IL-12 に依存するという報告とは相容れない。T 細胞自身が OX40 の他に OX40L を同時に発現する事は T 細胞-T 細胞間相互反応による免疫応答の長期化に関連すると考えられるが、T 細胞において OX40L 発現を誘導するサイトカイン環境がなぜヒトとマウスで異なるのかは不明である。現在、臨床において OX40L や OX40 を標的とする免疫治療の開発が進められているが、マウスとヒトでの相違を見つける事は今後の医療に役立つと考えられる。

本研究成果はヒト T 細胞における OX40L の発現動態を初めて明らかにしたものであり、国際的に認められる水準にあると判断される。

以上より、本論文は学位授与に値するものであると判断した。

- 備 考
- 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。