医論125

（別紙様式第３号）

論　文　要　旨

論文題目

CD3⁻ Bone Marrow Cells Augment the Generation of Cytotoxic T Lymphocytes Showing a Preference for the X-Chromosome Linked Gene Product of Stimulator Cells

（従来のアロリンパ球混合培養に更に CD3⁻骨髄細胞を添加すると、誘導される細胞傷害性Ｔ細胞（CTL）は特別な特異性を示す。すなわち、刺激細胞上の主要組織適合抗原(MHC)とX-染色体連鎖遺伝子産物(Xlgp)の両者に特異性を示す。）

氏名 大城吉則

【目的】 In vitro の一次リンパ球混合培養系において、応答細胞と同じ主要組織適合抗原(MHC)を持つ骨髄細胞を添加すると、細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導が増強される事を既に報告した。今回は、この系で誘導されるCTLの特異性を検討した。

【方法】 応答細胞としてナイロンウールカラムを通したマウスリンパ節細胞(NW-LN cells)を限界希釈し、刺激細胞としてアロマウスの脾細胞をマイトマイシンCで処理し、一次リンパ球混合培養を行なった。応答細胞と同じマウスの骨髄細胞から抗CD3抗体とダイナビーズを用いて$CD3^+$細胞(T細胞)を除去し、それ($CD3^-$ BM cells)を同培養系に添加し5日間培養した。CTLの傷害活性は^{51}Cr標識標的細胞に対する傷害で遊離する放射能で測定した。

【結果】 MHCが$H\text{-}2^k$のC3H/He NW-LN cellsを応答細胞として、$H\text{-}2^d$のB10D2又はBALB/c脾細胞を刺激細胞として用い、C3H/He $CD3^-$ BM cellsを添加した。

① B10D2で刺激：誘導されたCTLはB10D2に対しては傷害活性を示したが、同じH-2^{d}のBALB/cは傷害しなかった。② BALB/cで刺激：CTLはBALB/cに対しては傷害活性を示したが、B10D2は傷害しなかった。以上より、誘導されたCTLはH-2及びバックグランド抗原の両者に特異性を示した。次に、上記①、②と同一の実験を行ない、CTLに認識されるバックグランド抗原の遺伝解析を行なうために、標的細胞としてF1(♂)を用いた。③ B10D2で刺激：誘導されたCTLはB10D2 × BALB/c F1(♂)(B10D2由来X染色体及びBALB/c由来Y染色体を持つ)に対しては傷害活性を示したが、BALB/c × B10D2 F1(♂)(BALB/c由来X染色体及びB10D2由来Y染色体を持つ)は傷害しなかった。すなわち、刺激細胞と共通のX染色体を持つF1(♂)のみ障害した④ BALB/cで刺激：CTLはBALB/c × B10D2 F1(♂)に対しては傷害活性を示したが、B10D2 × BALB/c F1(♂)傷害しなかった。すなわち、誘導されたCTLは刺激細胞のアロH-2とアロX染色体連鎖遺伝子産物

(Xlgp)の両者に特異性を示した。次に、応答細胞を H-2^d の BALB/c、刺激細胞を H-2^k の C3H/He と B10BR を用い同様の実験を行なった所、上記①、②、③及び④と全く同一の結果を得た。

【考察】　従来、アロリンパ球混合培養において誘導される CTL は刺激細胞の MHC に対してのみに特異性を示すと言われる。しかしながら、我々の $CD3^-$ BM cells を加えた培養系で誘導された CTL は常に刺激細胞の MHC と Xlgp の両者に対して特異性を示した。すなわち、この CTL は刺激細胞上の MHC を T 細胞レセプターで認識する従来の認識機構に加え、刺激細胞上の Xlgp を何等かのレセプターによって認識する二重の認識機構が存在する可能性を示唆した。

（別紙様式第７号）

論　文　審　査　結　果　の　要　旨

報告番号	＊課程博 論文博	第　　号	氏名	大　城　吉　則
論文審査委員	平成13年10月4日			
	主査教授	佐藤良也		
	副査教授	武藤良弘		
	副査教授	田中秀悦		

（論文題目）

CD3⁻ bone marrow cells augment the generation of cytotoxic T lymphocytes showing a preference for the X-chromosome linked gene product of stimulator cells.
（従来のアロリンパ球混合培養に更に CD3⁻骨髄細胞を添加すると，誘導される細胞傷害性Ｔ細胞(CTL)は特別な特異性を示す．すなわち，刺激細胞上の主要組織適合抗原(MHC)と X-染色体連鎖遺伝子産物(Xlgp)の両者に特異性を示す）

（論文審査結果の要旨）

上記論文に関して，その研究に至る背景と目的，論文の内容と学術的水準，ならびに研究成果の意義等について慎重に審査し，以下のような審査結果を得た。

１．研究の背景

通常の一次リンパ球混合培養(MLC)で誘導される細胞障害性Ｔ細胞(CTL)はＴ細胞レセプター(TCR)を介して刺激細胞上のアロ MHC 分子を認識するため，誘導される CTL は刺激に用いたアロ MHC に対して細胞障害性を示す。著者らは，MLC に応答細胞と同系マウスから得た未分化の骨髄細胞（non B, non T 細胞）を加えると，応答細胞からの CTL 活性の誘導が著しく増強されること，すなわち未分化骨髄細胞のアクセサリー作用について既に報告している。今回はこの実験系で誘導される CTL の認識抗原について検討し，以下のような結果を得た。

２．論文の内容

アロ抗原応答細胞としてマウスリンパ節細胞を限界希釈したもの，刺激細胞としてアロマウスの脾細胞をマイトマイシン処理したもので一次リンパ球混合培養を行った。これに応答細胞と同系のマウス骨髄細胞から CD3 陽性細胞を除去した未分化骨髄細胞(CD3⁻ BM cell)を添加し，応答細胞から誘導された CTL の標的細胞特異性について細胞障害反応によって検討した。その結果，以下のような結論を得た。

備　考　１　用紙の規格は，Ａ４とし縦にして左横書とすること。
　　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。

1) モノクローナル抗体を用いたサブセットの解析から，誘導された CTL の細胞表面マーカーは $CD3^{+}CD4^{-}CD8^{+}$であり，この CTL は α/β TCR でアロ刺激細胞の MHC class I 抗原を認識すると考えられた。
2)また，誘導された CTL の認識抗原は刺激細胞上のアロ MHC class I とそれ以外の抗原（バックグラウンド抗原）の両者であることが分かった。
3)標的細胞として F1 マウスからの脾細胞を用いた遺伝解析で，バックグラウンド抗原に対する CTL はX染色体遺伝子産物(Xlgp)を認識することが明らかになった。
4)以上の結果より，$CD3^{-}$ 骨髄細胞を添加することによって誘導される CTL は刺激細胞上のアロ MHC＋Xlgp をT細胞レセプター(TCR)で認識する可能性に加え，刺激細胞上の polymorphic なアロ Xlgp を他のレセプターを介して二重に認識する機構が存在する可能性が示唆された。

３．研究の学術的水準と意義
得られた結論は，骨髄細胞の共存するアロ刺激の場においては，Xlgp が MHC と並んでアロ組織拒絶に関与する CTL を誘導する抗原である可能性を初めて示唆したものである。本研究成果の臨床的あるいは免疫学的意義に関しては，さらなる研究の継続によって明らかにされるべきであると考えられるが，発想にオリジナル性があり，かつ方法論，研究結果をもとにした論旨の展開は国際的水準にあるものと判断された。また，その研究成果は，CTL が重要な役割を果たす移植免疫，腫瘍免疫，種々の自己免疫病など，今後の臨床免疫の場において重要な学術的意義を含むものと思われる。

以上の結果から，本論文は学位授与に十分値する内容であると判断した。