

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
李 昊 哲	主査 教授 竹 中 洋 主査 教授 窪 田 隆 裕 副査 教授 佐 野 浩 一 副査 教授 大 槻 勝 紀 副査 教授 清 水 章
主論文題名 Differential Susceptibility of Cells Expressing Allogeneic MHC or Viral Antigen to Killing by Antigen-Specific CTL. (同種 MHC 抗原やウイルス抗原を発現している細胞の抗原特異的 CTL による傷害への異なった感受性)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>同種異系細胞やウイルスで誘導された CD8⁺細胞傷害性 T 細胞 (CTL) は、同種異系のあるいはウイルスに感染したリンパ腫細胞や肥満細胞腫細胞を試験管内で傷害することができる。一方、同種異系移植片拒絶に CD8⁺T 細胞は必要でないとか、CD8 ノックアウトマウスにインフルエンザウイルスやセンダイウイルスを感染させても、ウイルスがクリアランスされたとの報告があり、CTL の評価は定かではない。そこで、マウスの MHC の d ハプロタイプ (H-2^d) 細胞に特異的な CTL やセンダイウイルスに特異的な CTL を誘導し、様々な(リンパ系由来、間質系由来、上皮系由来) H-2^d 細胞やセンダイウイルス持続感染細胞の抗原特異的 CTL に対する感受性を調べ、標的細胞による感受性の有無を明らかにすることを目的とした。</p> <p>《方法》</p> <p>CTL による細胞傷害活性は、⁵¹Cr で標識した種々の同種異系細胞とセンダイウイルス持続感染細胞株からの ⁵¹Cr の遊離で測定した。また、CTL による認識は、⁵¹Cr 非標識細胞による競合阻害の有無を確認した。H-2^d 抗原特異的 CTL とセンダイウイルス抗原特異的 CTL は、BALB/c マウス (H-2^d) 脾細胞とセンダイウイルス持続感染線維芽細胞を stimulator とし、C57BL/6 (H-2^b) マウスの脾臓細胞とセンダイウイルス感染マウスの脾臓細胞を responder として、試験管内でそれぞれ誘導した。</p> <p>《結果》</p> <p>KLN205 (扁平上皮癌) 細胞、Meth A (線維肉腫) 細胞、BALB/c 皮膚上皮細胞は、H-2^d 細胞であるが、H-2^d 特異的 CTL に抵抗性であった。この抵抗性は MHC クラス I の発現が低下していることによるのではなく、また、これらの細胞を ⁵¹Cr 非標識細胞として加えると、CTL 感受性細胞に対する CTL の細胞傷害活性が阻害されたことから、CTL に H-2^d 細胞として認識されていた。また、被認識分子がウイルスの場合でも同様で、センダイウイルスで持続感染した KLN205 細胞と Meth A 細胞は、センダイウイルス特異的 CTL に抵抗性で、これらの細胞を非標識細胞として加えると、CTL 感受性細胞に対する CTL の細胞傷害活性が阻害された。以上の結果は、生体内では、すべての組織や細胞が CTL に感受性を持っているわけではないことを示唆している。</p> <p>《考察》</p> <p>免疫担当細胞による同種異系細胞やウイルス感染細胞の認識と傷害は、生体防御機構において非常に重要で、CTL がその主役と考えられている。しかし、従来の細胞傷害活性の測定では、心臓、皮膚、小腸などの同種移植の実験やセンダイウイルスによる肺炎モデルの実験でも、試験管内の標的細胞は CTL に感受性のあるリンパ系細胞や線維芽細胞で、実際傷害される心臓、皮膚、小腸や肺などの臓器の実質細胞や上皮ではなかった。そこで申請者は、リンパ系、間質系、上皮系の細胞を標的細胞として用い、抗原特異的 CTL の細胞傷害活性を測定した。また、従来の実験で標的細胞として用いら</p>	

れてきたウイルス感染細胞は、不活化ウイルスやウイルスペプチドを細胞に **coat** して作られてきた。しかし、申請者はセンダイウイルスの **defective interfering (DI)** 粒子の特徴を利用してウイルス持続感染細胞株を作製し、これを標的細胞として用いた。

今回の実験で、CTL は **KLN205** (扁平上皮癌) 細胞、**Meth A** (線維肉腫) 細胞、**BALB/c** 皮膚上皮細胞には傷害活性を示さなかった。これら全ての細胞は **H-2^d** 抗原をまた前 2 者はセンダイウイルス NP 抗原を発現しており、CTL により認識されていた。したがって、被認識分子が **H-2** であれウイルス抗原であれ、CTL による認識と傷害は必ずしも相関せず、抗原の発現量よりむしろ標的細胞種によって CTL の細胞傷害活性が大きく異なることが判明した。従って、**CD8** ノックアウトマウスが心臓、皮膚や小腸などの同種移植片を拒絶し、またセンダイウイルスをクリアランスできたのは、CTL 以外の細胞が上皮細胞や一部の間葉系細胞を傷害した可能性を示唆している。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第688号	氏名	李 昊 哲
論文審査担当者		主査 教授 竹 中 洋 主査 教授 窪 田 隆 裕 副査 教授 佐 野 浩 一 副査 教授 大 槻 勝 紀 副査 教授 清 水 章	
主論文題名			
<p>Differential Susceptibility of Cells Expressing Allogeneic MHC or Viral Antigen to Killing by Antigen-Specific CTL. (同種MHC抗原やウイルス抗原を発現している細胞の抗原特異的CTLによる傷害への異なった感受性)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>免疫担当細胞による非自己(同種異系細胞など)や非自己化細胞(ウイルス感染細胞など)の認識と傷害は、生体防御機構において非常に重要で、CD8+細胞傷害性 T 細胞 (CTL)がその主役と考えられている。しかし、同種移植片拒絶に CTL は必須ではなく、CD8 ノックアウトマウスにインフルエンザウイルスやセンダイウイルスを感染させても、ウイルスがクリアランスされたとの報告があり、以外の細胞傷害機構の存在を示されている。申請者は、マウスの MHC の d ハプロタイプ(H-2^d)細胞に特異的な CTL やセンダイウイルスに特異的な CTL をリンパ球混合培養によって誘導し、種々(リンパ系、間質系、上皮系)の H-2^d細胞やセンダイウイルス持続感染細胞の抗原特異的 CTL に対する感受性を解析し、以下のような結果を得た。</p> <p>(1) KLN205 扁平上皮癌細胞、Meth A 線維肉腫細胞、BALB/c 皮膚上皮細胞は、H-2^d細胞であるが、H-2^d特異的 CTL に抵抗性であった。</p> <p>(2) この抵抗性は MHC クラス I の発現が低下していることによるのではなく、また、これらの細胞を ⁵¹Cr 非標識細胞として加えると、CTL 感受性細胞に対する CTL の細胞傷害活性が阻害されたことから、CTL に H-2^d細胞として認識されていた。</p> <p>(3) また、被認識分子がウイルスの場合でも同様で、センダイウイルスで持続感染した KLN205 扁平上皮癌細胞と Meth A 線維肉腫細胞はセンダイウイルス特異的 CTL に抵抗性で、これらの細胞を非標識細胞として加えると、CTL 感受性細胞に対する CTL の細胞傷害活性が阻害された。</p> <p>以上の結果は、生体内ではすべての組織や細胞が CD8+CTL に感受性を持っているわけではないことを示唆している。また、CD8 ノックアウトマウスが心臓、皮膚や小腸などの同種移植片を拒絶し、センダイウイルスをクリアランスできたのは、CTL 以外の細胞が上皮細胞や一部の間葉系細胞を傷害した可能性を示唆している。</p> <p>本研究は、自己/非自己の識別機構を研究する免疫学のテーゼを改良する非常に重要な研究である。</p> <p>以上より、本論文は本学大学院学則第 9 条の定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Microbiology and Immunology 48(1): 15-25, 2004</p>			