

## 審査の結果の要旨

氏名：馬 峰

T 細胞の機能的分化については多くの報告により詳細に明らかとなりつつあるが、T 細胞の初期分化についてはいまだ十分に解明されていない。本研究は、この問題を解析するために、造血細胞のクローン培養法と胎児胸腺器官培養法(FTOC, fetal thymus organ culture) を組合せて、マウスリンパ造血前駆細胞からの T 細胞の誘導法を確立した。さらに、この方法を用いて、T 細胞前駆細胞への分化に必要なサイトカインについて、クローンレベルで解析して、下記の結果を得ている。

1、5-fluorouracil(5-FU)処理したマウス骨髄細胞を stem cell factor (SCF), interleukin(IL)-6 存在下で 1 週間クローン培養し、形成されたコロニーを採取した。採取した細胞の 30%~60%の細胞は未分化な芽球様細胞で、20%~40%の細胞が二次コロニー形成能を有していたが、CD4, CD8, CD3 は発現していなかった。これらの細胞を FTOC にて 3 週間培養したところ、胸腺中に  $1\sim 3 \times 10^5$  個のリンパ球が存在した。フローサイトメトリーによる解析では、47%が CD4/CD8 を、40%が CD3 を、12%が TCR $\alpha\beta$  を、15%が TCR $\gamma\delta$  を発現する T 細胞であった。このように、クローン培養法と FTOC を組合せることにより、マウス造血前駆細胞から T 細胞への誘導が可能となった。

2、樹立された誘導法を用いて、リンパ造血前駆細胞から T 細胞への分化に必要なサイトカインを検討した。SCF, IL-6, IL-3 は、いずれの組合せでも T 細胞を誘導した。しかし、SCF+IL-6 により誘導されたコロニーは FTOC において最も高い T 細胞の回収率を示した。IL-3 の添加により、その T 細胞回収率はやや減少したが、SCF+IL-3 あるいは IL-3+IL-6 より形成されたコロニーよりは高い回収率を有していた。無血清培養により形成されたコロニーにおいてもほぼ同様の結果が得られた。さらに、Flk2/Flt3 ligand (FL), IL-11 は、各々 SCF, IL-6 に類似した作用を示した。IL-7 は芽球コロニーからの T 細胞の出現に大きな影響を及ぼさなかった。以上の結果により、これらのサイトカインはいずれの組

合せでもリンパ造血前駆細胞から T 細胞前駆細胞への分化を支持できることが示された。リンパ造血前駆細胞から T 細胞前駆細胞への分化は特異的な刺激により誘導されるものではなく、むしろ増殖に伴い内的因子により決定されている可能性が示唆された。しかし、一旦 T 細胞前駆細胞に分化した後は、T 細胞の産生量にはサイトカインの組合せにより多少の差違が認められた。

3、IL-3 は T 細胞への分化には抑制的に作用するサイトカインとして報告されてきたが、本研究においては IL-3 の T 細胞への分化に対する抑制作用は認められなかった。

4、リンパ造血前駆細胞の分化過程において、T 細胞前駆細胞への分化がいずれの段階で起こるかは不明であった。単細胞分離された Lin<sup>-c</sup>-Kit<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup>細胞から SCF, IL-6, IL-7 存在下で形成された芽球コロニーの検討では、多分化能を有するコロニー形成細胞の 23.3%で T 細胞への分化能が認められたが、骨髄球系細胞への分化能のみを有するコロニー形成細胞では認められなかった。この結果より、リンパ造血前駆細胞から T 細胞前駆細胞への分化決定はその分化の早期に起こると推測された。

以上、本論文はマウス造血細胞のコロニー培養法と FTOC を組合せることにより確立されたマウスリンパ造血前駆細胞から T 細胞への *in vitro* 分化誘導法を用いて、マウスリンパ造血前駆細胞から T 細胞前駆細胞への分化におけるサイトカインの関与を明らかにした。本研究はこれまでほとんど明らかにされていなかった T 細胞の初期分化の制御機構の解明に重要な貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。