

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 藤尾圭志

本研究は炎症細胞の遊走を誘導し、B細胞による抗体産生等を促進するなど免疫反応を制御する役割を担っているT細胞において、レトロウイルスを用いたT細胞レセプターの遺伝子導入により、抗原特異的T細胞の人為的な作製を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 最近開発された高効率パッケージング細胞-PLAT-Eを用いたレトロウイルスベクター系を用いて、マウス末梢のCD4陽性細胞にクラスII拘束性のニワトリオボアルブミン(OVA)に特異的なDO11.10ハイブリドーマ由来のTCRを導入することに成功した。レトロネクチンをコートした24穴プレート上で、 α 鎖または β 鎖由来のレトロウイルス上清を1対1で混合し、ConA及びIL-2で刺激した脾臓細胞を48時間培養することでTCRを脾臓細胞に感染させた場合に、CD4陽性細胞の40-44%で導入したTCR複合体の発現することを示した。導入されたTCRの発現レベルはDO11.10TCRのトランスジェニックマウス由来のCD4陽性細胞に匹敵するレベルであり、CD3の発現レベルから導入されたTCRは内因性のTCRを置換する形で発現していることが推測された。TCRを導入されたCD4陽性細胞はOVAペプチドに対して増殖反応を示し、生体内ではOVAに対する遅延型過敏反応を誘導し、レトロウイルスにより導入されたTCR複合体は機能的であることが示された。

2. CD8陽性細胞にはクラスI拘束性TCRとして、マウスアロ抗原H-2K^bに特異的なTCR α/β 鎖を導入し、CD8陽性細胞の約50%で導入した β 鎖、V β 2TCRの発現を示した。TCRを導入されたCD8陽性細胞はH-2K^bを発現したp815腫瘍-p815Kbに対し、抗原特異的な細胞傷害活性及びIFN- γ 産生を示した。ヌードマウスに腫瘍とともにTCRを導入したCD8陽性細胞を接種した場合に、H-2K^bに特異的なTCRを導入したCD8陽性細胞は抗原特異的なp815Kbの拒絶能を示し、CD8陽性細胞に導入されたTCR複合体は生体内でも機能的であり、抗腫瘍効果を発揮しうることを示した。

以上、本論文はレトロウイルスベクターを用いたTCR遺伝子のCD8またはCD4陽性T細胞への導入により、生体内のクラスI及びクラスII拘束性のT細胞機能を再構築し、抗原特異的免疫反応を制御出来ることを示した。本研究はこれまで困難であった、末梢T細胞へのT細胞レセプター遺伝子の導入を可能とし、それにより生体内の抗原特異的T細胞を飛躍的に増大させることが可能で、免疫反応をこれまでより強力に制御出来る可能性をもつと考えられる。腫瘍・感染症・自己免疫疾患の免疫療法において重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。