

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名

李 元雨

論文題目 Studies on extrathymic CD4⁺CD8⁺αα⁺ double positive T cells in the peripheral blood of cynomolgus monkeys.

(カニクイザルの末梢血 CD4⁺CD8⁺両陽性胸腺外 T 細胞に関する研究)

T 細胞は胸腺内で成熟分化し、CD4 または CD8 を発現した単陽性 (SP) T 細胞として末梢での免疫応答の中樞をになう。最近、高齢者で末梢中に DP T 細胞が出現することが報告されている。これらの DP T 細胞は表現型から胸腺外分化 T 細胞系統である可能性が示唆されているが、その免疫学的意義については未だ明らかではない。

他方、マカカ属サルのカニクイザルでは加齢にともない末梢血中に高頻度に DP T 細胞が出現することが報告された。この細胞群は胸腺退縮の前後で急激に増加し、休止期成熟の免疫記憶細胞の表現型を示すことから、胸腺退縮後に胸腺外分化した T 細胞である可能性が強く示唆されている。本研究では、この末梢血 DP T 細胞の由来、分化過程、遺伝支配などを明らかにし、ヒトを含む高等動物における胸腺外分化 T 細胞の免疫学的な意義を解明することを目的としている。本論文は 4 章よりなる。

老齢カニクイザルの DP T 細胞レベルには個体差が存在することから、DP T 細胞レベルに遺伝的要因の関与が考えられた。第 1 章では 10 歳以上の個体で構成される 24 家系について DP T 細胞レベルを調査し、家系調査の結果を基に DP T レベルに及ぼす遺伝的影響を解析した。5%のカットオフ値で高レベル群と低レベル群を定義し、家系調査を行った結果、両親が高×高 (13 頭)、高×低 (9)、低×低 (2) の組み合わせからはそれぞれ 69.2%、33.3%、0%の高レベルの子供が生まれた。さらに、DP T レベルの両親と子供との相関で得られる遺伝率が 0.54±0.19 であることから、カニクイザルでは末梢 DP T 細胞レベルに遺伝的要因が関与する可能性が示唆された。

第 2 章では、DP T 細胞の出現時期を特定し、胸腺退縮との関連を明らかにする目的で 5 年間の縦断的調査を行っている。6 歳齢の 12 頭のカニクイザルを DP T 細胞レベルにより、高中低の 3 群に分けて行った縦断的調査の結果から、3 群での DP T 細胞の出現時期や増加パターンが異なることが明らかになった。さらに、DP T 細胞が急増した個体では 6 歳齢の時点で休止期成熟型の免疫記憶 T 細胞の割合が高いことから、免疫系の成熟度が DP T 細胞レベルに影響することが示唆された。縦断的調査で DP T 細胞が急増した個体と変化しなかった個体の T 細胞で胸腺起源細胞マーカーである TREC のレベルを調べた結果、DP T 細胞増加が認められたサルでの TREC のレベルが有為に低かったことから、胸腺退縮が加齢に伴う DP T 細胞増加要因の一つと考えられた。

胸腺外分化 T 細胞群として知られている腸管上皮細胞間リンパ球 (IEL) は大量の CD4⁺CD8⁺両陽性細胞 (IEL-DP 細胞) を含むことから、末梢 DP T 細胞は IEL の一部が小腸上皮から末梢に移動したものである可能性を第 3 章で検証した。まず、末梢 DP T 細胞レベルが高い群 (>5%) と低い群 (<5%) のカニクイザルから IEL を分離し、IEL-DP のレベルを比較した結果、両群で有意な差は認められなかった。さらに、末梢 DP と IEL-DP とで細胞表面マーカーの発現を比較した結果、末梢 DP T 細胞が非粘膜組織ホーミング細胞の表現型を示

すのに対し、IEL-DP 細胞は粘膜組織ホーミング細胞の表現型を持つ活性化状態の細胞群であることが明らかになった。さらに、SSCP 法を用いて T 細胞レセプター V β 鎖のクローン型を比較した結果、両者に共通の T 細胞レセプター V β 鎖は認められなかった。これらの結果から、末梢 DP T 細胞が IEL-DP 細胞に由来する可能性は否定された。

テロメアは細胞の分裂回数と関連して短縮することから、末梢リンパ球の分化段階を解析する手法としてテロメア長が使われている。第 4 章では、テロメア長を FACS で測定する方法 (Flow FISH) を確立し、CD62L⁺ 及び CD62L⁻ T 細胞のテロメア長を比較した結果、CD62L⁺ T 細胞がより長いテロメア長を持つことを示した。本法により DP T 細胞のテロメア長はメモリー CD4 SP よりも短いことを明らかにした。末梢 DP T 細胞と一部の CD4 SP 細胞が同一の起源である可能性が示唆されてきたが、両者のテロメア長の比較から DP T 細胞は CD4 SP T 細胞の一部が末梢でクローン性増殖した細胞集団である可能性が高いことが示唆された。

以上、本論文はカニクイザルの末梢血 CD4⁺CD8⁺ DP T 細胞の起源、分化過程、遺伝支配に関して、多くの新たな知見を提供した。胸腺退縮後の末梢 T 細胞の出現機構については未だに確証は得られていない。末梢 DP T 細胞の出現というヒトとは異なるシステムを有するカニクイザルの特性を利用して、ヒトで推測されているものの未だに確証の得られていない胸腺外分化 T 細胞の由来、表現型および機能に関して有用な知見を提供したと考えられる。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。