

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 渋谷 英樹

本研究は強力な抗ウイルス作用及び、T 細胞や NK 細胞の細胞障害作用の亢進といった様々な免疫調節作用を有し、かつ IL-12 と同様に、ヒトにおいて直接 IFN- γ の産生を誘導することが示されている IFN- α が、様々な免疫反応の調節に極めて重要な役割を果たすことが分かっている、ヒト CD4 陽性 T 細胞における CD154 分子の発現に対しどのような影響を与えているのか、そして CD154 の発現と IFN- γ の産生誘導との間に関連性があるのか否かということの詳細に検討した。実験系としては、健康人から得られた高純度の CD4 陽性 T 細胞を、IFN- α , IL-12 の存在、非存在下に固相化抗 CD3 抗体にて刺激する方法を採用し、下記の結果を得ている。

1. IFN- α は固相化抗 CD3 抗体にて活性化された CD4 陽性 T 細胞において、IL-12 の存在、非存在に関係なく初期活性化段階においては CD154 タンパク、mRNA の発現を抑制するが、その後の活性化段階においては両方の発現を増強することをフローサイトメトリー及びリアルタイム定量 PCR を行うことにより示した。すなわち、IFN- α は IL-12 の存在、非存在に無関係にヒト CD4 陽性 T 細胞における CD154 の発現に対し、細胞の活性化状態に依存して二相性の影響を与えるということを示した。さらに、IFN- α はIL-12とは全く無関係に、CD4 陽性 T 細胞に対する直接の作用を通じて CD154 の発現を増強することを示した。
2. IFN- α 単独では、固相化抗 CD3 抗体にて活性化された CD4 陽性 T 細胞における IFN- γ タンパクの産生、及び mRNA 発現いずれにも影響を与えず、IFN- α による IFN- γ タンパクの産生、及び mRNA 発現の増強には IL-12 の存在が必須であることを ELISA 及びリアルタイム定量 PCR を行うことにより示した。一方、IFN- α による CD154 発現の増強には IL-12 の存在を必要とし

ないことを示した。すなわち、IFN- α は固相化抗 CD3 抗体により活性化された CD4 陽性 T 細胞において CD154 の発現を IFN- γ の産生誘導とは全く無関係に増強する可能性があることを示した。

3. IFN- α や IL-12 による活性化 CD4 陽性 T 細胞における CD154 mRNA 発現の増強が、CD154 mRNA の安定性を増強することによるものかどうかについて調べるために、実験系に転写阻害剤 actinomycin D を添加し、種々の時間の経過後に細胞を回収し、半定量 RT-PCR を行った。その結果、IFN- α 、IL-12 共に CD154 mRNA の安定性には影響を及ぼさないことを示した。次に、Jurkat 細胞にヒト CD154 プロモーター領域を含むルシフェラーゼベクターをトランスフェクションし、IFN- α 、IL-12 の存在、非存在下に培養を行いルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、IFN- α 、IL-12 共に CD154 mRNA の転写活性を増強することにより、固相化抗 CD3 抗体にて活性化された CD4 陽性 T 細胞における CD154 mRNA の発現を増強することを強く示唆する結果を得た。
4. 最後に、CD4 陽性 T 細胞に対し固相化抗 CD3 抗体のみならず可溶化抗 CD28 抗体を添加することで、T 細胞に対し最大限の刺激を加えた状態で CD154 及び IFN- γ の発現に対する IFN- α の影響を調べた。その結果、IFN- α 及び IL-12 は CD28 副刺激とは異なった機序により、CD154 の発現を増強することを示した。一方、IFN- α は CD28 副刺激が存在していても IL-12 が存在しなければ、固相化抗 CD3 抗体により活性化された CD4 陽性 T 細胞における IFN- γ タンパク及び mRNA の発現に対し全く影響を与えないことを示した。つまり、IFN- γ の産生を最適に誘導するためには、CD28 副刺激が存在していても IL-12 の存在が必須であることを示した。

以上、本論文は IFN- α 及び IL-12 がヒト CD4 陽性 T 細胞において CD154 プロモーター領域における転写活性を増強することにより、CD154 の発現を増強する可能性を初めて明らかにした。本研究は、様々な免疫反応の調節に極めて重要な役割を果たす CD154 分子の発現調節の解明に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。