

審査の結果の要旨

氏名 澁谷 美穂子

本研究は自己免疫疾患の病態形成において重要な役割を担っていると考えられる T 細胞の活性化様式を検討した。マウスにおいて免疫惹起抗原に反応してリンパ節内で増殖する T 細胞の単一細胞レベルでの遺伝子発現・T 細胞レセプター (T Cell Receptor; TCR) の解析と 2 種類の TCR トランスジェニックマウスの T 細胞を用いた相互関連の解析を通して、抗原特異的な T 細胞免疫応答に伴う抗原特異性の異なる T 細胞の活性化に関して検証したものであり、下記の結果を得ている。

1. II 型コラーゲン(Type II Collagen; CII)で 2 回免疫を行った C57BL/6 (B6) マウスの鼠径リンパ節で、CII 存在下に分裂する T 細胞の単一細胞解析を行い、合計 322 個の細胞のうち 194 個(60.2%)の TCR α 鎖の配列を同定した。J α 鎖については、約 50 種類存在する J α 鎖のうち約 82%と多くの J α 鎖が使用されていた。その中でも 9 つの J α 鎖の使用が高頻度に認められた。免疫惹起抗原である CII 添加時と、無関係な抗原の添加時または抗原非添加時での J α 鎖の使用頻度を検討すると、CII 存在下でのみ使用頻度が高い J α 鎖が複数認められた。
2. 前項で解析した TCR α 鎖のアミノ酸配列に関して、配列が同一の単一 T 細胞が 2 つ以上同定できた細胞集団(クローン)を 17 個見出した。特に 4 つ以上の単一細胞が認められたクローンは 5 個であった。その中で Foxp3 を高発現し、IL-17A/IL-17F、IFN- γ 、IL-4 の発現を認めなかったクローン C251 は制御性 T 細胞の表現型と考えられた。また IL-17A/IL-17F を発現するが、Foxp3、IFN- γ 、IL-4 の発現を認めなかったクローン C171 は Th17 の表現型と考えられた。
3. C251 と C171 の TCR をレトロウイルスベクターを用いて CD4 陽性 T 細胞上に再構築し、免疫惹起抗原存在下での増殖反応を解析したところ、C251 及び C171 導入細胞ともに CII 存在下で増殖反応を示さなかった。一方、CII 特異的 T 細胞を含む CD4 陽性 T 細胞存在下に C251 導入細胞を抗原、樹状細胞と共に培養すると、C251 導入細胞は明らかに増殖した。従って、CII 免疫後のリンパ節に存在し CII 存在下で増殖する CD4 陽性 T 細胞中に、CII への特異性をもたない T 細胞の存在が示唆された。

4. 抗原特異性の判明している2種類のTCRトランスジェニックマウスのCD4陽性T細胞(E α ペプチドに特異的なT細胞TEaとOVAペプチドに特異的なT細胞OT-II)の相互の関係を検討した。OT-IIを大量のOVA抗原に反応して十分に増殖するResponder、TEaをごく少量のE α 抗原に反応して分裂するAssociatorとみなした。十分量のOVA抗原でResponderのOT-IIが刺激されると、E α 抗原が少量しか存在しない条件下でAssociatorであるTEaの分裂が亢進することを示した。MHCクラスII(I-Ab)とE α ペプチドの複合体に結合する抗体(Y-Ae)を用いてTEaへの抗原提示を阻害することによりTEaの分裂は著明に抑制された。すなわち、抗原X(OVAペプチド)が大量に存在しX特異的なCD4陽性T細胞(OT-II)が十分に増殖する条件下で、ごく少量しか存在しない抗原Y(E α ペプチド)に特異的なCD4陽性T細胞(TEa)の増殖反応が誘導された。またその増強反応にはY抗原特異性が重要であることが示唆された。

5. OVA特異的なOT-IIが十分に増殖する状況下で、少量のE α ペプチド存在下で分裂したTEaと、通常の抗原刺激で分裂したTEaの発現遺伝子を検討したところ、両者のプロファイルは異なっていた。

以上、本論文は自己抗原で免疫したマウスの所属リンパ節内のT細胞の解析により、抗原特異的なT細胞免疫応答に伴って抗原特異性の異なるT細胞が活性化するメカニズムが存在する可能性を示した。また既知の抗原特異性をもつ2種類のT細胞を用いた実験系においても、抗原Xの存在下でのCD4陽性T細胞の活性化には、従来知られている抗原Xに特異的なメカニズムやbystander activationと呼ばれる抗原非特異的な活性化とは別のX以外の抗原Yによる刺激に依存する活性化様式が存在する可能性を示した。よって、本研究はT細胞免疫応答において新たな基礎的システムの可能性を提示している点で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。