

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 藤田 成晴

本研究は同種異系骨髄移植 (allogeneic bone marrow transplantation; alloBMT) において治療困難な合併症として問題となっている慢性移植片対宿主病 (chronic graft-versus-host disease; cGVHD) に対して、マウス主要組織適合抗原複合体 (major histocompatibility complex; MHC) 一致・マイナー組織適合抗原不一致 allo BMT モデルを用いて、T 細胞制御機能をもつ制御性樹状細胞 (regulatory dendritic cells; DC_{regs}) による新規免疫細胞療法の治療効果を検討したもので、下記の結果を得ている。

1. マウス骨髄細胞を改変して DC_{regs} を作製した。DC_{regs} は正常活性化成熟樹状細胞 (mature dendritic cells; mDCs) と比較すると MHC 分子の発現は中等度に見られたものの CD11c や CD40、CD80、CD86 等の共刺激分子・共刺激分子リガンドの発現が著しく低下していた。またリポポリ多糖 (lipopolysaccharide; LPS) による刺激にて、mDCs ではインターロイキン-12p40 (interleukin-12p40; IL-12p40) の顕著な産生がみられたのに対し、DC_{regs} では IL-10 の強い産生が認められた。
2. *in vitro* のマウス同種異系細胞培養系において、mDCs は同種異系 CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ ナイーブ T 細胞を活性化して CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻ エフェクター T 細胞を顕著に誘導したが、DC_{regs} は同種異系 CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ ナイーブ T 細胞に免疫不応答性 (アナジー) を誘導するだけでなく、同種異系反応性 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞を誘導することが示された。
3. MHC 一致・マイナー組織適合抗原不一致マウス間で alloBMT を施行後、レシピエントマウスへレシピエントタイプ DC_{regs} を投与すると、皮膚 cGVHD の発症率及び重症度に対して著明な改善が認められ、その治療効果は免疫抑制剤 rapamycin の投与による効果を顕著に上回った。一方、alloBMT 施行後のレシピエントタイプ mDCs の投与では病態は増悪した。

4. レシピエントマウスの免疫学的解析により、レシピエントタイプ DC_{regs} 投与群ではドナー由来 CD4⁺T 細胞にアナジーが誘導され、ドナー由来同種異系反応性 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞が顕著に誘導されていることが明らかとなった。また、抗 CD25 抗体を用いて CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞を除去するとこの防御効果が著しく阻害された。さらに、レシピエントタイプ DC_{regs} 投与群より得られたドナー由来 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞を alloBMT 時に養子移入すると cGVHD への顕著な防御効果が認められた。これらの結果より、DC_{regs} による cGVHD の防御効果にはドナー由来同種異系反応性 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞が関わっていることが示された。一方、レシピエントタイプ mDCs 投与群では in vivo でドナー由来同種異系反応性 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻エフェクター T 細胞が誘導されていることが示された。

5. DC_{regs} による CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞誘導機構の解明を目的として、卵白アルブミンペプチド特異的 T 細胞受容体を有し、かつ CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺内在性制御性 T 細胞を欠損する *Rag2*^{-/-}D011.10 BALB/c マウスの T 細胞を用いて移入実験を行った。その結果、CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ナイーブ T 細胞と卵白アルブミンペプチド添加 DC_{regs} の共移入にて、CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ナイーブ T 細胞に抗原特異的なアナジーが誘導されるだけでなく、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞が抗原特異的に末梢誘導されることが示された。

以上、本論文は、DC_{regs} を用いた免疫細胞療法がマウス alloBMT モデルにおける cGVHD に対して顕著な治療効果を示し、その作用機序には DC_{regs} による同種異系反応性 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞の抗原特異的な誘導を介した免疫寛容が関わることを明らかにした。本研究はヒト cGVHD の新規免疫療法の将来的な可能性も示唆するものであり、また一方でこれまで不明であった樹状細胞サブセットによる制御性 T 細胞の胸腺外末梢誘導を明らかにした点においても樹状細胞による免疫寛容誘導機構の解明に重要な貢献をなすものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。