

氏 名	かわむらかずこ 川村和子
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2993号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Virus-stimulated plasmacytoid dendritic cells induce CD4 ⁺ cytotoxic regulatory T cells (ウイルス刺激を受けた形質細胞様樹状細胞による CD4 陽性細胞傷害性制御性 T 細胞の誘導)
論文調査委員	(主査) 教授 坂口志文 教授 生田宏一 教授 三森経世

論 文 内 容 の 要 旨

ある種の病原体は臨床的治癒に至った後も宿主内で持続感染し、臓器移植後などの宿主の免疫低下状態ではその再活性化が問題となる。このような感染巣からはインターフェロン(interferon; IFN)- γ とインターロイキン(interleukin; IL)-10の両方を産生する免疫制御性 CD4⁺T 細胞が繰り返し分離され、この細胞が持続感染の成立に関与することが示されている。

これまでに、形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cells; pDC)がその前駆細胞の段階でウイルス刺激を受けると、大量のインターフェロン(interferon; IFN)- α を産生しつつ DC へと分化し、ナイーブ CD4⁺T 細胞を IFN- γ /IL-10 産生性 CD4⁺T 細胞へ分化させることを示している。そこで今回、この T 細胞が免疫抑制活性を示すかどうかを検討し、感染免疫におけるこれらの細胞の生物学的意義について考察した。

ヒト末梢血単核球から分離した pDC 前駆細胞を単純ヘルペスウイルスで刺激して DC を誘導し、これを臍帯血由来の同種ナイーブ CD4⁺T 細胞と8日間共培養したのち、得られる CD4⁺T 細胞の再刺激時の増殖能と、共存する T 細胞への増殖抑制能について、³H チミジンの取り込み実験にて評価した。比較対照として、IL-3 で刺激した pDC やミエロイド DC を用いた。

ウイルス刺激を受けた pDC で誘導された CD4⁺T 細胞は他の DC で誘導された CD4⁺T 細胞に比べ、再刺激に対する増殖能が低く、強いアナジーの状態にあると考えられた。しかもこの CD4⁺T 細胞は、共存するナイーブ CD4⁺T 細胞に対して増殖抑制活性を示した。以上により、ウイルス刺激を受けた pDC は制御性 T 細胞(regulatory T cell)を誘導することが示された。中和抗体を用いた実験から、このようなアナジーおよび免疫抑制活性の獲得は IFN- α と IL-10 に依存性であることがわかった。

次に、この制御性 T 細胞が免疫抑制活性を発揮するメカニズムについて検討した。ウイルス刺激を受けた pDC で誘導された CD4⁺T 細胞は、IL-10 依存性にパーフォリン(perforin)とグランザイム(granzyme) B を高発現しており、さらにフローサイトメーターを用いた細胞傷害試験において、共存する標的細胞への細胞数依存的な細胞傷害活性を示した。標的細胞として、DC と同一ドナー由来の T 細胞(同種抗原特異的標的細胞)だけでなく、ヒト腫瘍細胞株や第三者由来の T 細胞を用いた場合も細胞傷害活性が見られたことから、この現象は抗原非特異的であると考えられた。

今回の研究で、ウイルス刺激を受けた pDC は、IFN- γ と IL-10 を産生し細胞傷害活性をもつ制御性 CD4⁺T 細胞を誘導することが明らかとなった。したがって、pDC はウイルス感染の初期においては IFN- α 産生を介した免疫賦活作用を発揮する一方、感染の後期では免疫制御性の抗原提示細胞として機能すると考えられる。後者のシステムによって、pDC は過剰な感染免疫反応による組織傷害を防ぐとともに、生体内に病原体を許容することで宿主の生涯にわたる感染免疫の維持を可能にしていることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

免疫系が病原体を排除する際には過剰な免疫反応を抑制する機構が働くが、一方でこの機構が病原体の持続感染を許容し、宿主の免疫低下時にその病原体が再活性化することが問題になる。このような慢性感染巣からは IFN- γ /IL-10 産生 CD4⁺T 細胞が分離され、この細胞が免疫抑制能を持つとともに持続感染の成立に関与する可能性が示唆されている。以前申請者らは、ウイルス刺激を受けたヒト形質細胞様樹状細胞 (pDC) がナイーブ CD4⁺T 細胞を IFN- γ /IL-10 産生細胞へ分化させることを示した。そこで本研究では、この T 細胞が免疫抑制活性を示すかどうかを検討した。

末梢血から単離した pDC を単純ヘルペスウイルスで刺激し、同種ナイーブ CD4⁺T 細胞と共培養したところ、得られた T 細胞は再刺激に対する増殖能が低く、しかも共存する T 細胞に対して増殖抑制活性を示した。これらの現象の誘導は、IFN- α と IL-10 に依存的であった。さらに、この制御性 T 細胞は IL-10 依存性に perforin と granzyme B を高発現しており、共存細胞への傷害活性を示した。

本研究は、細胞傷害活性をもつ特異な制御性 CD4⁺T 細胞が誘導されるメカニズムの解明に貢献し、生体にとって適切なレベルの感染免疫反応の成立機序を究明するのに寄与するとともに、免疫不全状態における潜伏病原体再活性化の防御法を開発するうえで重要な情報を提供する。従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位申請者は平成18年2月20日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。