

氏 名	すみ た 角 田	さとし 賢
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)	
学位記番号	医 博 第 1838 号	
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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	A vascular smooth muscle-specific CD4 ⁺ T-cell line that induces pulmonary vasculitis in MRL-+/+ mice. (MRL-+/+ マウス由来肺血管炎誘発性血管平滑筋細胞特異的 CD4陽性 T細胞ラインの樹立)	
論文調査委員	(主 査) 教 授 北 徹 教 授 大 熊 稔 教 授 中 尾 一 和	

論 文 内 容 の 要 旨

血管炎症候群は自己免疫疾患の一つと考えられているが、その原因は未だ不明である。これまでに血管炎の発症に CD4⁺T 細胞が関与していることを示唆する報告がいくつかなされてきた。血管炎の発症機序、病態を解明していく上で実験動物モデルは大変有用であると考えられるが、これまでにヒト血管炎病理組織所見に類似した血管炎を発症する動物モデルは報告されていない。

本研究では、血管構成成分に対して特異的に反応する CD4⁺T 細胞ラインを樹立し、その *in vitro* における性質と *in vivo* での血管炎誘発性について検討を行った。

近交系リスラットの胸部大動脈から培養血管平滑筋細胞株を樹立し、この血管平滑筋細胞を MRL-+/+マウスの足底に Complete Freund's adjuvant とともに免疫し、その局所リンパ節から得たリンパ球を血管平滑筋細胞抗原(培養血管平滑筋細胞株のホモジナイズによって得た細胞膜分画)とともに4日間培養した。活性化された T 細胞を回収し、マイトマイシン C 処理した同系マウス脾細胞とともに抗原無添加で10日間培養した(Rest)。その後、抗原とマイトマイシン C 処理同系脾細胞を加え刺激し(Stimulation)、この Stimulation と Rest の繰り返しにより、血管平滑筋細胞特異的 T 細胞ライン MV1 を樹立した。

flow cytometry による解析から、MV1 は CD4⁺T 細胞ラインであることが明らかとなった。また ³H-thymidine を用いた細胞増殖試験において、MV1 は、抗原提示細胞の存在下で血管平滑筋細胞抗原特異的に、濃度依存的な細胞増殖を示した。この増殖は抗原提示細胞の非存在下では認められず、また卵白アルブミンを抗原として共存させた場合にもこの増殖は認められなかった。以上の事実から MV1 は血管平滑筋細胞特異的 CD4⁺T 細胞であることが明らかとなった。MV1 の細胞障害活性は ⁵¹Cr release assay

により測定した。抗 CD3 抗体,あるいは抗原特異的に活性化した MV1 は, 標的細胞のマウス B リンパ腫細胞 A20.2J に対し細胞障害活性を認めた。MV1 は, Fas を発現していないマウス T リンパ腫細胞 WR19L に対しては細胞障害活性を示さず, その Fas transfectant である W4 に対して細胞障害活性を示したことから, MV1 による細胞障害には, Fas-FasL 系が関与している事が示唆された。

サイクロフォスファミドで前処置後, 活性化 MV1 を移入された同系 MRL-+/+マウスの肺組織において小動脈周囲にリンパ球を中心とした細胞浸潤, 血管壁の破壊を認めた。この血管病変はサイクロフォスファミド前処置のみでは認められなかった。この事実から, MV1 は血管炎を惹起しうることが明らかとなった。

本研究は, 抗原特異性の明らかな T 細胞ラインによる初めての血管炎発症動物モデルの報告である。これまでに Wegener 肉芽腫症の患者の血管炎病理組織において CD4⁺ 細胞優位のリンパ球浸潤が認められる事, 抗 CD4 抗体の投与により血管炎が改善した症例の存在する事などが報告されており, これらの報告から一群の血管炎の発症に CD4⁺T 細胞が関与していることが示唆されている。これらの血管炎の発症機序は依然として不明であり, 今回樹立された T 細胞ラインによる血管炎動物モデルは, このような血管炎の発症における T 細胞の関与を解明していく上においても, 血管炎の新たな治療法を確立していく上においても重要な手段となっていくと考えられる。

論文審査の結果の要旨

血管炎の発症機序の一つとして CD4 陽性 T 細胞の関与が指摘されている。本論文は血管炎発症における T 細胞の関与を明らかにする目的で血管平滑細胞特異的 CD4 陽性 T 細胞ラインを樹立し, この T 細胞ラインの性質, 血管炎誘発性について検討したものである。

Lewis ラットの胸部大動脈より樹立した血管平滑筋細胞株を免疫された MRL-+/+マウスの局所リンパ節細胞を繰り返し抗原特異的に刺激することにより, 血管平滑筋細胞特異的 T 細胞ライン MV1 を樹立した。

MV1 はフローサイトメトリーにより CD4 陽性 T 細胞であった。また, 抗原提示細胞存在下でのみ抗原特異的に増殖した。一方, 抗原特異的に活性化された MV1 は Fas 依存性の細胞障害活性を示した。さらに抗原特異的に活性化した MV1 を移入された同系マウスの肺組織の小動脈周囲に血管炎の所見を認めた。これらのことから MV1 は血管炎惹起性 T 細胞ラインであることが明らかとなった。

本研究は抗原特異性の明らかな T 細胞ラインによる初めての血管炎発症モデルの報告であり, 血管炎症候群の発症機序の解明に貢献し, 血管炎の新たな治療法の確立に寄与するところが多い。

したがって, 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, 本学位授与申請者は, 平成9年1月16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。