

氏名	まつばら やすし 松原 靖
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3033号
学位授与の日付	平成19年1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	Delineation of immunoregulatory properties of adult T cell leukemia cells (成人T細胞白血病の腫瘍細胞に見られる免疫制御的性質についての研究)
論文調査委員	(主査) 教授 松岡雅雄 教授 小柳義夫 教授 生田宏一

論 文 内 容 の 要 旨

成人T細胞白血病(以下ATL)はヒトT細胞白血病ウイルスI型(HTLV-1)の感染後、長期潜伏期間を経て一部の患者で発症する白血病で、一般に発病した患者の多くは易感染状態(免疫能の低下)を示すことが多い。その腫瘍細胞は成熟CD4+T細胞が主体で、CD25抗原(IL-2受容体 α 鎖)を恒常的に発現していることが特徴的である。

近年マウスで、免疫調節上重要な働きを示すCD4+CD25+の表面形質をもつT細胞分画が同定され、制御性T細胞(Regulatory T cell, 以下Treg)と呼ばれるようになった。これらの細胞は活性化した自己反応性T細胞を抑制する作用をもつことが示され、master遺伝子としてFoxp3が同定された。ヒトにおいても同様の細胞群の存在が報告されている。

本研究では、Tregに類似したCD4+CD25+の表面抗原を有するATL細胞とTregの関係を明らかにすることを目的として、ATL細胞におけるFoxp3の発現および免疫制御機能について次のような解析を行った。20例のATL患者サンプル、7例のATL由来cell line、3例のHTLV-1の感染を伴わない慢性T細胞性白血病(以下T-CLL)の患者サンプルを用いて、①Realtime PCR法を用いたFoxp3 mRNAの発現度の比較、②フローサイトメトリーによる細胞表面抗原CTLA-4、GITRの発現量の解析、③フローサイトメトリーまたはELISA法によるサイトカイン(IL-2, IFN- γ)産生量の解析、④定性PCR法によるTGF- β の発現量の解析、⑤抗CD3モノクローナル抗体刺激健全人CD4+CD25-T細胞との混合培養による増殖抑制作用について検討した。

ATL症例におけるFoxp3の発現量は症例によって異なり、症例の病型や末梢血腫瘍細胞数との相関関係は認められなかった。ATL10例(50%)、T-CLL1例(33%)、ATL cell line1例(14%)で正常CD4+T細胞より高いFoxp3の発現を認めた。ATL14例についてCTLA-4の発現量を解析したところ、CTLA-4の発現量はFoxp3 mRNAの発現量と正の相関が認められたが、GITRにおいて相関関係は認められなかった。ATL腫瘍細胞をPMAにて刺激後サイトカイン産生を調べたところ、ATL4例ではIL-2の産生はほとんど認められず、ATL8例ではIFN γ の産生は、コントロールCD4+T細胞に比較して僅かの産生が認められた。ATL20例において定性PCRによるTGF- β の発現量を解析したところ、Foxp3の発現量との優位な関係は認められなかった。ATL4症例(Foxp3高発現2例とFoxp3低発現2例)の腫瘍細胞を用いて、抗CD3モノクローナル抗体にて刺激増殖させた健全人CD4+CD25-T細胞への細胞増殖抑制効果を調べたところ、Foxp3を高発現する2例のATL患者末梢血T細胞がTregと同様の増殖抑制効果を示した。

ATL症例においてFoxp3の発現量は様々なパターンを示したが、一部のFoxp3高発現の腫瘍細胞はTregと同様の免疫抑制的性質を示すことが分かった。Foxp3高発現の症例では、腫瘍細胞が宿主の中でも免疫抑制作用をもつと考えられることから、宿主の抗腫瘍免疫からの回避と免疫抑制状態、易感染性への関与の可能性が示唆される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、成人T細胞白血病(ATL)で著しい免疫抑制状態が見られる点と、ATL細胞と制御性T細胞(Regulatory

T cell, 以下 Treg) が共に CD4+CD25+ の表面抗原を有するという2つの点に着目し, 両者の細胞間に何等かの関係があるかどうかを検討したものである。

20例の ATL 細胞において, Treg の master 遺伝子の Foxp3 の mRNA 発現量を定量 PCR 法で解析した結果, その発現量は症例によって様々で, 病型や末梢血腫瘍細胞数との間に有意な関係はなく, また TGF- β や GITR との相関は認めなかったが CTLA-4 の発現量と正の相関を認めた。抗 CD3 抗体刺激正常 CD4+CD25-T 細胞との共培養による増殖抑制実験では, Foxp3 高発現の ATL2 例で, Treg と同様の増殖抑制効果が認められた。このことから, 少なくとも一部の Foxp3 高発現の ATL 症例では機能的にも Treg に類似していることが明らかとなった。この ATL 細胞が Treg に由来するかどうかは現時点では明らかでない。

以上から, 一部の ATL 細胞は, 宿主体内でも免疫制御性に働き, 自身の宿主からの抗腫瘍免疫の回避だけでなく, 免疫抑制状態の形成にも関与する可能性が示唆された。本研究は, ATL 細胞の免疫学的性質の解析を通して, 免疫不全, 易感染状態を中心としたこの疾患の特異な病態の解明に寄与するところが大きい。従って, 本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお, 本学位申請者は平成18年12月18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。