

氏 名	わた なべ とも ひろ 渡 邊 智 裕
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2487 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 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	Administration of an antigen at a high dose generates regulatory CD4 ⁺ T cells expressing CD95 ligand and secreting IL-4 in the liver (大量の抗原感作により, 肝臓内に誘導される新たな免疫調節性 CD4 T 細胞の同定)
論文調査委員	(主 査) 教授 坂口志文 教授 湊 長博 教授 千葉 勉

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】肝移植では移植臓器に対する寛容が誘導されやすく, また動物実験においては移植細胞を門脈から移入すると, 移植片に対する拒絶反応が有意に抑制される。さらに, Porto-systemic shunt を外科的に形成されたラットでは経口免疫寛容が誘導されないことが知られている。これらの事実から, 肝臓に免疫抑制機能が存在することが示唆されるがその詳細は不明である。我々は経口または腹腔内に投与した抗原に対する, 肝臓内抗原特異的 T リンパ球の機能について解析し, 肝臓が免疫寛容に対して果たす役割について検討した。

【方法】卵白アルブミン (OVA) に対する T 細胞受容体のトランスジェニックマウス (DO11.10) を OVA100mg, PBS を用い, 隔日投与で計 5 回経口免疫した。腹腔内投与も OVA1mg を用い, 同様に行った。免疫後のマウスの肝, 脾, パイエル板からリンパ球を精製し, 抗原特異的 (KJ1-26 抗原陽性) T 細胞の表面形質と産生する Cytokine Profile について検討した。また, OVA 特異的 T 細胞を移入した非感作 BALB/c マウスを経口免疫し, 同様に解析した。OVA で経口免疫後のマウスの各臓器から精製した CD4 T 細胞を T 細胞の増殖反応系に加え, これらの細胞の In vitro での増殖抑制効果を検討した。さらに, OVA で経口免疫後のマウスの各臓器から精製した CD4 T 細胞を非感作 BALB/c マウスに移入し, In vivo における免疫調節機能も検討した。

【結果】DO11.10 マウスでは経口免疫後に肝, パイエル板において, KJ1-26 陽性 T 細胞が減少し, 肝では KJ1-26 陽性 T 細胞の Fas ligand (FasL) と CD25 の発現が増強した。経口免疫後に肝臓の KJ1-26 陽性細胞の Annexin V の発現が増加したが, FasL の中和抗体を投与されたマウスでは Annexin V の発現は変化せず, 抗原特異的な T 細胞の減少も見られなかった。経口免疫により, 肝臓内 CD4 T 細胞の抗原特異的な IL4, IL10, TGF β の産生が増加した。腹腔内投与の場合も, FasL と CD25 の発現は増加し, IL4, IL10, TGF β の産生が増加した。OVA 特異的 T 細胞を移入した非感作 BALB/c マウスにおいても同様に, 経口免疫により, KJ1-26 陽性 T 細胞が減少し, FasL の発現が増加した。In vitro において, 経口免疫後の肝臓内 CD4 T 細胞は T 細胞の増殖反応を著明に抑制したが, その効果は FasL を中和すると解除された。In vivo では, 経口免疫後の肝 CD4 T 細胞を移入したマウスでは, 抗原特異的な遅延型過敏反応, 抗体産生反応, 脾臓 T 細胞の増殖反応の低下を認めた。これら肝内 CD4 T 細胞の免疫抑制機能は FasL を中和するとほぼ完全に抑制された。Staphylococcal enterotoxin B を腹腔内投与された MRL wild type マウスでも, 肝内 CD4⁺V β 8⁺T 細胞の FasL と CD25 の発現は増加したが, Fas ノックアウトマウスである MRL lpr/lpr マウスでは SEB 投与しても, FasL と CD25 の発現量は変化しなかった。

【結語】大量の抗原感作により, 肝臓内の抗原特異的 T 細胞が Fas/FasL 系を介した Apoptosis の機序で選択され, CD4/CD25/FasL 陽性細胞群が誘導された。この CD4/CD25/FasL 陽性 T 細胞は主に FasL を介して, 免疫反応を調節し, 肝臓の抑制性免疫調節機能に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

肝移植患者で他臓器に対する移植免疫寛容が誘導されやすいとの臨床知見、門脈-全身循環シャントを形成された動物では経口免疫寛容が誘導されにくいとの実験結果から、肝には全身性免疫反応を抑制する機構が存在すると考えられる。

そこで申請者らは肝による免疫制御機構を解明するため、卵白アルブミンに対する T 細胞抗原受容体を発現するトランスジェニックマウスを用い、大量の卵白アルブミンで経口免疫後、肝臓内 T 細胞を解析した。その結果、抗原特異的 T 細胞が Fas を介した apoptosis の機序で減少し、Th2 type の cytokine を分泌するトランスジェニックマウス由来 CD4/Fas ligand (FasL)/CD25 陽性細胞群が誘導されるのが観察された。抗原の腹腔内投与でも、同様の抗原特異的 T 細胞が肝臓に誘導された。経口免疫後の肝 CD4 T リンパ球を移入したマウスでは、移入後の抗原感作でも、リンパ球の増殖反応及び血清抗体産生反応の低下を認めた。これら肝内 T 細胞の免疫抑制活性は FasL の中和により解除された。Fas を欠損する MRL lpr/lpr マウスではブドウ球菌内毒素 B を全身投与しても、FasL と CD25 の発現量は変化しなかった。以上の結果から、抗原と Fas/FasL 系を介する刺激により肝臓に誘導される CD4/CD25/FasL 陽性細胞群が肝臓の抑制性免疫調節機能に関与していると考えられた。

以上の研究は、大量の抗原感作により、肝臓内で抗原特異的 CD4 T 細胞が Fas を介する Apoptosis の機序で選択され、免疫調節性の CD4/CD25/FasL 陽性細胞群に分化する可能性を示したものであり、肝臓における免疫抑制機構の解明に寄与するところが多い。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、本学位授与申請者は、平成14年2月18日実施の論文内容とそれに関する諮問を受け、合格と認められたものである。