

氏名	たかやま えいじ 高 山 英 次
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1748 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Enhancement of Activation-Induced Cell Death by Fibronectin in Murine CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Thymocytes (マウス CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> 胸腺細胞の fibronectin による細胞死増強)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 西 川 伸 一 教 授 桂 義 元

### 論 文 内 容 の 要 旨

胸腺内未成熟 T 細胞は胸腺微小環境との相互作用によって分化成熟し、末梢において成熟 T 細胞として機能する。この分化過程において自己抗原に高親和性の T 細胞抗原受容体 (TCR) を持つ未成熟 T 細胞は活性化誘導細胞死 (AICD) により除かれる。fibronectin (FN) は胸腺微小環境を構成する主要な細胞外マトリックス分子であるので、本研究においては、TCR を経て活性化される細胞死における FN の機能の解析に焦点をあてて研究を進めた。

抗 CD3mAb 存在下の培養において、マウス胸腺未成熟 T 細胞の AICD は強く誘導された。抗 CD3mAb 非存在下での胸腺未成熟 T 細胞培養への FN 添加の影響は認められなかったが、抗 CD3mAb による胸腺未成熟 T 細胞 AICD は FN の添加によってさらに増強され、しかも FN による AICD 増強効果はより高濃度の抗 CD3mAb を用いた場合に顕著に認められた。また、この AICD は DNA の断片化を伴いアポトーシスによるものであることが示された。フローサイトメーターによる解析から、抗 CD3mAb による AICD は CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 胸腺細胞において認められ、FN の添加による AICD 増強もまた CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 胸腺細胞において認められた。

very late antigen-4 (VLA-4) と very late antigen-5 (VLA-5) は FN に対する受容体であるので、VLA-4 と VLA-5 の細胞表面への発現を胸腺内未成熟 T 細胞の種々な分化段階において検討した。VLA-4 は主に CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> 段階で発現されており、その後の分化段階においては発現が低下している。一方、VLA-5 は各分化段階において一様に発現されている。さらに、VLA-4 の接着部位である FN 上の接着分節-1 配列 (CS-1) 合成ペプチドと FN 上の VLA-5 の接着部位である Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro 配列 (GRGDSP) 合成ペプチドを用い、FN による AICD 増強効果における VLA-4 と VLA-5 の関与を検討した。FN による AICD 増強効果は GRGDSP 合成ペプチドによって阻害されたが、CS-1 合成ペプチドによっては阻害されなかった。これらのことから、FN による CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 胸腺細胞の AICD 増強効果は VLA-5 を介するものであることが示唆された。

以上の結果から、胸腺微小環境構成成分である FN は、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 段階の胸腺内未成熟 T 細胞膜上に発現している主に VLA-5 を介して相互作用し、自己抗原に高親和性の TCR を持つ未成熟 T 細胞の AICD を増強することによって、自己抗原に高親和性の TCR を持つ未成熟 T 細胞をより確実に除く機能を担っていることが示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、胸腺内での T 細胞分化過程において自己反応性細胞の排除がおこる機構に、胸腺微小環境要素の一つである fibronectin (FN) がかわることを明らかにしたものである。申請者は、抗 CD3 抗体を用いて未分化 T 細胞の活性化誘導細胞死 (AICD) をおこさせる実験において、FN が AICD を増強させることを見い出した。この FN による AICD 増強は、高濃度の抗 CD3 モノクローナル抗体を用いた場合に顕著であり、自己抗原へ反応性を示すクローン除去の場合と合致する。さらに、未分化 T 細胞の中の主要な分画である CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 細胞膜上には Very late antigen-5 (VLA-5) が強く発現されていること、また FN 上の VLA-5 の接着部位である Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro (GRGDSP) 配列合成ペプチドに

よって AICD が阻害されることがら、胸腺内未分化 T 細胞の AICD にかかわる胸腺細胞膜上の FN 受容体は、VLA-5 であることが明らかにされた。この AICD は DNA の断片化が伴うアポトーシスによるものであることも示されている。以上の研究は、T 細胞の胸腺内分化機構の解明に貢献し、免疫学の発展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13年2月27日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められた者である。