

氏 名	あら き まなぶ 荒 木 学
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1822 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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	Th2 bias of CD4 ⁺ natural killer T cells derived from multiple sclerosis in remission. (多発性硬化症寛解期における CD4 ⁺ NKT 細胞 Th2 偏倚)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 森 経 世 教 授 坂 口 志 文 教 授 柴 崎 浩

論 文 内 容 の 要 旨

1. 背景

NKT 細胞は CD1d 拘束性に糖脂質 α -galactosylceramide (α -GC) を認識し、その T 細胞抗原受容体には invariant V α 24J α Q 鎖を発現する。NKT 細胞は短時間に大量のサイトカインを産生し、免疫調節に重要な役割を担うとされている。中枢神経障害を呈する臓器特異的自己免疫疾患と考えられる多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) において、その寛解期に NKT 細胞が著明に減少することが近年明らかとなった。本研究では、NKT 細胞を CD4⁺NKT 細胞と CD4⁻CD8⁻ (double negative, DN) NKT 細胞の二つのサブセットに分類し、その数的・機能的変化から MS 寛解維持における NKT 細胞の関与を解析した。

2. 対象・方法

対象は年齢・性別をマッチさせた再発寛解型 MS 患者 39 名 (寛解期 27 名, 再発期 12 名) と健常コントロール 15 名。寛解期と再発期は自覚症状, 理学所見, MRI 画像上の造影効果にて判断, 最低 3 ケ月以上, ステロイド剤, 免疫抑制剤の投与されていない症例に限定した。各検体より末梢血リンパ球分画内の NKT (V α 24⁺V β 11⁺), CD4⁺ NKT, DN NKT 細胞頻度, また, CD1d-tetramer を用いて, CD1d 拘束性 T 細胞頻度を Flow cytometry を用いて測定した。NKT 細胞の機能解析のために, α -GC 刺激にて NKT enriched culture を樹立し, 培養開始 20~30 日目に cell sorter にて NKT 細胞を分取, α -GC による再刺激, または, CD3 / CD28 刺激による NKT 細胞の増殖反応, サイトカイン (IL-4, IFN- γ) 産生を測定した。また, NKT enriched culture に対し PMA / ionomycin 刺激を行い, 培養細胞中に含まれる NKT 細胞と conventional T 細胞各々のサイトカイン産生能を分析した。

3. 結果・考察

MS 寛解期において末梢血 NKT 細胞頻度, CD1d 拘束性細胞頻度の減少を認めた。サブセット別では DN NKT 細胞の著明な減少に対し, CD4⁺NKT 細胞頻度は有意な減少を認めず, 相対的に保持される傾向にあった。NKT enriched culture より分取した NKT 細胞は α -GC 特異性を保持しており, そのサイトカイン産生は, CD4⁺NKT 細胞の IL-4 産生が DN NKT 細胞に比べて有意に多かった。特に MS 寛解期由来の CD4⁺NKT 細胞はコントロール群に比べ IL-4 をより顕著に産生する一方, DN NKT 細胞の IL-4, IFN- γ 産生は共に減少する傾向にあり, これらの結果から, 寛解期由来の NKT 細胞全体のサイトカイン産生は相対的に Th2 偏倚を示した。また, 寛解期の NKT 細胞は, それ自身 Th2 偏倚を示すだけでなく, conventional T 細胞の IL-4 産生も増加させることが判明した。過去の自己免疫疾患における NKT 細胞の機能分析は DN NKT 細胞中心に行われてきたが, 本研究では, CD4⁺NKT 細胞に注目し, その数的, 機能的変化の解析を行うことにより, MS 寛解維持の免疫制御において NKT 細胞の関与を示唆する新たな結果を得た。

4. 結語

多発性硬化症において Th2 偏倚した CD4⁺NKT 細胞は寛解維持の免疫調節に重要な役割を担う可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

Natural killer T (NKT) 細胞は免疫調節細胞の一つとされ、CD1d 拘束性に糖脂質 α -galactosylceramide (α -GC) を認識する。多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) の寛解期に NKT 細胞が減少することから、その病態への関与を追究するために、機能の異なる CD4⁺NKT 細胞と CD4⁻CD8⁻ (double negative) NKT 細胞に分類し、MS における数的・機能的変化の解析を行った。

寛解再発型 MS と健常対照群の比較で、MS 寛解期における末梢血 NKT (V α 24⁺V β 11⁺), CD1d 拘束性 (CD1d-tetramer 陽性) 細胞の著明な減少を認め、特に double negative サブセットの減少が顕著であった。同一症例では再発により NKT 細胞が増加する傾向を示した。 α -GC 刺激培養後に NKT 細胞を単離、CD3 / CD28 刺激によるサイトカイン産生を測定した。MS 寛解期の CD4⁺NKT 細胞は高い IL-4 産生能を示し、Th1 / Th2 プロファイルの評価により寛解期 NKT 細胞は全体として Th2 偏倚を示した。Th2 サイトカインを産生する CD4⁺NKT 細胞の数的・機能的変化より、MS 寛解維持における免疫制御への関与を示唆する新たな結果を得た。

以上の研究は多発性硬化症における免疫病態の解明に貢献し、NKT 細胞を介した糖脂質療法の臨床応用の開発に寄与するところが多いと考えられる。

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15年3月3日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。