

氏 名	瀬 戸 口 留 可
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2860 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 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 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Homeostatic maintenance of natural <i>Foxp3</i> ⁺ CD25 ⁺ CD4 ⁺ regulatory T cells by IL-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization (内在性 <i>Foxp3</i> ⁺ CD25 ⁺ CD4 ⁺ 制御性 T 細胞の IL-2 による恒常性維持と IL-2 中和による自己免疫病の誘導に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 森 経 世 教 授 湊 長 博 教 授 小 柳 義 夫

論 文 内 容 の 要 旨

免疫系は、自己と非自己を識別し、通常自己構成成分に反応して自己免疫病を引き起こすことはない。従来、自己に対する不応性—免疫自己寛容—は、自己反応性リンパ球がその発生過程で物理的あるいは機能的に排除されることで成り立つと考えられてきた。しかしながら、正常個体の免疫系には、潜在的に自己免疫病惹起能をもつ自己反応性リンパ球が多数存在する。近年の研究により、免疫抑制活性を有する制御性 T 細胞 (T_R) と呼ばれる CD4⁺T 細胞集団の存在、それらが自己反応性 T 細胞の活性化・増殖を積極的に抑制している可能性が明らかにされてきた。なかでもヒトを含め正常動物に生理的に存在する *Foxp3*⁺CD25⁺CD4⁺ T_R は、様々な免疫反応を抑制し、免疫自己寛容の維持に不可欠である。我々は T_R 上に発現している CD25 が単なる活性化マーカーか、あるいは T_R に必須な機能分子であるかを検討するため以下の実験を行った。

BALB/c マウス (6 週齢, 雌) に抗 IL-2 中和抗体 1 mg を静注し、CD25⁺CD4⁺T 細胞の動態を解析した。投与後、3-14 日目において CD25⁺CD4⁺T 細胞の数は非投与群と比較して 1/3 以下に減少していた。さらに対照群に比べ、抗体投与群では CD4⁺T 細胞中の *Foxp3*mRNA の発現量が脾臓で 1/3 程度減少しており、IL-2 は末梢における T_R の生存維持に必要であると考えられた。次に IL-2 の生体内中和により正常マウスに自己免疫病を誘導できるか検討した。抗 IL-2 中和抗体 1mg を生後 10, 20 日目の BALB/c マウスに投与したところ、3 ヶ月後、全例に組織学的・血清学的に胃炎が発症した。この胃炎は、発症したマウスの脾細胞によりヌードマウスに養子移入可能であることから自己免疫病と確認された。NOD マウスに同様の処置を行ったところ、対照群と比較して抗体投与群では血糖値の上昇が早まり、膵島炎が悪化し、高率に甲状腺炎、胃炎が発症した。さらに抗体投与群の約 50% が、前後肢に麻痺を呈し、組織学的に末梢神経にリンパ球浸潤および神経の脱髄が認められた。この麻痺は、発症したマウスの脾細胞により NOD.SCID マウスに養子移入可能であり、自己免疫病と確認された。

活性化 T 細胞による IL-2 の分泌は知られているが、正常マウスで恒常的に IL-2 を分泌している細胞群は明らかではない。このような IL-2 産生細胞群を同定するため、正常マウス末梢に存在する様々な細胞群を分画し、IL-2 と *HPRT*mRNA (内部標準) の相対的発現量を Real-time PCR 法により定量した。正常マウスの脾細胞より分画した NKT, NK, DC, Mφ, B 細胞, CD8⁺, CD4⁺T 細胞 (CD25^{high}, CD25^{low}, CD25⁻ に分離) のうち、最も IL-2 mRNA を発現していた細胞群は CD25^{low}CD4⁺T 細胞であった。CD25^{low}CD4⁺T 細胞は、実際 IL-2 を分泌しており (CD25⁻, CD25^{high}CD4⁺T 細胞では検出限界以下), *Foxp3*mRNA の発現は CD25^{high}CD4⁺T 細胞の約 1/10 であった。また CD25^{low}CD4⁺T 細胞は *in vitro* で抑制活性を示さなかった。これらの結果から、正常マウス生体内で IL-2 を産生している細胞群は主として CD25^{low}CD4⁺非制御性 T 細胞であると考えられた。

以上の実験結果は、IL-2 が制御性 T 細胞の恒常性維持を介して免疫自己寛容の維持に必須の分子であり、その量的質的

異常は自己免疫病の発症につながる可能性を意味する。

論文審査の結果の要旨

正常個体中には CD25 分子 (IL-2 レセプター α 鎖) を恒常的に発現する CD4⁺ 制御性 T (T_R 静細胞が存在し、自己免疫のみならず腫瘍免疫、移植免疫、感染免疫など多様な免疫応答を負に制御している。この内因性 T_R 細胞は、転写因子 Foxp3 を高発現する。申請者らは、T_R 細胞における CD25 の役割 (即ち、CD25 が単なる T_R 細胞の活性化マーカーであるのか、それとも IL-2 レセプターの構成分子として T_R 細胞に必須であるのか) を解析し、IL-2 の異常と自己免疫病の関連性、さらに、T_R 細胞に必要な IL-2 の産生細胞の有無について検討した。

正常マウスに、IL-2 中和抗体を投与すると、胸腺および末梢から Foxp3 を発現する CD25⁺CD4⁺ 細胞は選択的に減少した。CD25⁺CD4⁺T 細胞の減少した脾細胞を同系ヌードマウスに移入すると自己免疫病が発症した。またこの自己免疫病は、正常マウス由来 CD25⁺CD4⁺T 細胞を共移入することにより阻害された。以上の結果から、IL-2 は末梢 CD25⁺CD4⁺T_R 細胞の恒常性維持に必須であると考えられた。次に、生後10日目、20日目と2回抗 IL-2 抗体を投与された BALB/c マウスには自己免疫性胃炎を、同様の処置を受けた NOD マウスは、末梢神経炎を含む様々な自己免疫病を発症した。即ち、IL-2 は免疫自己寛容の維持に重要なサイトカインであり、その減少、欠損は自己免疫病の原因となる。さらに、正常個体中で、mRNA、蛋白レベルで常時 IL-2 を産生しているのは、主として CD25^{low} の表現型を示す非制御性 CD4⁺T 細胞であった。

以上の研究は、IL-2 が T_R 細胞の恒常性維持を介して、免疫自己寛容の維持に必須の分子であり、その量的質的異常は自己免疫病の発症につながる可能性を示す。本研究は、免疫維持寛容維持機構、自己免疫病の発症機構の解明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17年2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。