

氏 名	い かわ とも かつ 伊 川 友 活
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2376 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 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	Commitment of common T/Natural killer (NK) progenitors to unipotent T and NK progenitors in the murine fetal thymus revealed by a single progenitor assay (クローナルアッセイ法を用いたマウス胎仔胸腺内における T/NK 共通の前駆細胞から単能性 T あるいは NK 前駆細胞へのコミットメント)
論文調査委員	(主 査) 教 授 西 川 伸 一 教 授 湊 長 博 教 授 桂 義 元

論 文 内 容 の 要 旨

ナチュラルキラー (NK) 細胞は T 細胞のように抗原を特異的に認識するわけではないが、ガン細胞やウイルス感染細胞に対してキラー T 細胞と同様なキラー活性を示す。従来から、NK 細胞は T 細胞と共通の前駆細胞から派生することを示唆する報告がなされていた。しかし、実際に共通の前駆細胞が存在するのか、また、存在するとすればいつどのように T, NK 系列へ決定されるのかということがクローナルなレベルで調べられていたわけではない。

申請者らはマウス胎仔胸腺 (FT) の臓器培養 (FTOC) を改良した前駆細胞 1 個ずつを培養する方法 (Multilineage progenitor assay: MLP アッセイ) を用いて、FT 中の前駆細胞は T 細胞系列へ分化決定されたもの (p-T) であり、B 細胞やミエロイド細胞への分化能は保有していないことを明らかにしてきた。しかし、この MLP アッセイでは NK 細胞への分化能は解析できないので、p-T が NK 細胞への分化能を保持しているのかどうか明らかではなかった。従来から NK 細胞の *in vitro* での分化誘導には Interleukin (IL)-2 が使われていることを考慮して、これを FTOC 系へ加えることを試みた。その結果、FTOC 系へ適当量の IL-2 を添加するだけで T および NK 細胞を均等に分化させる培養系が得られた。この培養系によって個々の FT 前駆細胞を解析した結果、T/NK 共通の前駆細胞 (p-T/NK)、T 細胞のみを生成する前駆細胞 (p-T)、NK 細胞のみを生成する前駆細胞 (p-NK) を検出することに初めて成功した。

この方法を用いて、FT 内での前駆細胞の T/NK 系列への分岐のプロセスを解析した。FT 細胞を CD44, CD25 などの細胞表面抗原の発現レベルによって分画し、各分画における p-T/NK, p-T, p-NK の頻度を解析した。胎生12日目 FT の最も未分化な CD44⁺CD2⁻FcR⁻ 細胞群に属する T 前駆細胞は、すべて NK 細胞への分化能を持ち bipotent (p-T/NK) であった。NK 細胞への分化能を失った p-T は胎生12日目の CD44⁺CD25⁻ から出現するが、胎生14日目の CD44⁺CD25⁺ 段階にいたって顕著に増加する。この時期には p-T/NK もほとんど消失する。TCRβ 鎖の遺伝子再構成が起こる CD44⁻CD25⁺ 段階では p-T/NK も p-NK も存在しない。T 細胞への分化能を持たない p-NK は主に CD44⁺CD25⁻ 群に存在していた。胎生14日目 FT の CD44⁺CD25⁻ 分画を CD122⁺ と CD122⁻ に分けると CD122⁺ 分画には p-NK のみが検出された。さらに、FT 前駆細胞由来の NK 細胞はナチュラルキラーとしての正常な活性を持つものであることも明らかとなった。以上の結果から、FT へ移行する前駆細胞は p-T/NK bipotent progenitor であり、分化の進行と共に NK への分化能を失って TCRβ 鎖再構成に先立って T 細胞だけを作るようになることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、胎仔胸腺における T 細胞とナチュラルキラー (NK) 細胞に共通の前駆細胞の存在、およびその前駆細胞が T, NK 系列へ決定されるプロセスをクローナルレベルで明らかにしたものである。申請者はまず、個々の前駆細胞の T および NK 細胞への分化能を解析できる培養系を確立し、この培養系を用いてマウス胎仔の胸腺および肝臓内前駆細胞の分化

能を解析した。胎生12日目の肝臓中の T 前駆細胞はすべて NK 細胞への分化能を持つ bipotent progenitor であった。同様に胎仔胸腺内で最も未分化な CD44⁺D25⁻FcR⁻ 細胞群中の前駆細胞も T/NK bipotent であった。NK 細胞への分化能を失った T 系列特異的前駆細胞は胎生12日目の CD44⁺D25⁻FcR⁺ 群から出現し、胎生14日目の CD44⁺CD25⁺ 群すなわち TCR β 鎖再構成が始まる直前の段階にいたって顕著に増加していた。さらに、胎生14日目の CD44⁺CD25⁻CD122⁺ 分画には NK 特異的前駆細胞のみが存在することも明らかにした。これら一連の実験結果によって、胎仔胸腺へ移行する前駆細胞は T/NK bipotent progenitor であり、分化の進行と共に NK への分化能を失って TCR β 鎖再構成に先立って T 細胞だけを作るようになることが明らかとなった。

以上の研究は、T および NK 細胞の分化機構の解明に貢献し、免疫細胞の発生・分化の研究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研究分野なら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。