

氏 名	しん とう たけ ろう 進 藤 岳 郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3216 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 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	Growth and differentiation advantages of CD4+OX40+ T cells from allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients (同種造血幹細胞移植後患者末梢血中 OX40 陽性 CD4 T 細胞の、増殖と分化における優位性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 生 田 宏 一 教 授 中 畑 龍 俊 教 授 湊 長 博

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトにおける同種造血幹細胞移植後の慢性移植片対宿主病 (Graft-versus-host disease, GVHD) の発症には CD4 T 細胞が重要な役割を果たすことが分かっているが、その詳細な機序は不明である。一方、OX40 (CD134) は CD4 T 細胞の共刺激や生存延長に重要な活性化抗原で、マウスモデルにおいて、OX40-OX40 ligand を介したシグナルは自己免疫疾患や GVHD の発症に重要であることが示されている。今回、同種造血幹細胞移植後患者および健康人から OX40 陽性 CD4 T 細胞を単離し、その機能的解析を行った。

まず OX40 陽性細胞の表面抗原を調べたところ、CD45RO、CCR7、CD62L がいずれも陽性であった。続いて OX40 陽性細胞を単離し、抗 CD3/CD28 刺激によるサイトカイン産生能をみたところ、IL-2 は産生するが IFN- γ や IL-4 は産生しなかった。また、そのような細胞は OX40 陽性細胞中のみ認められたことから、OX40 陽性細胞は TCR 刺激に際して IL-2 をよく産生する central memory T 細胞を選択的に含むことが示された。

次に CD4 陽性 memory T 細胞中における OX40 陽性細胞の特徴を明らかにするため、OX40 陽性または陰性の memory 細胞をそれぞれ単離した。IL-7 はリンパ球の生存を延長するが、OX40 陽性 memory 細胞は IL-7 に対し高感受性を示し、IL-7 添加により OX40 発現および IL-2 産生能の亢進、また増殖の促進をみた。また抗 CD3/CD28 刺激と同時に OX40 を介した共刺激を加えると、OX40 陽性 memory 細胞は長時間にわたって大量の IL-2 を産生した。以上より OX40 陽性 memory 細胞は、OX40 陰性 memory 細胞に比して増殖、分化に関して優位性を有することが予想された。そのことを検証するため、両細胞群に 12 時間の抗 CD3/CD28 刺激を加え、その後サイトカイン非添加の状態 で 4 日間培養したところ、OX40 陽性 memory 細胞は陰性細胞に比して高い viability を保持しつつよく増殖した。また OX40 を介した共刺激の存在下では、OX40 陽性 memory 細胞は顕著な増殖を示したが、中でも患者の OX40 陽性 memory 細胞は Th1 ないし Th2 方向への著明な機能分化を示した。分化の極性は患者によって異なり、強皮症様の GVHD を有する患者では Th1 に、閉塞性細気管支炎様の GVHD 患者では Th2 に、それぞれ分化した。

最後に、同種造血幹細胞移植後患者の末梢血中 CD4 T 細胞に PMA/Ionomycin 刺激を加えて、OX40 陽性細胞比率および IL-2 産生性 OX40 陽性細胞比率を検討した。以前報告された通り、慢性 GVHD を有する患者では高い OX40 陽性細胞比率を認めた ($p=0.032$) が、IL-2 産生性 OX40 陽性細胞比率と慢性 GVHD との間にはより強い相関が認められた ($p=0.007$)。このように、OX40 陽性 CD4 T 細胞は IL-2 高産生性の central memory T 細胞を選択的に含み、生体内で卓越した増殖能と分化能を発揮すると予想される。さらに慢性 GVHD 患者では IL-2 産生性の OX40 陽性 CD4 T 細胞が増加しており、この細胞が慢性 GVHD の発症に関わっている可能性を示唆する。近年、マウスの GVHD モデルで central memory T 細胞の重要性が示されており、ヒト末梢血中の OX40 陽性 CD4 T 細胞は慢性 GVHD を惹起する effector の前駆細胞を選択的に含む可能性がある。

論文審査の結果の要旨

同種造血幹細胞移植後の慢性 GVHD は深刻な合併症だが、病態生理の理解は進んでいない。OX40 は CD4 T 細胞の活性化抗原かつ共刺激分子で、マウスモデルで OX40 を介するシグナルが GVHD の発症に関わることが知られている。また慢性 GVHD の発症前に OX40 陽性 CD4 T 細胞が増加することが示されている。本研究はヒト末梢血中の OX40 陽性 CD4 T 細胞を機能的に解析し、慢性 GVHD との関連につき検討したものである。

OX40 陽性 CD4 T 細胞は central memory T 細胞で、抗原刺激で大量の IL-2 を産生し、IL-7 添加で IL-2 産生能の亢進と抗原非依存性増殖をみる。抗原刺激と OX40 を介した共刺激を加えるとより多量の IL-2 を産生し、著明に増殖した。移植後患者では健常人に比して顕著に増殖し、慢性 GVHD 発症者では Th1 ないし Th2 方向へ機能分化した。また末梢血中の IL-2 産生性 OX40 陽性細胞比率は、OX40 陽性細胞比率以上に慢性 GVHD と強く相関した。OX40 陽性 CD4 T 細胞は抗原刺激後の増殖と分化における優位性を持ち、その傾向は移植後患者で顕著である。この優位性は IL-2 産生を介すると考えられ、GVHD を始めとした免疫病態における本細胞群の重要性を示唆する。

本研究は、ヒト OX40 陽性 CD4 T 細胞の機能的特徴の解明に貢献し、慢性 GVHD を含むヒト免疫疾患の病態究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、本学位申請者は平成 20 年 2 月 7 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。