

氏 名	にしむらやすみつ 西村泰光
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2529 号
学位授与の日付	平 成 14 年 9 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 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Insufficient IL-2 production from splenic CD4 ⁺ T cells causes impaired cell proliferation and early apoptosis in SAMP1, a strain of senescence-accelerated mouse (老化促進モデルマウス, SAMP1 の脾臓 CD4 ⁺ T 細胞における低い IL-2 産生能とこれに起因する増殖障害および早期アポトーシス)
論文調査委員	(主 査) 教 授 坂 口 志 文 教 授 湊 長 博 教 授 笹 井 芳 樹

論 文 内 容 の 要 旨

老化に伴う免疫機能の低下は T 細胞に顕著に認められる。しかし、この T 細胞の機能低下のメカニズムは未だ明かではなく、免疫老化の研究の進展には新しい実験系が必要であると思われる。老化促進モデルマウスの 1 系統である SAMP1 は短命で促進老化傾向を示すだけでなく、T 細胞依存性抗原に対する一次抗体産生能が 2 カ月齢より顕著に低い。これまでの研究は、この低下はヘルパー T 細胞における何らかの機能低下が原因であることを示唆している。従って、SAMP1 のヘルパー T 細胞における機能障害とその機構を調べることが、免疫老化機構の解明に寄与すると考えられる。本研究では、SAMP1 由来脾臓 T 細胞または CD4⁺T 細胞の刺激後の増殖能、生存能、サイトカイン産生能について調べ、MHC が相同の H-2^k である C3H/He マウス由来の細胞と比較した。

脾臓 T 細胞を concanavalin A (Con A) で刺激し培養したとき、SAMP1 では CD4⁺ 細胞の比率が C3H/He よりも早期に低下した。また、このときの培養中の BrdU で標識される増殖中 CD4⁺ 細胞の比率は、SAMP1 よりも C3H/He の方が強い増加傾向を示した。脾細胞より単離した CD4⁺T 細胞を Con A で刺激し培養したとき、BrdU で標識される増殖細胞の比率は両系統ともに培養 48 時間後にピークに到達したが、SAMP1 では 64 時間後に有意に低下した。また、このときのサイトカイン産生量を調べたところ、SAMP1 では培養 48 時間後に IL-2 産生量が有意に低下した。しかし、IL-4 や IFN- γ 産生量には両系統間で差が見られなかった。また、SAMP1 の CD4⁺T 細胞培養時における IL-2 産生量は CD28 刺激の有無に関わらず、CD3 刺激下においても顕著に低かった。培養 6 時間から 24 時間後の IL-2 産生細胞数は、SAMP1 の方が C3H/He よりも有意に低かった。培養 96 時間後の Annexin 陽性 PI 陰性のアポトーシス細胞の比率は SAMP1 の方が C3H/He よりも有意に高かった。さらに、培地への IL-2 の添加は SAMP1 における BrdU 標識細胞の低下とアポトーシス細胞の増加を阻害した。

上記の結果から、SAMP1 の CD4⁺T 細胞は刺激後の IL-2 産生を維持できず、この結果早期に培養中の IL-2 が欠乏し、CD4⁺T 細胞の増殖および生存が維持できなくなることが明らかになった。このことは SAMP1 における T 細胞依存性抗体産生能の低下と密接に関係していると考えられる。CD4⁺T 細胞における IL-2 産生能の強い誘導には CD28 刺激が重要であるが、CD28 刺激の有無にかかわらず CD3 刺激下で IL-2 産生が顕著に低いことから、SAMP1 における IL-2 産生の障害は CD28 自身やその下流のシグナル伝達因子の機能不全に直接起因するものではないと考えられる。本研究の意義は SAMP1 のヘルパー T 細胞が IL-2 の産生に重要な障害を持つことを明らかにした事により、老化に伴う IL-2 産生障害に関与する遺伝子座の同定、さらには免疫老化機構の解明に結びつく有力な手がかりを与えたことである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

老化に伴う免疫機能低下は T 細胞に顕著であるが、その機構は明らかではない。老化促進モデルマウス SAMP1 は、T

細胞のヘルパー活性低下により, in vitro での T 細胞依存性抗原に対する一次抗体産生能の低下を若齢期より示す。本研究では MHC が相同の C3H/He を対照群として, SAMP1 のヘルパー T 細胞機能障害の機構を検討した。

脾臓 CD4⁺T 細胞の in vitro での増殖能, 生存能, サイトカイン産生能を BrdU 標識, Annexin 染色を用いたフローサイトメトリー, ELISA, ELISPOT assay により解析した。その結果 SAMP1 の CD4⁺T 細胞は刺激後の IL-2 産生を維持できず, IL-2 が早期に欠乏し, CD4⁺T 細胞の増殖および生存を維持できないことが明らかになり, SAMP1 の T 細胞依存性抗体産生能の低下に IL-2 産生障害が密接に関係することが示された。またこの IL-2 産生障害は CD28 自身や下流のシグナル伝達因子の機能不全に直接起因するものではないと考えられた。

以上の研究は, 老化に伴う免疫機能低下, 特に T 細胞機能低下機構の解明に貢献し, ヒトの免疫機能の老化に関する研究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14年8月1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。