OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	単一細胞株由来リンフォカイン（Interleukin-1, Interleukin-2）を用いたキラーT細胞誘導機構の分子論的解析
Author(s)	奥野, 清隆
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33685
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【4】

氏名・（本籍）	奥野清隆（おくのきよたか）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第6082号
学位授与の日付	昭和58年5月11日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	単一細胞株由来リンフォカイン（Interleukin－1, Interleukin－2）を用いたキラーT細胞誘導機構の分子論的解析
論文審査委員	（主査）教授 濱岡 利之 （副査）教授 岸本 忠三　教授 本庶 佑

論文内容の要旨

（目　的）

抗腫瘍免疫を考える上でmain effectorの一つであるキラーT細胞（cytotoxic T lymphocyte：CTL）の誘導機構を解析することは重要な意義がある。われわれはこれまでマウス胸腺細胞を応答細胞として，可溶性因子（結核菌免疫細胞由来PPD刺激培養上清：PPD Factor：PPDF）存在下でのCTL誘導を試み，このPPDF中に存在するkiller helper factor（KHF）の機能的解析とT cell－replacing factor（TRF）との関連性を報告してきた（J. Immunol., 126, 659, 1981）。そこで，さらに詳細な知見を得るために胸腺細胞のなかでも，より未熟でLyt－123^{+} phenotypeを多く含むピーナツアグルチニン凝集性（PNA^{+}）胸腺細胞を応答細胞として，可溶性因子としては単一細胞株由来のリンフォカイン（Interleukin－1：IL－1, Interleukin－2：IL－2）を用いて，より詳細なCTL誘導機構の解析を行なった。

（方　法）

C3H／He 5～8週令マウスの胸腺細胞を未分画あるいはPNAを用いて分画して応答細胞とした。刺激細胞にはTNP化した自己脾細胞，あるいは同系腫瘍細胞（X5563）を用いた。これらを混合培養する際にさらに可溶性因子を共存させin vitroで5日間培養する事によりTNP基特異的キラーT細胞の誘導を行なった。加える可溶性因子としては単一細胞株由来IL－1（LPS刺激したJ774. 1細胞培養上清），IL－2（当教室の金谷らによって樹立されたIL－2産生性T細胞ハイブリドーマA 55－24培養上清），そしてPPDFを用いた。このようにして得たCTLの細胞傷害活性は^{51}Cr標識TNP化同系腫瘍細胞を標的細胞として4時間培養後の培養上清に放出される放射活性により測定した。

（結果および考察）

①未分画胸腺細胞を応答細胞とし，刺激細胞にTNP化自己脾細胞を用いた場合にはIL－2 単独でもCTL誘導が可能であり，IL－2とさらにIL－1を加えた場合には相乗的に強いCTLを誘導できた。ところが応答細胞としてPNA$^+$胸腺細胞を用いた場合にはIL－1さらにIL－2添加でもCTL はほとんど誘導されなかった。（もちろんこの場合もPPDFを添加すれば強いCTLを誘導できるのでこの分画中にCTL前駆細胞が存在していることは明らかである。）このことはPNA$^+$胸腺細胞からのCTL誘導にはIL－2 単独ではもちろんIL－1+IL－2 の添加でも不充分で少なくともPPDF中には存在するさらに第3の因子KHF（killer helper factor）が必要であることを強く示唆する。そこでこのKHFの性質を調べるためにPPDFをSephadex G－150 やchromatofocusingによる等電点分画法で分画して検索したところ，その因子活性はIL－2と同一分画に溶出し，IL－2から分離することはできなかった。ところが，pH 2.0で処理したPPDF（PPDF pH 2.0）や5日間培養して得たPPDF（PPDF 5 day ）を用いてKHF活性を検索したところ，PPDF pH 2.0にはKHF活性が存在するがPPDF 5 day には存在しないことが判明した。ちなみにIL－2活性，γ－インターフェロン（γ－IFN）活性はPPDF pH 2.0，PPDF 5 day双方ともに同程度認められることからKHFはIL－2，γ－IFNとは異なる分子と考えられる。 ②一方，PNA$^-$胸腺細胞からのCTL 誘導能は末梢における脾，リンパ節細胞のそれに類似していた。つまりPNA$^-$胸腺細胞はTNP化脾細胞とともに混合培養することによって有意なTNP－CTLを誘導できる。また反応系からIa陽性アクセサリー細胞（Ia$^+$ACC）を除去するとCTLは誘導されなくなるが，そこにIL－1を添加するとCTL誘導能が回復した。 ③ところがPNA$^+$胸腺細胞からIa$^+$ ACCを除去したものを応答細胞とし，TNP－X5563細胞（K／D抗原は有するがIa抗原はもたない）を刺激細胞とした場合にはたとえPPDF（IL－1，IL－2，KHFも含む）を共存させてもほとんどCTLは誘導されなかった。そしてこの反応はIa$^+$ ACC の再添加によって回復した。すなわちPNA$^+$胸腺細胞からのCTL誘導にはIa$^+$ACCが必須でおそらくこの細胞と接触することによってはじめてIL－1やIL－2，KHFといった諸因子に対する反応性を獲得するものと思われる。このことは未熟な胸腺細胞が多く存在する胸腺皮質部と成熟した胸腺細胞の多い髄質部との移行部（cortico－medullary junction）にIa$^+$ ACCが多く存在する事実とも考えあわせてintrathymic maturationを考える上で非常に興味深い。

（総　括）

(1) PNA凝集性（PNA$^+$）胸腺細胞からのキラーT細胞（CTL）誘導にはIL－1＋IL－2 のみでは不充分で，さらに第3の因子KHF（killer helper factor）が必要である。なお，この因子はpH 2.0に比較的安定で一応γ－インターフェロン（γ－IFN）とは異なる分子と考えられる。

(2) CTL誘導過程におけるIa陽性アクセサリー細胞（Ia$^+$ACC）の役割は応答細胞の分化程度によって異なり，成熟したPNA$^-$胸腺細胞や脾，リンパ節細胞の場合にはインターロイキン－1（IL－1）で代用可能であるが，未熟なPNA$^+$胸腺細胞の場合にはTNP－self と上記の諸因子に対する反応性を獲得する段階において必須である。

論文の審査結果の要旨

抗腫瘍免疫を考える上で，その主要なエフェクターの一つであるキラーT細胞の誘導機構を解析することは重要な意義がある。

本論文はマウス胸腺細胞のなかでもピーナツアグルチニン（ＰＮＡ）というレクチンに凝集性の，より未熟な細胞集団を応答細胞として利用し，これを最終的にキラーT細胞にまで分化誘導させるのに必要な因子を検索したものである。その結果，PNA凝集性胸腺細胞からのキラーT細胞誘導にはIa陽性アクセサリー細胞存在下に，抗原刺激とインターロイキン－1，インターロイキン－2，さらにキラーヘルパー因子（killer helper factor：KHF）が必要であることが明らかとなった。

以上の結果はキラーT細胞を抗腫瘍免疫に応用する際の重要な知見であり，学位論文としての価値をもつものと認められる。