The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	胸腺におけるクローンの選択的除去モデル
Author(s)	小阪, 博
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36054
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

【7】

氏名・(本籍)	小阪　博（こ さか ひろし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8577 号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**胸腺におけるクローンの選択的除去モデル**
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉 (副査) 教授 岸本 進　教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

〔目的〕 胸腺は，T細胞の分化・増殖に必要な微小環境を提供するとともにT細胞の主要組織適合抗原複合体（MHC）拘束性の獲得およびT細胞レパートリーの形成において極めて重要な臓器である。従来より，これら胸腺が担う役割の機構解明を目的として，骨髄キメラマウスや胸腺移植マウスなどのin vivoの実験系および胸腺のorgan cultureなどのin vitro の実験系が行われてきたが，いまだ不明な点が多く，細胞レベルまで解析が進んでいないのが現状である。そこで，胸腺の微小環境から分離され，MHC classⅡ抗原の発現能を有し，種々T細胞クローンのみならず，未熟な胸腺細胞の増殖を誘導しうる液性因子（TSTGF：thymic stroma-derived T cell growth factor）を産生する胸腺間質系由来のクローン細胞株を用いて，胸腺におけるT細胞のclonal eliminationのin vitro モデルの作成を試みた。

〔方法ならびに成績〕 胸腺間質由来cell clone, MRL 104.8aは培養上清中にTSTGFを産生し，またinterferon-γ（IFN-γ）刺激によりその細胞表面にMHC classⅡ抗原（I-A^kおよびI-E^k）の発現が誘導される。そこでMHC classⅡ抗原を発現させたMRL 104.8a細胞のmonolayer上でI-E^k拘束性，KLH特異的T細胞クローン9-16を培養した。特異的抗原KLHを加えない場合，このT細胞クローンはTSTGFによる強い増殖反応を示した。一方，この培養系に特異抗原KLHを加えた場合，このT細胞クローンは増殖しえないのみならず，3，4日以内には殆どの細胞が死滅するに至った。

次に，TSTGFに増殖反応性を有し，かつ同じ抗原（KLH）特異性を示すが，異なるMHC classⅡ抗原（I-A^k）に拘束される8-5T細胞クローンを用いて同様の実験を行った。このT細胞クローン

は特異抗原KLH存在下においても死滅することなく増殖反応を示した。この結果より，MRL 104.8a細胞monolayer 上で，T細胞クローンが，その拘束性を示すMHC classⅡ抗原と特異抗原とのimmunogenic unit により抗原刺激を受けた時，上記現象が惹起されることが示唆された。

この点を明らかにするために，各種モノクローナル抗体を上記の混合培養系（MRL 104.8a+9−16 T細胞クローン＋KLH）に加え，T細胞クローンの抗原受容体刺激を阻止することを試みた。その結果，抗I−A^k抗体の添加によっては9−16T細胞クローンの死滅に何ら影響を与えなかった。一方，抗I−E^k抗体によりこのT細胞クローンは死滅から免れ（rescue），また，soluble抗CD3抗体の添加によってもほぼ完全なrescueがみられた。

一方，I−E^kを発現するがTSTGFを産生しない脾由来の抗原提示細胞（APC）＋KLHによっては9−16T細胞クローンはいうまでもなく著明な増殖を示し，死滅現象はみられないことから，MRL104.8a より産生されるTSTGF が上記T細胞クローンの致死的増殖抑制に関与していることが考えられる。そこで，TSTGF 低産生株で，MHC classⅡ抗原（I−A^k および I−E^k）発現能を有する胸腺間質系由来cell clone，MRL 28.8aを用いて同様の実験を行った。MHC classⅡ抗原を発現させたMRL 28.8a 細胞monolayer上では，特異抗原KLHの有無により9−16T細胞クローンの生死に殆ど差異はなかった。さらに，その培養系にexogenousにTSTGF を添加した。特異抗原KLHを加えない場合，このT細胞クローンはTSTGF による増殖反応がみられ，一方，特異抗原KLHを加えた場合，死滅現象がみられた。

以上の結果から，胸腺間質系細胞MRL 104.8a monolayer 上でのT細胞クローンの死滅現象にはMHC classⅡ抗原発現に基づくT細胞抗原受容体刺激と胸腺間質系細胞の産生するTSTGF の両者が関与していることが示唆された。

〔総括〕 胸腺間質系由来cell cloneのmonolayer上で，T細胞クローンがその特異抗原存在下に死滅する現象を見い出した。このT細胞クローンの死滅には胸腺間質系細胞表面に発現されたMHC classⅡ抗原＋特異抗原による対応T細胞抗原受容体の刺激，および，胸腺間質系細胞から産生されるnovel T細胞増殖因子（TSTGF）による刺激の両者が関与することが示唆された。この実験系は，胸腺の微小環境から分離された最小単位の胸腺内T細胞clonal elimination のモデルとなると考えられる。

論文の審査結果の要旨

胸腺はT細胞のMHC拘束性の獲得およびT細胞レパートリーの形成にきわめて重要であると考えられているが，その詳細な機構は不明である。本研究は胸腺の微小環境の構成要素から分離，クローン化された間質系細胞株を用いて，in vitroにT細胞クローンの選択的除去のモデルを作成したものである。本研究の成果は胸腺の担う役割の機構解明のために有用な実験系を提供するものであり，したがって，医学博士の学位論文に価するものである。