Osaka University Knowledge Archive

Title	ヒトT細胞クローンによる結核菌の抗原の解析
Author(s)	鳥羽, 宏和
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36940
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【57】

氏名・(本籍)	鳥(と) 羽(ば) 宏(ひろ) 和(かず)
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8821 号
学位授与の日付	平成元年8月12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	**ヒトT細胞クローンによる結核菌抗原の解析**
論文審査委員	(主査) 教 授 岸本 進 (副査) 教 授 濱岡 利之 教 授 山之内孝尚

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

精製ツベルクリン(PPD)による遅延型皮膚反応の出現は，結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)感染に対する細胞性免疫の成立を反映するものと考えられてきた。しかしPPDには結核菌以外の抗酸菌と交叉性をもつ抗原も多く含まれ，診断面からも，より結核菌特異的な抗原の精製が求められている。一方，結核の予防ワクチンとして長年BCG生菌が用いられているが，その効果に関しては現在でも評価が定まっておらず，新しい確実な有効性をもつワクチンの開発が期待されている。このような背景から，結核菌のもつ抗原については多くの研究がなされてきた。特に近年，結核菌免疫マウス由来のモノクロナール抗体を用いて，結核菌の遺伝子ライブラリーから抗原を検出する方法が広く行われ，現在までに5種の抗原がリコンビナント蛋白として単離されている。しかし，マウスの液性免疫応答を介するこの方法によって，ヒトの細胞性免疫にかかわる全ての抗原の検出が可能か否かは不明である。そこで抗結核菌免疫に主要な役割をはたすT細胞の認識する抗原を解析するために，我々はヒトT細胞クローンを樹立し，その機能と抗原特異性について検討を行った。

(方法ならびに成績)

ツベルクリン反応陽性健常人の末梢血単核球より限界希釈法によりPPD反応性T細胞クローン3株を樹立し，B9，C6，H7と命名した。クローンの維持増殖のためには，PPDおよび放射線照射した自己末梢血単核球による定期的な刺激とインターロイキン-2(IL-2)を必要とした。フローサイトメトリーにより膜表面抗原を測定したところ，3株はCD3，CD4およびHLA-DR抗原陽性であった。

Ｔ細胞クローンの機能を検討するために，ＰＰＤと自己末梢血より分離した付着性細胞で刺激し，その培養上清中のリンフォカイン活性を測定した。白血球遊走阻止因子（ＬＩＦ）活性はヒト臍帯血白血球を用い間接寒天平板法で，マクロファージ遊走阻止因子（ＭＩＦ）活性はモルモット腹腔マクロファージを用い agarose microdroplet 法で測定した。ＩＬ－２活性は，マウスＩＬ－２依存性Ｔ細胞株ＮＲＢを用いて測定した。いずれのリンフォカイン活性もＰＰＤ刺激を加えた各Ｔ細胞クローンの培養上清中に認められたが，ＬＩＦ，ＭＩＦとＩＬ－２とは活性の時間的推移が異なっていた。

モルモット腹腔マクロファージにＢＣＧ菌を感染させ，培養上清添加による菌の細胞内増殖への影響を検討した。Ｔ細胞クローンの中でＢ９のＰＰＤ刺激培養上清中に有意の抑制活性が認められた。

次に，Ｔ細胞クローンの認識する抗原の分子量および抗酸菌中での分布を検討した。*M. tuberculosis* H37Ra 株の超音波破砕遠沈上清のＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い，ニトロセルロース膜に転写した後，22個の分画に分け抗原として用いた。Ｔ細胞クローンＢ９は分子量約19kD，Ｃ６は33kD，Ｈ７は50kD の分画を単一のピークとして分裂幼若化反応を示し，３株は異なった分子量の抗原を認識していることが明かになった。５種の抗酸菌培養濾液に対する分裂幼若化反応を測定したところ，Ｃ６およびＨ７は *M. tuberculosis* の培養濾液にのみ反応を示した。これに対しＢ９は *M. kansasii* の培養濾液にも反応性を示し，Ｔ細胞クローンの認識する抗原（決定基）は菌種間で異なった分布をしているものと考えられた。同様の結果は３種の抗酸菌由来のＰＰＤを用いた実験でも確認された。

（総　括）

ＬＩＦおよびＭＩＦは遅延型過敏反応の成立に関与するリンフォカインと考えられている。３株のＴ細胞クローンはＰＰＤ刺激によりこれらの活性を産生した。また１株は抗酸菌の細胞内増殖を抑制する因子を産生することが明かになった。これらの結果は，我々の樹立したＴ細胞クローンがＰＰＤによって惹起される遅延型過敏反応あるいは抗結核菌免疫において一定の役割をはたしうることを示唆している。これらのクローンの認識する抗原の中で，19kD，33kD の抗原はモノクローナル抗体を用いた研究で報告されている抗原と分子量的に近似している。50kD 付近の抗原については現在まで報告されていない。最終的にこれら抗原の意義を明らかにするためには，分子として純粋に分離することが必要である。最近の Mustafa 等の報告により，ヒトのＴ細胞クローンをプローブとして結核菌の遺伝子ライブラリーから対応する抗原を検出できる可能性が示された。我々の樹立した３株も含め，今後ヒトのＴ細胞クローンは細胞性免疫にかかわる結核菌抗原の分離のための有力な材料になりうると考えられる。

論文の審査結果の要旨

Ｔ細胞は，マクロファージとともに抗結核免疫において主要な役割を果たすものと考えられている。

本研究はヒトのＴ細胞クローンを用いて結核菌抗原の解析を行ったもので，樹立された３株はそれぞれ異なった分子量の抗原を認識し，遅延型過敏反応あるいは抗菌免疫にかかわるリンフォカインを産生することを明らかにしたものである。