

Title	Differential Effects of IL-2 and IL-6 on the Development of Three Distinct Precursor T-Cell Populations in the Thymus
Author(s)	中野, 直子
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37207
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	中野直子
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9680 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Differential Effects of IL-2 and IL-6 on the Development of Three Distinct Precursor T-Cell Populations in the Thymus (三つの異なる T 前駆細胞集団の胸腺内分化成熟に及ぼす IL-2 と IL-6 の効果)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 浜岡 利之 教授 谷口 維紹

論文内容の要旨

(目 的)

T 前駆細胞が胸腺内で分化、成熟する過程は、T 細胞レセプター遺伝子の再構成によるレパトアの多様性の獲得と、胸腺内の主要組織適合抗原 (MHC) を介した MHC 拘束性および自己寛容機構の獲得とに分けられる。これらは、T 細胞が成熟細胞として機能する上で不可欠であるが、この過程に働くリンフォカインの役割は、ほとんど解明されていない。本論文では、各々分化段階の異なる T 前駆細胞集団を細胞表面抗原の発現の違いに基づいて分画し、それらが胸腺内で分化、成熟する過程におけるリンフォカインの作用を解析することを目的した。

(方法ならびに成績)

① T 前駆細胞の分画化: 3-5 週令 C3H/HeN マウスの胸腺を、CD4, CD8, CD5 の各分化抗原に対する抗体及び補体で処理した。成熟胸腺細胞を除去した後、さらにこれらの細胞を FITC 標識抗 CD4, 抗 CD8 抗体, ビオチン化抗 IL-2 レセプター (IL-2R) 抗体, フィコシアニン (PC) 標識抗 Thy1.2 抗体及びフィコエリスリン (PE) 標識アビジンを用いて三重染色した。抗 CD4, CD8 に染色されない細胞 (ダブルネガティブ胸腺細胞) 中, Thy1.2 と IL-2R を発現する分画を Thy-1⁺/IL-2R⁺ として分取した。同様の処理をした胸腺細胞を FITC-抗 CD4, CD8, PE-抗 Thy1.2 と PC-抗 CD3 で染色し, CD4⁻/CD8⁻/CD3⁻ 細胞中, Thy1.2 を弱く発現している細胞 Thy-1^{lo}/Thym として分取した。また C3H/HeN マウスの骨髄を FITC 標識した T, B, マクロファージ, 顆粒球等の分化抗原に対する抗体ならびに PC-抗 Thy1.2 で染色し, 各分化抗原陰性で Thy1.2 に弱く染まる細胞を Thy-1^{lo}/BM とした。尚, 細胞の

分取には、セルソーター (FACS440) を用いた。

②各前駆細胞の胸線内での分化：C3H/HeN (Thy1.2) マウス由来の前駆細胞を、放射線照射を施したThy1.1を有するAKR/Jマウスの胸線内に注入し、移入細胞をThy1.2をマーカーに追跡した。Thy-1⁺/IL-2R⁺細胞は、移入後11日目に殆どがCD4⁺/CD8⁺細胞へと分化しており、14日目に細胞数はピークに達したが、その後減少した。Thy-1-lo/Thym細胞は、12日目にCD4⁺/CD8⁺細胞へと分化していたが、細胞数のピークはThy-1⁺/IL-2R⁺細胞より遅く、21日目であった。一方、Thy-1-lo/BM細胞は、移入後11日目には検出不可能であったが、15日目には急激な細胞数の増加が認められ、1ヶ月後に移入細胞は移入数の約一万倍に増加し、この状態が2ヶ月以上維持された。これらのことから、Thy-1-lo/BMは最も増殖、分化能が大きく胸線内の前駆細胞より未分化であること、Thy-1-lo/Thym、Thy-1⁺/IL-2R⁺細胞を比較すると増殖、分化の時期の相異からThy-1⁺/IL-2R⁺はThy-1-lo/Thymより分化段階の進んだT前駆細胞であることが判明した。

③IL-2、IL-6がT前駆細胞分化に及ぼす効果：上記の放射線照射マウス胸線内で、分化段階の異なるT前駆細胞を分化・増殖させる系を用い、recipientマウスの体内に大量のIL-2あるいはIL-6を投与して、T前駆細胞の分化・増殖に対するin vivoでの影響を調べた。細胞移入直後より、10μgのIL-2、IL-6あるいは生理食塩水を解析まで連日投与した。Thy-1⁺/IL-2R⁺細胞の分化に対して、IL-6は促進的に働いた。11日目に移入細胞由来のCD4⁺/CD8⁺胸線細胞数は、IL-6投与マウスではコントロールに比べ著明に増大していた。しかし14日後の解析では、IL-6投与マウスの移入細胞由来胸線細胞は、逆に減少しており、IL-6の効果は、CD4⁺/CD8⁺への分化を早めていたことを示唆していた。一方、IL-2はThy-1⁺/IL-2R⁺細胞の分化に影響しなかった。しかしながら、Thy-1-lo/Thym細胞を移入したマウスにIL-2を大量投与すると、Thy-1-lo/Thymの分化、増殖が著しく阻害された。移入細胞数は14日後、18日後の解析では、コントロールの1/10~1/70であり、フェノタイプはCD4⁻/CD8⁻の割合が増加し、CD4⁺/CD8⁺細胞の割合が大きく減少していた、このことはThy-1-lo/Thymが次の分化段階に進む際に、何らかの機構でIL-2は正常の分化、増殖を障害していると思われた。Thy-1-lo/BM細胞は、最も未分化なT前駆細胞集団であったが、CD4⁺/CD8⁺へと分化するまでのIL-2、IL-6の著しい効果は認められなかった。

(総括)

- 1) 三つの異なるT前駆細胞集団を骨髄および胸線から、各種の分化抗原マーカーとThy-1、IL-2Rの発現に基づいて分画した。
- 2) Thy-1⁺/IL-2R⁺はの中で最も分化したT前駆細胞であり、Thy-1-lo/ThymよりもCD4⁺/CD8⁺への分化、増殖が早い時期に見られた。Thy-1-lo/BMは、分化に要する時間は長い、移入細胞由来の胸線細胞は長時間維持され、幹細胞としての性質を有していた。
- 3) Thy-1⁺/IL-2R⁺細胞に対して、IL-6は分化を促進したが、IL-2は効果を示さなかった。
- 4) Thy-1-lo/Thym細胞の分化、増殖に対して、IL-2は阻害効果を示した。

5) Thy-1-lo/BM細胞の分化, 増殖には, IL-2, IL-6の影響は少なかったが, このことは, T前駆細胞の分化過程の極めて限られた時期に, リンフォカインが効果的に働くことを意味している。

論文審査の結果の要旨

骨髄由来のT前駆細胞は, 胸線内で分化・成熟し, その過程で自己の主要組織適合抗原に対する拘束性と自己抗原に対する寛容性を獲得することが知られている。この分化・成熟過程には, 当然種々の液性因子が関与していることが考えられる。本研究は, T前駆細胞集団を細胞表面マーカーの発現の違いに基づいて分画することにより, 各々の分化段階を明らかにし, これらの前駆細胞を胸線内注入法でレシピエントマウスの胸線内に移入して *in vivo* の自然な環境下で前駆細胞の分化を見たものである。この系を用いると, T前駆細胞の中には, IL-2, IL-6が分化を抑制あるいは促進するものが存在し, これらの因子がT前駆細胞の胸線内における分化・成熟に関わっていることが明らかとなった。従って, この研究はT前駆細胞の胸線内での増殖, あるいはクローンの除去, 不活化などを解析する上で有用な手段を提供するものと思われる。