

Title	Both CD45RA+ and CD45RA- subpopulations of CD8+T cells contain cells with high levels of Lymphocyte Function-Associated Antigen-1 expression, a phenotype of primed T cells
Author(s)	奥村, 明之進
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38596">https://hdl.handle.net/11094/38596</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	おくむらめいのしん 奥村明之進
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 1 1 1 0 6 号
学位授与年月日	平成 6 年 2 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Both CD45RA <sup>+</sup> and CD45RA <sup>-</sup> subpopulations of CD8 <sup>+</sup> T cells contain cells with high levels of Lymphocyte Function-Associated Antigen-1 expression, a phenotype of primed T cells (CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> および CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup> T 細胞における、活性化 T 細胞である LFA-1 <sup>high</sup> 細胞の存在)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉  (副査) 教授 岸本 忠三 教授 北村 幸彦

### 論文内容の要旨

#### 【はじめに】

CD45は白血球共通抗原とも呼ばれており、すべての白血球表面上に表現されている膜蛋白である。CD45の細胞質内ドメインはすべての白血球に共通であり protein tyrosine phosphatase の機能を持ちシグナル伝達に関与すると考えられている。一方、CD45の細胞外ドメインは messenger RNA の splicing の違いにより、白血球の種類により異なった isoform として表現される。現在、細胞外ドメインの抗原性を認識する monoclonal 抗体により大別して CD45RA と CD45RO と呼ばれる 2 つの CD45 isoform が識別されている。

CD4<sup>+</sup> T 細胞においては、刺激を受けると CD45 isoform は RA<sup>+</sup>RO<sup>-</sup> から RA<sup>-</sup>RO<sup>+</sup> cell へと変化し、この変化は非可逆性であると考えられている。すなわち、CD4<sup>+</sup> T 細胞においては CD45RA は virgin T 細胞の、CD45RO は memory T 細胞のマーカーと考えられ、T 細胞の分化段階を示すと考えられている。しかしながら、CD8<sup>+</sup> T 細胞においては、CD45 isoform の RO から RA への reversal が示されており、CD8<sup>+</sup> T 細胞においては CD45 isoform が分化段階を示すマーカーであるかどうかは明らかではない。

ところで近年、LFA-1、CD2、LFA-3、CD29、PGP-1 などの接着分子が刺激を受けた T 細胞の表面上でその発現量が増加していることが明かとなり、これらの細胞表面分子もまた T 細胞の分化段階を示すマーカーと考えられている。

#### 【目的】

T 細胞における CD45 isoform と LFA-1 の発現量を同時に評価することにより、CD8<sup>+</sup> T 細胞においては CD45 RA<sup>+</sup> の memory T 細胞が存在するか否かを検討する。

#### 【対象ならびに方法】

胸腺細胞、臍帯血内のリンパ球、成人末梢血より得られたリンパ球それぞれの CD4、CD8、CD45 isoform で定義される T 細胞における LFA-1 の発現を、3-color flow cytometry (FCM) を用いて評価する。さらに、末梢血リンパ球を PHA で刺激し 4 週間の培養期間中の、各 subset における LFA-1 の発現量と CD45 isoform の変化

を 3-color FCM によって評価する。

## 【成績】

### (1) 成人の末梢血リンパ球の LFA-1 の発現

LFA-1/CD45RA/CD3の組み合わせによる 3-color FCM の代表的な結果を示す。CD3<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> T 細胞の LFA-1 の発現は高レベルと低レベルの二峰性であり、46%の細胞が高レベルの、54%の細胞が低レベルの LFA-1 の発現量を有していた。CD3<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> T 細胞の LFA-1 の発現は、上記の高レベルと低レベルの間であった。

LFA-1/CD45RA/CD4の組み合わせによる 3-color FCM の結果を示す。CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> T 細胞の LFA-1 の発現は、98%の細胞において低レベルであった。CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> T 細胞の LFA-1 の発現量は、CD3<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> T 細胞で見られた高レベルと低レベルの間であった。

LFA-1/CD45RA/CD8の組み合わせによる 3-color FCM の結果を示す。CD8<sup>+</sup>細胞の大部分は CD8<sup>+</sup> T 細胞であるが、Natural killer (NK) cell もわずかながら含まれる。ただし、NK cell の CD8 の発現レベルは CD8<sup>+</sup> T 細胞よりも低く、CD8 を高レベルに表現する細胞を gate すると NK cell の影響は無視し得るので、CD8<sup>high</sup> 細胞を CD8<sup>+</sup> T 細胞として解析した。CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> T 細胞の LFA-1 の発現は高レベルと低レベルの二峰性であり、45%の細胞が高レベルに、55%の細胞が低レベルに LFA-1 を表現していた。CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> T 細胞の LFA-1 の発現量は、91%が高レベルを示した。

CD45RA と CD45RO の発現は T リンパ球上では互いに相補的であり、CD45RA<sup>+</sup> T 細胞は CD45RO<sup>-</sup> T 細胞と、CD45RA<sup>-</sup> T 細胞は CD45RO<sup>+</sup> T 細胞とほぼ一致するため、LFA-1/CD45RO/CD8の組み合わせによる 3-color FCM を行った。CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>-</sup> T 細胞は CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> T 細胞と同様、LFA-1 の発現は二峰性であり、CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> T 細胞は CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> T 細胞と同様に90%以上の細胞が LFA-1 を高レベルに発現していた。

### (2) 胸腺細胞の LFA-1 の発現

胸腺細胞の LFA-1/CD4/CD8の組み合わせによる 3-color FCM の結果を示す。胸腺内で最も成熟した T 細胞である CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> および CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>の胸腺細胞の LFA-1 の発現は低レベルであった。

### (3) 臍帯血 T リンパ球の LFA-1 の発現

臍帯血中のリンパ球の LFA-1/CD3/CD8の組み合わせによる 3-color FCM の結果を示す。CD8<sup>+</sup> T 細胞 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)、CD4<sup>+</sup> T 細胞 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>) 共に、LFA-1 の発現は低レベルであった。

### (4) PHA による刺激後の末梢血 T 細胞上の LFA-1 と CD45 isoform の変化。

CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>、CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>すべての T 細胞において刺激後 7 日までに、LFA-1 の発現は高レベルとなり、4 週間の培養期間中を通じてその発現レベルは保たれていた。

PHA 刺激後の CD45RA<sup>+</sup>細胞の占める比率は、CD4<sup>+</sup> T 細胞においては培養日数とともに低下したが、CD8<sup>+</sup> T 細胞においては 7 日目で一時的に減少したものの 14 日目以降では刺激前より増加を示した。

## 【総括】

virgin T 細胞と考えられる胸腺細胞および臍帯血 T 細胞上の LFA-1 は低レベルであり、刺激により T 細胞の LFA-1 の発現は高レベルとなることから、LFA-1 は T リンパ球の成熟段階を示すマーカーと考えられる。LFA-1 と CD45 isoform の発現を同時に解析した結果から、CD4<sup>+</sup> T 細胞においては CD45RA、CD45RO はそれぞれ virgin T 細胞、memory T 細胞を指示すると考えられた。しかし CD8<sup>+</sup> T 細胞においては CD45RA<sup>+</sup>細胞の中にすでに刺激を受けたと考えられる LFA-1<sup>high</sup> 細胞が存在すること、刺激を受けた後も CD45RA を表現する細胞が存在することが示唆された。以上より、CD8<sup>+</sup> T 細胞では CD45 isoform は分化段階のマーカーとはみなし得ないと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

CD4<sup>+</sup> T細胞においては CD45RA<sup>+</sup>細胞は virgin T細胞, CD45RO<sup>+</sup>細胞は memory T細胞と考えられているが, CD8<sup>+</sup> T細胞においては CD45 isoform が分化段階を示すマーカーであるかどうかは明かではない。

胸腺細胞, 臍帯血 Tリンパ球, 末梢血 Tリンパ球, PHA による刺激系の末梢血 Tリンパ球上の CD45isoform と接着分子の一つである LFA-1 の発現を flow cytometry により同時に評価したところ, 以下の知見を得た。

virgin T細胞と考えられる胸腺細胞および臍帯血 T細胞上の LFA-1 は低レベルであり, 刺激により T細胞の LFA-1 の発現は高レベルとなることから, LFA-1 は Tリンパ球の成熟段階を示すマーカーと考えられる。CD4<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> T細胞の LFA-1 の発現は低レベルであるのに対し, CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> T細胞の中にはすでに刺激を受けたと考えられる LFA-1<sup>high</sup> 細胞が存在した。以上より, CD8<sup>+</sup> T細胞には CD45RA を発現する memory T細胞の存在が示唆され, このことより CD45 isoform は末梢血 T細胞の分化段階のマーカーとはみなし得ないと考えられた。

本研究は細胞免疫学における新知見を含んでおり, 学位の授与に値すると考えられる。