

Title	ヒト末梢血T細胞活性化におけるCD44分子の関与
Author(s)	横小路, 貴義
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39089
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	横小路 貴 義
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 11830 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	ヒト末梢血 T 細胞活性化における CD44分子の関与
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏 (副査) 教授 浜田 茂幸 講師 藤原 卓 講師 三原 丞二

論文内容の要旨

(研究目的)

抗原刺激が T 細胞抗原受容体 (TCR) を介して受容され、その情報が T 細胞内に伝達されることにより T 細胞の活性化は始まる。しかし、より効率よく T 細胞が活性化されるためには TCR を介したシグナルに加え、TCR 以外の細胞表面分子を介したシグナル、いわゆる副刺激シグナル (co-stimulatory signal) が必須であることが最近の研究成果より明らかにされた。CD44分子は、生体内に広汎に分布する細胞接着分子で、ヒアルロン酸 (HA) 等の細胞外基質をリガンドとすることが知られている。さらに、CD44分子は B 細胞の初期分化やリンパ球の血管外遊走に重要な役割を果たし、本学口腔治療学講座では活性化 T 細胞の歯肉線維芽細胞への接着に CD44分子が関与することを明らかにしている。一方これまでの研究から、CD44分子は単に細胞接着分子として細胞間の接着を担うのみならず、細胞内情報伝達分子としても機能し種々のリンパ球の機能を制御し得る可能性が報告されている。そこで本研究では種々の抗-CD44モノクローナル抗体 (mAb) を用い T 細胞活性化に伴う増殖反応を指標として、T 細胞活性化における CD44分子の関与とそのメカニズムを検討した。

(材料と方法)

1. ヒト末梢血 T 細胞の分離: 健常人の静脈末梢血より比重遠心法を用いて単核球を分離・回収した後、ノイラミニダーゼ処理羊赤血球とロゼットを形成させ、ロゼット形成細胞をヒト末梢血 T 細胞として以下の実験に用いた。2. T 細胞の刺激: あらかじめ抗-CD3 mAb を至適濃度に満たない (suboptimal) 濃度で固相化した培養プレートにて T 細胞を培養した。CD44分子の関与を解析するために同上培養系に各種抗-CD44 mAb (OS/37, NIH44-1, A3D8, IM7.8.1) あるいは HA を、固相化するか培養液中に遊離の状態が存在させ、上述の T 細胞を刺激した。3. T 細胞増殖反応の検討: T 細胞を3日間、上述の条件にて培養し、培養終了6時間前に [³H] チミジンを添加し、その核内への取り込み量を測定することにより T 細胞の増殖反応を検討した。4. T 細胞の IL-2 産生量の検討: 前述の培養条件により刺激された T 細胞が産生する IL-2 の定量を IL-2 によって増殖する CT.4R 細胞の増殖反応を指標として行った。5. リンホカインのメッセンジャー RNA (mRNA) の発現の検討: 前述の培養条件により刺激された T 細胞から抽出した全 RNA を鋳型にし、Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法を用いて T 細胞中に誘導される各種リンホカインの mRNA の発現を半定量的かつ経時的に解析した。

(研究結果)

培養液中に遊離状態で抗-CD44 mAb を添加した場合、今回試みた全ての抗-CD44 mAb は抗-CD 3 mAb 刺激による T 細胞の増殖反応を増強することはなかった。しかし抗-CD44 mAb にて T 細胞を処理後、抗-イムノグロブリン抗体を反応させることにより T 細胞上の CD44 分子を架橋すると、抗-CD 3 mAb による T 細胞増殖反応に増強が認められた。また、これら抗-CD44 mAb を抗-CD 3 mAb と共に培養プレート上に固相化すると、より著しい増殖反応が惹起された。次に CD44 分子のリガンドの一つである HA を抗-CD 3 mAb と共にプレートに固相化すると、抗-CD44 mAb の場合と同様に T 細胞の増殖反応の増強が惹起された。この HA による T 細胞増殖反応の増強効果は CD44 分子上の HA 結合部位を認識する OS/37 の添加にて阻害された。次に、抗-CD 3 mAb と抗-CD44 mAb の共刺激により誘導される IL-2 の産生量について検討を加えたところ、同刺激により IL-2 の産生が著明に増加していることが明らかとなった。また同刺激により T 細胞中に誘導される IL-2, IFN γ , IL-4 の mRNA の発現量の変化を半定量的 RT-PCR 法を応用することにより経時的に解析したところ、抗-CD 3 mAb と抗-CD44 mAb を共に固相化した場合は抗-CD 3 mAb のみの場合と比較して刺激開始早期にその発現が認められ、その発現量も抗-CD 3 mAb 単独刺激の場合と比較して明らかに増強された。

(考察)

CD44 分子が TCR を介した T 細胞の活性化に関与していることが確認され、T 細胞表面上で CD44 分子が HA 等のリガンドにより架橋形成されることにより同分子が T 細胞の増殖反応において副刺激シグナルを伝達し、T 細胞の増殖反応を増強し得ることが示唆された。またそのメカニズムの一つとして、CD44 分子を介した刺激が T 細胞中に誘導される IL-2 等のリンホカインの mRNA の発現を早期から亢進させること、さらに IL-2 の細胞外への産生量も増加させることが明らかにされた。今回の研究結果より、炎症歯周組織に遊走した T 細胞が CD44 分子を介して歯肉線維芽細胞上に存在する HA と接着すると、その細胞増殖機能が影響を受ける可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は CD44 分子が T 細胞の活性化における副刺激シグナル伝達分子として関与するかどうかを検討したものである。その結果、T 細胞表面上で CD44 分子がヒアルロン酸等のリガンドにて架橋されることにより、同分子を介して副刺激シグナルが細胞内に伝達され、その結果、IL-2 等のサイトカインメッセンジャー RNA 発現の早期亢進、IL-2 産生量の増加が惹起されて、T 細胞の増殖反応が増強されることを明らかにした。これらの知見は細胞外基質との相互作用による T 細胞活性化機構を知る手がかりとなるものであり、本研究は博士(歯学)の学位請求に充分値するものと認める。