

Title	Thymic stroma-derived T-cell inhibitory factor (TSTIF). 1.TSTIF induces inhibition of antigen-stimulated T-cell proliferation
Author(s)	喜多, 保通
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39285
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 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	喜 多 保 通
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 4 8 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 6 月 3 0 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	Thymic stroma - derived T - cell inhibitory factor (TSTIF). 1.TSTIF induces inhibition of antigen - stimulated T - cell proliferation (胸腺ストローマ細胞由来T細胞増殖抑制因子 (TSTIF) 1.TSTIFによる抗原刺激誘導性T細胞増殖の抑制)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 濱岡 利之 (副査) 教 授 谷口 維紹 教 授 平野 俊夫

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

胸腺ストローマ細胞は、胸腺内におけるT細胞の成熟過程において、重要な役割を果たしている。我々の教室で樹立された胸腺ストローマ細胞株 MRL104.8a は、その単層培養細胞上で未熟胸腺細胞分化促進能を有し、かつ IL - 7 を分泌しT細胞を増殖させることが明かにされている。一方我々は最近この単層培養上清には、抗原刺激によるT細胞の増殖を抑制する因子が存在することを見いだした。本研究は、その抑制因子の機能的かつ生化学的性状を解析することを目的とした。

[方法ならびに成績]

T細胞株としてはKLH 特異的I-E^k 拘束性 Th クローン : (9-16) , アロ bml 2 抗原特異的 Th クローン : (4-55) 及び KLH 特異的 I-A^b 拘束性 Th クローン : (8-5) を用いた。増殖反応は抗原刺激または増殖因子による応答を ³H - thymidine の取り込みの測定または生細胞数の計測によって行った。TSTIF の部分精製は S - Sepharose を用いた陽イオン交換クロマトグラフィーによって行った。ヘパリンアフィニティークロマトグラフィーは Heparin - Sepharose CL6B を用いた NaCl 濃度勾配溶出を行った。分子量測定は、Showdex WS - 802.5F カラムを用いた HPLC によるゲル濾過クロマトグラフィーによって推定した。

次の結果が得られた。(1) 9-16Th クローンを MRL104.8a 培養上清 (SN) の存在下で培養すると、9-16は増殖を示した。しかし KLH と抗原提示細胞 (APC) による抗原刺激時に SN を加えると、その増殖は抑制された。この増殖抑制は種々のクローン (8-5や4-55等) においても確認された。即ち、SN は Th クローンを増殖させる活性を持つと同時に抗原刺激による増殖に対しては抑制的に働くことがわかった。

(2) SN による増殖は IL - 7 によるものであることが、抗 IL - 7 抗体による活性中和実験で明らかになった。しかし抑制活性は抗 IL - 7 抗体では阻止できず IL - 7 によるものではないことが判明し、胸腺ストローマ由来の他の T 細胞増殖抑制因子 (TSTIF) の存在が示された。(3) 次に TSTIF が既知の細胞増殖抑制因子 (TGF - β , TNF - α , IL - 10) である可能性について検討した。TNF - α は抗原刺激による Th クローンの増殖を抑制しなかった。

またPCRによるmRNA分析の結果、既知の細胞増殖抑制因子としては $\text{TGF}-\beta 1$ および $\text{TGF}-\beta 2$ が MRL104.8a によって産生されているが、IL-10 は産生されていないことがわかった。しかし、抗 $\text{TGF}-\beta$ 抗体により TSTIF 活性は抑制されないことより、TSTIF は $\text{TGF}-\beta$ によるものではないことが確認され、本因子は既知の抑制因子とは異なることが判明した。(4) 次に TSTIF の生化学的性状について検討した。陽イオン交換カラムにより部分精製した IL-7 と TSTIF の両活性をもつ画分を用いて、ヘパリンアフィニティークロマトグラフィと HPLC によるゲル濾過クロマトグラフィを行った。その結果、TSTIF は IL-7 より僅かに弱いヘパリンアフィニティを示した。また IL-7 が 25,000 分子量であるのに対し、TSTIF の活性ピークは IL-7 活性のピークと僅かながらも明らかに異なり、分子量 20,000 - 25,000 を示すことがわかった。

[総括]

本研究により胸腺ストローマ細胞株 MRL 104.8a は、抗原刺激による T 細胞の増殖を抑制するが T 細胞増殖因子による増殖に対しては抑制作用を示さない因子 TSTIF を産生することがわかった。更にこの T 細胞増殖抑制因子 TSTIF は、既知の増殖抑制因子 ($\text{TGF}-\beta$, $\text{TNF}-\alpha$, IL-10) とは異なり、また 20 - 25k の分子量でヘパリン結合性を有することが判明した。

本因子の精製・抑制機構の分子レベルでの解析は胸腺における本因子の役割の理解のみならず、allograft response の抑制への応用等に結びつくものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

胸腺ストローマ細胞は、胸腺内における T 細胞の成熟過程において、重要な役割を果たしている。今回の胸腺ストローマ細胞が、抗原刺激による T 細胞の増殖を抑制する因子 TSTIF を産生することがわかった。更にこの T 細胞増殖抑制因子 TSTIF は、既知の増殖抑制因子 ($\text{TGF}-\beta$, $\text{TNF}-\alpha$, IL-10) とは異なり、また 20 - 25k の分子量でヘパリン結合性を有することが判明した。この因子は胸腺微小環境において negative selection に関与していると考えられ、胸腺ストローマ細胞による T 細胞の成熟過程の一つの機構を担っている可能性がある。更に、本来胸腺でのみ働いていると考えられる因子ではあるが、一般的な免疫応答の抑制への応用にも結び付けることもでき、以上の成果は重要な知見と考えられ、学位に値するものと認める。