



Title	B Cells Regulate CD40 Ligand-Induced IL-12 Production in Antigen — Presenting Cells (APC) During T Cell/APC Interactions.
Author(s)	丸尾, 聖爾
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40075
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	丸尾聖爾
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第12985号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	B Cells Regulate CD40 Ligand-Induced IL-12 Production in Antigen-Presenting Cells (APC) During T Cell/APC Interactions. (T細胞-抗原提示細胞(APC)相互作用におけるIL-12の産生機構およびB細胞上のCD40によるその調節)
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之
	(副査) 教授 平野 俊夫 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

【目的】

IL-12は抗原提示細胞(APC)より産生され、細胞性免疫の誘導において重要な役割を果たすことが明らかとなっており、その産生機構の解明は、免疫応答の理解とその制御を考える上で重要な意味を持つと考えられる。多くの研究から、IL-12産生は主に、LPS、SAC等のmicrobialな物質の刺激により誘導されると考えられてきた。しかし当研究室では、Thクローンを用いた解析から、Thクローン-APC相互作用においてもAPCからIL-12が産生されることを見い出し、さらにこのIL-12産生にはThクローン上に発現誘導されるCD40 Ligand (CD40L) が重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。本研究は、freshに調製した脾細胞画分を用いて、そのT細胞とAPCの相互作用におけるIL-12の産生機構を解明することを目的とした。

【方法】

C57BL/6マウスおよびCD40欠損マウスの脾細胞を用いた。B細胞、T細胞サブセットの除去はmagnetic beadsを用いたnegative selectionにより行った。培養上清中のIL-12活性は抗IL-12抗体とIL-12反応性細胞株2D6を用いたantibody-capture assayにより測定した。

【成績】

(1)脾細胞全画分を抗CD3抗体あるいはConAで刺激した培養上清中には有意なIL-12活性は検出されなかった。一方、B細胞を除去した脾細胞画分を抗CD3抗体あるいはConAで刺激した培養上清中には強いIL-12活性が検出された。B細胞除去脾細胞画分を抗CD3抗体あるいはConAで刺激する際に精製B細胞画分を添加すると、B細胞数依存的にIL-12産生が抑制された。(2)B細胞除去脾細胞から更にCD8⁺T細胞を除いた細胞画分を抗CD3抗体あるいはConAで刺激すると強いIL-12産生が認められたが、CD4⁺T細胞を除いた細胞画分に同様の刺激を加えても、IL-12産生は全く認められなかった。すなわち、抗CD3抗体あるいはConA刺激によるIL-12産生にはCD4⁻T細胞が必要であることが明らかとなった。(3)本系におけるCD40L-CD40経路の関与について検討した。まず、B細胞除去脾細胞を抗CD3抗体あるいはConAで刺激する際に抗CD40L抗体を加えたところ、IL-12産生はほぼ完全に抑制された。(4)次にB細胞除去脾細胞を抗CD3抗体あるいはConAで刺激した際のT細胞上のCD40L発現

を検討した。その結果、CD 8⁺T細胞上にはCD40Lの発現が全く認められない一方、CD 4⁺T細胞上にのみ認められ、上記のCD 4⁺T細胞によるIL-12産生誘導能の結果と一致した。一方、B細胞を含む脾細胞全画分を抗CD 3抗体あるいはConAで刺激した場合には、CD 4⁺T細胞上のCD40Lの発現は低いレベルに留まっていた。すなわちB細胞の共存により、CD 4⁺T細胞上のCD40Lの機能的発現が抑制されるものと考えられた。(5)CD40L-CD40経路が抗CD 3抗体あるいはConA刺激によるIL-12産生に不可欠であるかを、CD40欠損マウスを用いて検討した。wild typeマウス由来のB細胞除去脾細胞を抗CD 3抗体、ConA、CD40Lを発現させたCHO細胞で刺激すると強いIL-12産生が認められたが、CD40欠損マウス由来のB細胞除去脾細胞ではいずれの刺激に対してもIL-12の産生は全く認められなかった。すなわち、抗CD 3抗体あるいはConA刺激によるIL-12産生にはCD40L-CD40経路が不可欠であることが明らかとなった。

【総括】

Freshに調製した脾細胞画分を用いた検討から、CD 4⁺T細胞-APCの相互作用によりAPCからIL-12が産生されること、このIL-12産生にはCD40L-CD40経路が不可欠であること、さらに、CD40を発現しているB細胞がこのIL-12産生を抑制することが明らかとなった。B細胞によるこのようなCD40L-CD40経路を介したIL-12産生の調節は、免疫応答における細胞性免疫と液性免疫の誘導とそのバランスの制御に重要な役割を果たすものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

IL-12はAPCから産生され、細胞性免疫の誘導において重要な役割を果たすことが明らかとなっているサイトカインである。IL-12の産生経路として、病原微生物あるいはその産物の刺激によるIL-12産生経路（微生物経路）と、T細胞-APC相互作用を介したIL-12産生経路（活性化T細胞依存経路）の二つの経路が知られている。本研究者はこれまで、後者の経路についてThクローンを用いて解析を行ってきた。本研究は、freshに調製した脾細胞画分を用いて、活性化T細胞依存経路によるIL-12産生機構およびその調節機構をより広い視点から解明することを目的として行われ、その結果、以下の点を明らかにしている。(1)freshに調製したT細胞とAPCの相互作用においてもAPCからIL-12が産生され、この産生には、活性化CD 4⁺T細胞上に発現誘導されるCD40LとAPC上に発現しているCD40の相互作用が必要である。(2)CD40欠損マウスでは、活性化T細胞依存経路によるIL-12産生は全く認められない一方、微生物経路によるIL-12産生は正常に認められる。(3)活性化T細胞依存経路によるIL-12産生はB細胞の存在により抑制される。

これらの結果は、上述の二つのIL-12産生経路が明確に区別されるべきものであること、活性化T細胞依存経路においてはCD40L-CD40相互作用が必須であることを明解に示している。更に、B細胞がIL-12産生を調節するという結果は、免疫応答における細胞性免疫と液性免疫の誘導とそのバランスの制御にB細胞が積極的に関与する可能性を示すもので、これまでにない新たな知見を与えていた。以上の点から、本研究は学位を授与するに値するものであると考える。