

Title	インターフェロンガンマによって誘導される歯肉線維芽細胞のT細胞増殖反応制御機能の解析
Author(s)	島袋, 善夫
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40393">https://hdl.handle.net/11094/40393</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	島 袋 善 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 7 2 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 10 月 29 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	インターフェロンガンマによって誘導される歯肉線維芽細胞の T 細胞増殖反応制御機能の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡 田 宏 (副査) 教 授 濱 田 茂 幸 助 教 授 小 川 裕 三 助 教 授 開 祐 司

### 論 文 内 容 の 要 旨

辺縁性歯周炎は病理組織学的に多数の炎症細胞の浸潤が歯周組織に認められる慢性的炎症性疾患である。炎症歯肉組織中ではこれら免疫担当細胞より産生される種々のサイトカインの影響や宿主細胞間の直接的な相互作用により局所炎症反応の制御がなされていると考えられる。歯周疾患の免疫学的な解析はこれまでリンパ球、マクロファージなどいわゆる免疫担当細胞を主な対象とされてきた。近年、歯肉組織を構成する主要な細胞成分である歯肉線維芽細胞(HGF)が種々の刺激に反応してIL-1, IL-6などのサイトカインを産生したり、機能的な変化を受けることが明らかにされ、炎症反応におけるHGFの免疫学的な役割が注目されている。炎症性サイトカインの一つであるインターフェロンガンマ(IFN $\gamma$ )は通常免疫担当細胞にのみ発現されている主要組織適合遺伝子複合体(MHC)クラスII分子を間葉系の細胞にも誘導し、これら細胞の抗原提示機能にも影響を及ぼすユニークなサイトカインである。しかしながら、IFN $\gamma$ 刺激を受けたHGFが如何なる免疫学的機能を獲得するのか、その詳細は未だ明らかではない。本研究では炎症歯周組織にIFN $\gamma$ が産生されていることをまず明らかにし、歯周疾患の免疫学的病因の一端を解析する目的で、HGFがIFN $\gamma$ にて刺激されることによって如何なる免疫学的な機能を獲得し得るかについてT細胞に対する増殖誘導能に焦点をあてて検討を行った。そこで歯周外科処置時に採取した歯肉組織からmRNAを抽出しReverse Transcription-Polymerase Chain Reaction(RT-PCR)法、サザンブロット法によりIFN $\gamma$ mRNAの発現をまず解析した。その結果、歯周疾患に罹患した歯肉組織にIFN $\gamma$ mRNAの発現が確認された。このことから炎症歯周組織中で産生されるIFN $\gamma$ によりHGFが活性化されている可能性が示唆された。次に実験内容について同意を得た健常人より臨床的に健康な辺縁歯肉組織片を採取し*in vitro*に継代を行ったHGFがIFN $\gamma$ 刺激を受けることによりMHCクラスII分子の一つであるHLA-DR分子を発現するか否かについて検討を行った。その結果、抗-HLA-DR分子抗体を用いた免疫組織学的な解析によりIFN $\gamma$ はHGF上にHLA-DR分子の発現を誘導することが明らかとなった。またフローサイトメーターを用いた解析によってもそのことが確認され、さらにIFN $\gamma$ はT細胞活性化に関与する細胞接着分子の一つであるintercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)分子の発現をも増強することが明らかとなった。そこでIFN $\gamma$ 刺激を受けHLA-DR分子およびICAM-1分子を発現し抗原提示細胞(APC)と類似の表現型を示すこ

とが明らかとなった HGF が、APC と同様に抗原提示機能を持つか否かについてアロ反応性 T 細胞の増殖反応誘導能を指標に検討した。即ち健常人のヘパリン加末梢血より比重遠心法により分離した単核球をノイラミニダーゼ処理したヒツジ赤血球とのロゼット形成法にて分画回収し、これを T 細胞として実験に供した。アロ T 細胞を無刺激あるいは IFN $\gamma$  刺激後マイトマイシン C 処理を施した HGF と共に培養を行い、培養終了 6 時間前に添加したトリチウム-チミジン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。その結果、IFN $\gamma$  刺激を受けた HGF はアロ反応性非感作 T 細胞の増殖反応を誘導しなかった。また、IL-1, IL-2 あるいはプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) の生合成に関与するシクロオキシゲナーゼの阻害剤であるインドメタシンをその培養系に添加しても同様の結果であった。しかしながら HGF と同じドナー由来の APC にてあらかじめ *in vitro* で刺激を行った CD4 陽性 T 細胞 (アロ反応性感作 T 細胞) を反応細胞とすると、IFN $\gamma$  刺激を受けた HGF はこのアロ反応性感作 T 細胞の増殖反応を強く誘導した。次に IFN $\gamma$  刺激された HGF がアロ反応性非感作 T 細胞の増殖を十分に誘導し得なかった理由を解明するために、APC が T 細胞を活性化する際に重要な副刺激シグナルを伝達すると考えられる B7/BB1 (CD80) 分子の発現を検討したが、IFN $\gamma$  刺激を行った HGF 上にはその分子の発現は検出されなかった。このことより、T 細胞の活性化に必要な CD80/CD28 分子の相互作用を介した副刺激シグナルの欠如が IFN $\gamma$  刺激を行った HGF の抗原提示機能不全の理由の一つである可能性が示唆された。一方、IFN $\gamma$  刺激を行った HGF はフィトヘムアグルチニン (PHA) あるいはアロ APC 刺激によって誘導される T 細胞の増殖反応を著しく抑制することが明らかにされた。HGF の培養上清は PHA によって誘導される T 細胞の増殖反応をわずかに抑制し、HGF の培養上清作製時にインドメタシンを添加すると培養上清による抑制はみられなかった。このことにより HGF の培養上清中に存在する液性の抑制因子の主たる要因は PGE<sub>2</sub> であると推測された。しかしながら培養上清による T 細胞増殖反応抑制効果は HGF を IFN $\gamma$  処理することによっても処理しないときに比べて増強されず、またラジオイムノアッセイ法を用いて定量した HGF の培養上清中の PGE<sub>2</sub> 量は IFN $\gamma$  処理によっても著明な差異が認められなかった。以上のことから PGE<sub>2</sub> による T 細胞増殖反応抑制効果は IFN $\gamma$  に非依存的であると考えられた。そこで PHA 存在下で HGF と T 細胞を透過性メンブレンを介して同一ウェル内で培養して IFN $\gamma$  刺激を行った HGF による T 細胞増殖反応抑制メカニズムを検討すると、IFN $\gamma$  刺激の有無に関わらず僅かに T 細胞の増殖反応の抑制が認められた。一方、透過性メンブレンを介さず両細胞が直接接触できる条件下で培養を行うと、IFN $\gamma$  にて前処理された HGF は T 細胞の増殖反応を著しく抑制した。以上のことより HGF が直接的に T 細胞と接触して T 細胞増殖抑制効果が IFN $\gamma$  依存性に発揮されることが明らかとなった。この抑制作用が IFN $\gamma$  刺激を行った HGF がアロ反応性非感作 T 細胞の増殖反応を惹起できなかった理由の一つとして関与している可能性が示唆された。これらの結果から、HGF は歯周疾患病巣局所で産生される IFN $\gamma$  の刺激を受け、T 細胞との細胞間相互作用を介して T 細胞の増殖反応を両方向性に制御し、同部位での免疫反応に重要な影響をおよぼしていることが推測される。

## 論文審査の結果の要旨

本研究はインターフェロンガンマ (IFN $\gamma$ ) 刺激を受けた歯肉線維芽細胞 (HGF) が T 細胞増殖反応に及ぼす影響について解析したものである。その結果、IFN $\gamma$  刺激を受けた HGF は主要組織適合遺伝子複合体クラス II 抗原のひとつである HLA-DR 抗原を発現し、アロ反応性非感作 T 細胞の増殖反応は誘導しないものの、あらかじめアロ抗原刺激を受けた感作 T 細胞の増殖反応を誘導すること、その一方でフィトヘムアグルチニンにより誘導される非感作 T 細胞の増殖反応を直接的な細胞間接触により抑制することが明らかとなった。これらの知見は歯周炎病巣局所における HGF の T 細胞活性化制御機構を解明する上で重要な手がかりを与えるものであり、本研究は博士 (歯学) の学位請求に十分値するものと認める。