



Title	Mature CD4 Single Positive Thymocytes in Human Thymoma : T Cells May Differentiate in the Thymic Epithelial Cell Tumor
Author(s)	井上, 匡美
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40777
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	井上 崑 美
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13767 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Mature CD4 Single Positive Thymocytes in Human Thymoma: T Cells May Differentiate in the Thymic Epithelial Cell Tumor. ヒト胸腺腫内の成熟CD4 シングルポジティブ胸腺細胞: 胸腺上皮細胞性腫瘍におけるT細胞分化
論文審査委員	(主査) 教授 白倉 良太
	(副査) 教授 松田 晖 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

【目的】

一般に、胸腺上皮細胞は胸腺におけるT細胞分化と選択に中心的な働きをする胸腺間質細胞のひとつであるとされており、T細胞はこれらの間質細胞との相互作用により、ヒト胸腺内では CD4-CD8-cell から CD3-CD4+CD8-cell, CD4+CD8+cell を経由して CD4+CD8-または CD4-CD8+cell へと分化することが知られている。ヒト胸腺腫は時に重症筋無力症などの自己免疫疾患を合併しその発症に関与している可能性が示唆されているが、その詳細については未だ明らかにされていない。また、胸腺腫は腫瘍内に未熟なT細胞が豊富に存在する胸腺上皮細胞性腫瘍であるが、これら腫瘍内の未熟なT細胞に関する解析も十分にはなされていない。当教室では現在までに、正常胸腺とは異なり、胸腺腫には皮質型胸腺細胞の中でも CD4-CD8-cell から CD4+CD8+cell へ分化する過程にある未熟な CD3-CD4+CD8-cell が多数蓄積していることを報告してきた。私は、胸腺腫内には未熟な皮質型胸腺細胞とともに CD4+CD8-cell または CD4-CD8+cell も存在していることから、正常胸腺と同様に胸腺腫にもあらゆる分化段階のT細胞が存在するのではないかと考え胸腺腫内リンパ球の解析を行った。また、各分化段階のT細胞が存在するならば、胸腺腫内でT細胞が分化しているのではないかと考え、腫瘍上皮細胞のT細胞に対する分化誘導能を *in vitro* で再現することを試みた。

【方法】

1、対象はヒト胸腺腫22症例、腫瘍内リンパ球をステンレスメッシュを用いて回収し-200 °Cで保存した。解析時に解凍し Ficoll-Hypaque を用いた比重遠心法で死細胞および赤血球を除去し使用した。抗CD4, CD8, CD3, TcR $\alpha\beta$, CD69抗体を用い胸腺腫内リンパ球の phenotype を3color flow cytometry により解析した。胸腺腫内 CD4+CD8-cell または CD4-CD8+cell のリンパ球増殖能を調べるために concanavalin A によるリンパ球増殖反応試験を行い³H-thymidine の取り込みを測定した。CD4+CD8-cell または CD4-CD8+cell の解析には磁気ビーズを用いて細胞分離した。

2、胸腺腫内におけるT前駆細胞の存在を確かめるために、CD4-CD8-cell の CD34発現を flow cytometry で定量した。そして、胸腺腫切除標本を細切し 2-deoxyguanosine 处理によりリンパ球成分を除去した初代培養系から回収した腫瘍上皮細胞と、磁気ビーズを用いて分離した胸腺腫および正常胸腺由来の CD4-CD8-cell とを

recombinant interleukin-7(rIL-7)存在下に共培養しT細胞のphenotypeの変化をflow cytometryで経日的に観察した。

【成績】

1, 胸腺腫内リンパ球では、CD3がCD4+CD8-cellの47.8±6.9%とCD4-CD8+cellの99.1±0.4%に発現し、TcR $\alpha\beta$ がCD4+CD8-cellの33.0±7.0%とCD4-CD8+cellの83.3±5.5%に発現していた。CD3+CD4+CD8-cellの80.7±4.3%とTcR $\alpha\beta$ +CD4+CD8-cellの89.5±3.6%はCD69を発現していた。また、胸腺腫内のCD4+CD8-cellとCD4-CD8+cellはconcanavalin Aに対し増殖反応を示した。

2, 胸腺腫内CD4-CD8-cellの29.9±12.2%はCD34を発現したT前駆細胞であった。胸腺腫内および小児正常胸腺内CD4-CD8-cellと腫瘍上皮細胞とのrIL-7存在下共培養で、9日間でCD4-CD8-cellからCD4+CD8-cellを経由してCD4+CD8+cellの出現を認めた。

【総括】

1, 胸腺腫内には各分化段階のT細胞、すなわちCD34+CD4-CD8-cell、未熟なCD3-CD4+CD8-cell、CD4+CD8+cell、およびpositive selectionを受けたと考えられる比較的成熟したCD4+CD8-またはCD4-CD8+cellが存在した。

2, 胸腺腫内CD4およびCD8single positive cellはリンパ球としての増殖能を有していた。

3, 胸腺腫および正常胸腺から分離したCD4-CD8-cellをrIL-7存在下に胸腺腫腫瘍上皮細胞と共に培養するとCD4+CD8-cellを経てCD4+CD8+cellの出現をみた。

4, 胸腺腫の腫瘍上皮細胞は少なくとも胸腺皮質上皮細胞としてのT細胞分化誘導能を保持しており、腫瘍内におけるT細胞分化が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、高率に重症筋無力症などの自己免疫疾患を合併する胸腺腫の病態を明らかにするため、その腫瘍内に豊富に存在するT細胞のphenotypeを調べると同時に、腫瘍細胞の胸腺上皮細胞としてのT細胞分化誘導能をin vitroで検討したものである。対象は胸腺腫22症例である。まず腫瘍内リンパ球のphenotypeを3color flow cytometryにより解析し、リンパ球の多くは皮質型胸腺細胞であるが一部の細胞はCD69を発現しpositive selectionを受けたCD4+CD8-cellまたはCD4-CD8+cellであるという結果を得た。これらのCD4+CD8-cellまたはCD4-CD8+cellはconcanavalin Aによる刺激に対し増殖反応を示し機能的にも成熟していた。このように胸腺腫内にCD4-CD8-cellからCD4+CD8-cellまたはCD4-CD8+cellまでの各分化段階のT細胞が存在することは、胸腺腫内でT細胞が分化している可能性を示唆している。そこで、純化した腫瘍上皮細胞上で胸腺腫もしくは正常胸腺由来のCD4-CD8-cellをIL-7存在下に共培養しin vitroにおける分化誘導を試みた。その結果、9日間でCD4-CD8-cellからCD4+CD8-cellを経由してCD4+CD8+cellの出現を認めた。以上の結果は、胸腺腫腫瘍上皮細胞が胸腺上皮細胞としてのT細胞に対する分化誘導能を保持し、胸腺腫内においてT細胞が分化していることを示唆するものである。正常胸腺にみられるような皮質および髓質構造を欠いた胸腺腫内においてT細胞が分化した場合、正しいpositive selectionおよびnegative selectionを受けられない可能性があり、末梢血中に自己抗原反応性T細胞が出現する可能性が推測される。したがって、本研究は胸腺腫に伴う自己免疫疾患発症機序を明らかにする上で新しい知見であり学位に値するものと考える。