

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40777">https://hdl.handle.net/11094/40777</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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 匡 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 7 6 7 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 暉 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℃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concanavalin Aによるリンパ球増殖反応試験を行い<sup>3</sup>H-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処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 $47.8 \pm 6.9\%$ と CD4-CD8+cell の $99.1 \pm 0.4\%$ に発現し, TcR  $\alpha\beta$  が CD4+CD8-cell の $33.0 \pm 7.0\%$ と CD4-CD8+cell の $83.3 \pm 5.5\%$ に発現していた。CD3+CD4+CD8-cell の $80.7 \pm 4.3\%$ とTcR  $\alpha\beta$  +CD4+CD8-cell の $89.5 \pm 3.6\%$ 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 $29.9 \pm 12.2\%$ 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髄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らる。