The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Interleukin-12 activates human γδT cells : synergistic effect of tumor necrosis factor-α
Author(s)	上田, 千里
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40902
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

【 20 】

氏　　名	上田千里（うえたちさと）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　13313　号
学位授与年月日	平成9年5月30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	Interleukin-12 activates human $\gamma\delta$ T cells: synergistic effect of tumor necrosis factor-α （インターロイキン-12によるヒト $\gamma\delta$ T細胞の活性化：腫瘍壊死因子による相乗効果）
論文審査委員	（主査） 教授　岸本　忠三 （副査） 教授　濵岡　利之　　教授　菊谷　仁

論文内容の要旨

［目的］ $\gamma\delta$ T細胞は結核菌を含む細胞内寄生菌感染に際し増加する。そして細胞内寄生菌感染に対し特に初期防御に働いていると考えられている。我々は，既に臍帯血中 $\gamma\delta$ T細胞が，抗酸菌菌体刺激単球培養上清により活性化されることを報告した（Infect. Immun. 59：3053・3059）。今回この単球由来可溶性因子の解析を試みた。

［対象と方法］ ヒト末梢血単核球（PBMC）は，健常成人よりヘパリン採血し，Ficoll-Hypaque 比重遠心法により分離した。さらにT細胞分画，$\gamma\delta$ T細胞分画は種々の抗体とマグネットビーズを用いた negative selection により得た。リンパ球幼若化反応はリンパ球を *in vitro* 培養後，[^{3}H]-チミジンの細胞への取込みを測定し cpm で表した。モノカインは IL-1β，IL-6，IL-8，IL-12，TNF-α，GM-CSF を用いた。細胞表面マーカーは，二重免疫蛍光染色をおこない FACScan にて解析した。抗酸菌菌体刺激単球培養上清中の IL-12，TNF-α 活性は ELISA にて測定した。

［成績］ 1．検討したモノカインの中で唯一 IL-12刺激により有意の PBMC による[^{3}H]-チミジンの取込みを認めた[medium：$0.3\pm0.0\times10^3$cpm，IL-12(300pg/ml)：$2.6\pm0.7\times10^3$cpm，mean±SEM，$n=9$，$p=0.01$]。このときに CD3 陽性細胞中 $\gamma\delta$ T細胞の割合が増加した[medium：4.7±0.8%，IL-12(300pg/ml)：15.9±4.4%，mean±SEM，$n=9$]。2．PBMC を IL-12（3-300pg/ml）刺激したとき，medium だけで培養したものと比較して CD25 陽性 $\gamma\delta$ T細胞，TNF-receptor（TNFR）陽性 $\gamma\delta$T T胞は増加した。しかし検討した IL-12（0.3-300pg/ml）刺激の範囲内では CD25 陽性 $\alpha\beta$ T細胞の数に有意な変化は認められなかった。3．IL-12刺激による CD25 陽性 $\gamma\delta$ T細胞の増加は抗 TNF-α 抗体，もしくは抗 TNFR 抗体によりほぼ完全に抑制された。4．IL-12刺激による CD25 陽性 $\gamma\delta$ T細胞の増加は TNF-α を加えることでさらに増強された。5．IL-12刺激により活性化され CD25 を発現した $\gamma\delta$ T細胞は IL-2（5U/ml）に反応し[^{3}H]-チミジンの取込みを認めた。6．抗酸菌菌体刺激単球培養上清中 IL-12（8.1±2.1pg/ml，mean±SEM，$n=3$）及び TNF-α を認めた。

［総括］ 我々は IL-12が $\gamma\delta$ T細胞を活性化し，分裂増殖させることを示した。さらに IL-12による $\gamma\delta$ T細胞活性化は TNF-α を介していること，TNF-α がこの IL-12による活性化に相乗的にはたらくことも示した。活性化された CD25 陽性 $\gamma\delta$ T細胞は IL-2に反応しさらに増殖した。$\gamma\delta$ T細胞はその TCR を介さずに可溶性因子の組み合わせにより活

性化，増殖した。いっぽうIL-12/TNF-αは抗酸菌菌体刺激によりヒト末梢血単球より分泌された。これらの結果より我々は次のように考えている。抗酸菌が感染したマクロファージはIL-12とTNF-αを産生する。このIL-12が$\gamma\delta$T細胞に働きTNF-αの産生とTNFRの発現を促す。これらTNF-αがオートクライン，パラクライン様にTNFR陽性$\gamma\delta$T細胞に働きCD25を発現させ，分裂増殖させる。この増殖はIL-2の存在下でさらに増強される。このように活性化された$\gamma\delta$T細胞はIFN-γを産生し感染防御に関与しているだろうと考えられた。

論文審査の結果の要旨

IL-12は$\gamma\delta$T細胞を活性化し，分裂増殖させた。さらにIL-12による$\gamma\delta$T細胞活性化はTNF-α/TNF-α receptorを介していた。またTNF-αはこのIL-12による活性化に相乗的に働いていた。活性化されCD25を発現した$\gamma\delta$T細胞はIL-2に反応し，さらに増殖した。$\gamma\delta$T細胞はそのTCRを介さずに可溶性因子の組み合わせにより活性化，増殖した。一方IL-12/TNF-αは抗酸菌菌体刺激によりヒト末梢血単球より分泌された。これらの結果は，抗酸菌の感染に際しマクロファージより産生される可溶性因子（IL-12/TNF-α）により$\gamma\delta$T細胞が活性化され，感染防御に関与しているであろうことを示唆する。

新しい結核ワクチンの開発を考えるとき単球/マクロファージからのIL-12/TNF-α産生，それに引き続く$\gamma\delta$T細胞を含めた自然免疫の活性化を考慮に入れることが重要であることを明らかにしたことは学位に値すると考える。