



Title	A fundamental difference in the capacity to induce proliferation of naive T cells between CD28 and other co-stimulatory molecules
Author(s)	大谷, 有美
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41637">https://hdl.handle.net/11094/41637</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">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	大 谷 有 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 4 5 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成11年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	A fundamental difference in the capacity to induce proliferation of naive T cells between CD28 and other co-stimulatory molecules (T細胞活性化におけるCD28と他の副刺激分子の作用機構の本質的な差異)
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】

T細胞が活性化されるためにはT細胞レセプター (TCR) からのシグナルと同時に、副刺激が必要である。この副刺激を供給する分子としてはT細胞上に発現するCD28がその機能を完遂する主要な分子であるが、CD28とは独立した副刺激分子の存在も示唆されている。この中には細胞膜蛋白であるCD2, CD5, CD44, インテグリン分子さらには4回膜貫通型蛋白質 (TM4SF) の一員であるCD81, CD82など数多くの分子が報告してきた。最近当研究室で、TM4SFの一つであるCD9がT細胞活性化における副刺激分子として機能すること、この副刺激はCD28によるものと同等の強力な活性化の初期シグナルを誘導するが、一度活性化した後に増殖を誘導することなく最終的にはアポトーシスを引き起こすことを明らかにした。そこで本研究では、CD28以外の種々の副刺激分子が、CD28と同様な副刺激分子として機能するかまたはCD9と同様に一度活性化した後に細胞死に至るかという副刺激分子の作用機構の本質を解析することを目的とした。

#### 【方法】

T細胞はリンパ節細胞からB細胞とAPCを除去して調製した。増殖応答性は、sub optimal doseの抗CD3抗体 (2C11)とともに、CD28, CD9, CD5, CD2, CD44, LFA1,  $\beta$ 1インテグリンに対する抗体を固相化してT細胞を副刺激し、 $^3$ H-TdRの取り込みにより測定した。IL-2産生は、CTLL-2を用いて測定した。細胞周期の解析はPIで染色後、FACSにより解析した。アポトーシスはDNAの断片化により検出した。

#### 【成績】

(1)まず初めに、T細胞副刺激による $^3$ H-TdRの取り込みについて比較検討した。TCR単独刺激の場合に比べて、いずれの副刺激においても $^3$ H-TdRの取り込みが増強されたが、CD28による刺激では経時的に $^3$ H-TdRの取り込みが増加したのに対し、CD9はもとよりCD28以外の種々の副刺激分子による刺激では、刺激後3日目には2日目にくらべて $^3$ H-TdRの取り込みがほとんど増加しなかった。(2)生細胞数はCD28によるT細胞副刺激では持続的に増加したのに対し、CD28以外の分子による副刺激では経時的に減少し、細胞死が起こっていることが明らかとなった。(3)これらの細胞死がアポトーシスであるか否かを検討した結果、細胞周期の解析によってDNAの凝縮が観察さ

れ、またDNAの断片化が惹起されたことから、アポトーシスであることが分かった。(4)T細胞活性化におけるCD28分子の主要な作用がIL-2などのサイトカイン産生の増強であることから、T細胞増殖に必須のIL-2産生量をそれぞれの副刺激において調べた。この結果、CD28以外の分子による副刺激ではすべて一過性の低いレベルのIL-2産生しか誘導できないことが明らかになった。そこで副刺激を行う際にrIL-2を添加し細胞死が回避されるか否かを検討した結果、持続的な生細胞数の増加が認められた。(5)また、CD28のシグナル伝達経路はT細胞のsurvivalに重要なbcl-X<sub>L</sub>を誘導しアポトーシスを回避することが報告されているので、CD9およびCD28による副刺激においてbcl-X<sub>L</sub>の発現誘導を比較検討した。CD28による副刺激ではbcl-X<sub>L</sub>の発現が強力に誘導されたが、CD9による副刺激では弱いレベルでしかbcl-X<sub>L</sub>の発現を誘導できなかった。

### 【総括】

CD28による副刺激ではサイトカイン産生によってresting T細胞の増殖を誘導するだけでなく、cell survival factorであるbcl-X<sub>L</sub>の発現も増強し、アポトーシスを回避している。しかしながらCD9を含め、CD5, CD2, CD44, LFA1,  $\beta$ 1インテグリン等のnon-CD28副刺激分子によっては、<sup>3</sup>H-TdRの取り込みで示されるような強力な初期活性化シグナルを誘導するが、一過性の低いレベルのIL-2しか産生できず、bcl-X<sub>L</sub>の発現を強力に誘導できなかったために、T細胞は増殖することなくアポトーシスを引き起こした。以上より、CD28以外の分子による副刺激分子は一過性の活性化であり、持続的なT細胞の増殖を惹起するCD28による副刺激とは本質的に異なる刺激であることが明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

T細胞が活性化されるためにはT細胞レセプター (TCR) からのシグナルと同時に、副刺激が必要である。この副刺激を供給する分子としてはT細胞上に発現するCD28がその機能を完遂する主要な分子である。CD28による副刺激ではサイトカイン産生によってresting T細胞の増殖を誘導するだけでなく、cell survival factorであるbcl-X<sub>L</sub>の発現をも増強し、アポトーシスを回避することが報告されている。一方、CD28とは独立した副刺激分子の存在も示唆されており、当研究室ではTM4SFの一つであるCD9がT細胞活性化における副刺激分子として機能することを明らかにしている。しかしながらCD9による副刺激はCD28によるものと同等の強力な活性化の初期シグナルを誘導するが、一度活性化した後に増殖を誘導することなく最終的にはアポトーシスを引き起こすことが明らかになった。本研究では、CD28以外の種々の副刺激分子が、CD28と同様な副刺激分子として機能するかまたはCD9と同様に一度活性化した後に細胞死に至るかという副刺激分子の作用機構について解析した。その結果、CD9を含め、CD5, CD2, CD44, LFA-1,  $\beta$ 1インテグリン等のnon-CD28副刺激分子によっては、<sup>3</sup>H-TdRの取り込みで示されるような強力な初期活性化シグナルを誘導するが、一過性の低いレベルのIL-2しか産生できず、bcl-X<sub>L</sub>の発現を強力に誘導できなかったために、T細胞は増殖することなくアポトーシスを引き起こす事が明らかとなった。本研究によって、CD28以外の分子による副刺激は一過性のT細胞活性化を惹起するのみであり、完全なT細胞の活性化・増殖を惹起するCD28による副刺激とは本質的に異なる刺激であるという注目すべき事実が見いだされた。

以上より、本研究はT細胞活性化における副刺激分子の種類とそれぞれの作用機構について生物学的に重要な知見を提供するものであり、学位の授与に値すると考えられる。