



Title	A novel function of V α 14+CD4+NKT cells : stimulation of IL-12 production by antigen-presenting cells in the innate immune system
Author(s)	戸村, 道夫
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42707
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	戸村道夫
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第15888号
学位授与年月日	平成13年2月28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	A novel function of $V\alpha 14^+$ CD4 $^+$ NKT cells: stimulation of IL-12 production by antigen-presenting cells in the innate immune system. ($V\alpha 14^+$ CD4 $^+$ NKT細胞の新しい機能:自然免疫系における抗原提示細胞からのIL-12産生刺激)
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】

免疫応答のTh1/Th2分化において、IL-4はTh2応答の誘導、IL-12及びIFN- γ はTh1応答の誘導に重要である。そして、T細胞活性化の初期段階で存在するサイトカインがTh1/Th2分化に重要であることから、自然免疫系の応答がTh1/Th2分化に影響を与えるという仮説が提唱されてきた。自然免疫系において、class I類似分子であるCD1dを認識する $V\alpha 14^+$ TCR $^+$ NK1.1 $^+$ T($V\alpha 14^+$ NKT)細胞は抗CD3抗体で刺激すると短時間に大量のIL-4を産生することから、Th2応答の誘導に関わる可能性が考えられてきた。しかし一方、Th1分化に重要なサイトカインであるIL-12産生に $V\alpha 14^+$ NKT細胞が如何に関わっているかは、全くわかっていない。そこで本研究は、 $V\alpha 14^+$ NKT細胞と抗原提示細胞(APC)の相互作用によって誘導されるサイトカイン、特にIL-12の産生について検討し、その産生機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】

$V\alpha 14^+$ NKT細胞のTCRを特異的に刺激する抗原として、APCのCD1dによって提示される α -Galactosylceramide(α -GalCer)を用いた。培養上清及び血清中のIL-12はAb-capture assayで、IL-4及びIFN- γ はELISA法により定量した。

【成績】

(1) C57BL/6系マウスの脾細胞からB細胞を除去した画分に、 α -GalCerを加えて培養した所、培養上清中にはIL-4、IFN- γ に加えIL-12の産生が認められた。そして、このIL-12産生は抗CD40L抗体の添加により完全に抑制された。また、 β_2 -microglobulin $^+$ (CD8 $^+$ T細胞及びNKT細胞が欠損)及び $J\alpha 281$ TCR $^+$ ($V\alpha 14^+$ NKT細胞のみ欠損)では α -GalCerで刺激してもIL-12は産生されなかった。それに対し、 $A_\beta^{b^+}$ マウス(class II拘束性CD4 $^+$ T細胞のみ欠損し、 $V\alpha 14^+$ NKT細胞は存在)では α -GalCerによりIL-12が産生された。これらの結果から、活性化した $V\alpha 14^+$ NKT細胞はCD40L-CD40経路を介して、APCからのIL-12産生を誘導することが示された。(2) $V\alpha 14^+$ NKT細胞はCD4 $^+$ とCD4 $^+$ 亜集団よりなるが、 $V\alpha 14^+$ NK細胞を活性化した後にCD40Lの発現をフローサイトメトリーで調べたところ、CD4 $^+$ 亜集団にのみ発現が認められた。また、CD4 $^+$ $V\alpha 14^+$ NKT細胞の存在する画分を α -GalCerで刺激したときにのみIL-12産生が認められた。従って、 $V\alpha 14^+$ NKT細胞の中でもCD4 $^+$ 亜集団が、活性化によりCD40Lを発現しAPCからのIL-12産生を誘導することが示された。(3) 更に、 α -GalCer刺激時に抗IL-12抗体

を添加したところ、IFN- γ 産生はほとんど抑制され、IL-4産生は変わらなかった。従って、V α 14 $^+$ NKT細胞の活性化によって誘導されるIFN- γ の大部分は、endogenousに産生されたIL-12により二次的に産生されていることが示された。(4) α -GalCerをマウスに投与し脾臓でのmRNAの発現をRNAse protection assayで検出したところ、投与3-6時間後にIL-12 p35及びp40mRNAの発現が認められ、血清中に6-9時間をピークにIL-12が検出された。また、IFN- γ は投与後18時間以降まで高濃度で持続的に検出されたのに対し、IL-4は投与後3時間をピークとする一過性の産生が認められた。

【総括】

V α 14 $^+$ NKT細胞の中でも活性化したCD4 $^+$ V α 14 $^+$ NKT細胞亜集団がCD40Lを発現し、APC上のCD40を刺激することによってAPCからのIL-12産生を誘導すること、そして、産生されたIL-12はV α 14 $^+$ NKT細胞活性化によって誘導されるIFN- γ 産生を二次的に誘導していることが明らかとなった。従来、V α 14 $^+$ NKT細胞はIL-4を産生することからTh2分化に関わる可能性が考えられてきた。しかし、当研究の知見によりV α 14 $^+$ NKT細胞はIL-12産生を誘導することによってTh1分化にも関わっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

免疫応答のTh1/Th2分化において、IL-4はTh2応答の誘導、IL-12及びIFN- γ はTh1応答の誘導に重要である。そして、T細胞活性化の初期段階で存在するサイトカインがTh1/Th2分化に重要であることから、自然免疫系の応答がTh1/Th2分化に影響を与えるという仮説が提唱されてきた。自然免疫系において、class I類似分子であるCD1dを認識するV α 14TCR \cdot NK1.1 \cdot T(V α 14 $^+$ NKT)細胞は抗CD3抗体で刺激すると短時間に大量のIL-4を産生することから、Th2応答の誘導に関わる可能性が考えられてきた。一方、V α 14 $^+$ NKT細胞はTh1サイトカインであるIFN- γ を産生することも分かっている。しかし更に、抗原提示細胞から分泌され、Th1分化に重要なサイトカインであるIL-12の産生にV α 14 $^+$ NKT細胞が如何に関わっているかは全くわかっていない。そこで本研究は、V α 14 $^+$ NKT細胞と抗原提示細胞(APC)の相互作用によって誘導されるサイトカイン、特にIL-12の産生について検討し、その産生機構を解析した。V α 14 $^+$ NKT細胞の選択性的活性化は、抗原提示細胞のCD1dによって提示される糖脂質抗原である α -Galactosylceramideにより行った。 α -Galactosylceramideをin vitro培養系に添加、あるいはマウスに投与して、V α 14 $^+$ NKT細胞を活性化したところ、いずれの場合にも、IL-12の産生が誘導された。そこでさらにその産生機構を解析すると、V α 14 $^+$ NKT細胞の中でも活性化したCD4 $^+$ V α 14 $^+$ NKT細胞亜集団がCD40Lを発現し、APC上のCD40を刺激することによってAPCからのIL-12産生を誘導することが明らかとなった。更に、V α 14 $^+$ NKT細胞活性化によって誘導されるIFN- γ 産生は、産生されたIL-12によって二次的に誘導されることも示された。従来、V α 14 $^+$ NKT細胞はIL-4を産生することからTh2分化に関わる可能性が考えられてきた。しかし、当研究の知見によりV α 14 $^+$ NKT細胞はIL-12産生を誘導することによってTh1分化にも関わっている可能性が示唆された。

以上より、本研究は自然免疫系においてCD4 $^+$ V α 14 $^+$ NKT細胞が抗原提示細胞からのIL-12産生を誘導するという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。