

Title	CD28 co-stimulatory signals induce IL-2 receptor expression on antigen-stimulated virgin T cells by an IL-2-independent mechanism
Author(s)	豊岡, 和人
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43075">https://hdl.handle.net/11094/43075</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"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	豊岡かずひと
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 14813 号
学位授与年月日	平成 11 年 5 月 6 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	CD28 co-stimulatory signals induce IL-2 receptor expression on antigen-stimulated virgin T cells by an IL-2-independent mechanism (T細胞における CD28副刺激による IL-2 非依存的な IL-2 受容体発現誘導機構)
論文審査委員	(主査) 教授 瀧岡 利之 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 平野 俊夫

## 論文内容の要旨

### [目的]

我々はこれまでに、B6 マウスを MHC クラス II-disparate な bm12 マウス B 細胞で静脈内投与により前感作しておく、B6 マウス CD4<sup>+</sup> T 細胞は bm12 に対して反応できなくなることを *in vitro* (MLR: Mixed Lymphocyte Reaction) と *in vivo* (皮膚移植) で明らかにしてきた。そこで本研究は bm12 B 細胞が B6 T 細胞を活性化できるのか否か、更にもし活性化を誘導できないのであればその原因がいかなる機構であるのかを分子レベルで解析することを目的とした。

### [方法]

マウスは C57BL/6 (B6)、及び B6 のクラス II ミュータントである bm12 を用いた。応答 T 細胞は B6 マウス脾細胞を磁気ビーズ、G10 カラムに通過させることにより調製した。又刺激 B 細胞は bm12 脾細胞から抗原提示細胞及び T 細胞を除去して調整した。増殖反応は <sup>3</sup>H-TdR の取り込み、IL-2 活性は CTLL-2 細胞を用いて測定した。IL-2 レセプター (IL-2R $\alpha$  鎖) 発現はフローサイトメトリーで解析した。mRNA の検出は、MLR 培養後回収した T 細胞の total RNA より、RNase Protection assay 法で検出した。

### [成績]

(1) B6 マウス T 細胞を *in vitro* で bm12 脾細胞全画分で刺激すると、培養後 4~5 日をピークとする強力な MLR が誘導された。一方、bm12 B 細胞画分での刺激は全く MLR を惹起しなかった。(2) 同様に IL-2 産生についても調べた結果、bm12 脾細胞全画分刺激では強い IL-2 産生が mRNA レベルと蛋白質レベルで検出された。一方、bm12 B 細胞画分刺激では IL-2 はわずかに産生されるのみであった。(3) T 細胞の増殖には IL-2 が必要であることが報告されていることから、bm12 B 細胞画分刺激により T 細胞が増殖できないのは、充分量の IL-2 が産生されないことによるものと考えられた。そこで、bm12 B 細胞画分刺激の際にリコンビナント IL-2 を添加し、T 細胞が増殖できるようになるのかについて検討した。しかしながら、充分量の IL-2 を添加しても T 細胞は増殖できなかった。(4) このことから、bm12 B 細胞画分刺激では IL-2 だけでなく IL-2R 発現も誘導されないのではないかと考え、IL-2R の発現について解析し

た。その結果、bm12脾細胞全画分刺激では IL-2R の発現誘導が観察されたが、bm12 B細胞画分刺激では IL-2R の発現は惹起されなかった。(5)T細胞表面上の強力な副刺激分子である CD28刺激により bm12 B細胞画分刺激では達成されなかったT細胞の活性化が誘導されるのかについて調べた。bm12 B細胞画分刺激の際に抗 CD28抗体を添加すると、増殖応答性、IL-2 産生及び IL-2R 発現のすべてが引き起こされることがわかった。(6)逆に、bm12脾細胞全画分刺激する時、CD28/B7 の結合を阻害する CTLA4-Ig 融合分子を培養中に加えると、増殖応答性、IL-2 産生及び IL-2R 発現のすべてが抑制されることが確かめられた。(7)IL-2 は IL-2R の発現に重要であることが知られていることから、bm12 B細胞画分刺激により B6 T細胞が IL-2R を発現するためには IL-2 が必要であることが考えられる。そこで、bm12 B細胞画分刺激の時にリコンビナント IL-2 を加えると IL-2R の発現が誘導されるのかを調べたが、充分量の IL-2 を加えても IL-2R 発現は惹起されなかった。更に IL-2 の IL-2R 発現への効果を検討した。bm12脾細胞全画分刺激及び [bm12 B細胞画分+抗 D28抗体] の刺激を行う時、抗 IL-2 抗体で IL-2 の活性を阻害すると抗 IL-2 抗体を加えない場合に比べて IL-2R 陽性細胞の頻度は変わらないが、IL-2R の発現レベルが低下することが明らかにされた。

[総括]

bm12 B細胞画分刺激により B6 T細胞が増殖できないのは、CD28を介した副刺激の欠如により IL-2 産生のみならず IL-2R の発現が惹起されないことが原因であることがわかった。更に、IL-2 だけでは IL-2R の発現誘導には不十分で、IL-2 は CD28副刺激により発現が誘導された IL-2R の発現レベル増強に寄与していることが示された。

## 論文審査の結果の要旨

宿主に何らかの処置を加えて宿主T細胞の反応性を移植抗原特異的に抑制する試みが数多く行われてきた。我々の研究室においても B6 マウスをそのクラス II MHC ミュータントである bm12マウス B細胞で静脈内感作により前処置しておく、B6 マウス T細胞の抗 bm12反応性はほぼ完全に除去され、bm12移植片は長期間生着することを明らかにしている。すなわち、クラス II MHC が異なる系ではドナー B細胞を用いた静脈内前感作によってアロクラス II 拘束性 T細胞が免疫寛容に導入されることが示された。そこで本研究では bm12 B細胞が B6 T細胞を活性化できるのか、更にもし活性化を誘導できないのであればその原因がいかなる機構によるのかについて解析した。その結果、bm12 B細胞は B6 T細胞に対してわずかな量の IL-2 産生を惹起できるが、IL-2 レセプター (IL-2R) 発現を誘導できないために  $^3\text{H-TdR}$  の取り込みで示されるような増殖応答性を誘導できなかった。更に、bm12 B細胞刺激と同時に IL-2 で B6 T細胞を刺激しても IL-2R 発現と増殖応答性を誘導できないことも明らかにされた。本研究によって、bm12マウス B細胞単独刺激に対して B6 マウス T細胞が反応できないのは、充分量の IL-2 が産生されないためだけでなく、IL-2R の発現も惹起されないことが原因であることが示された。更に、IL-2 だけでは IL-2R の発現には不十分で、IL-2 は CD28副刺激によって誘導された IL-2R の発現レベルを増強しているという注目すべき事実が見い出された。

以上より、本研究は T細胞活性化における CD28と IL-2 の作用機構について細胞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思われる。