



Title	Generation of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes from healthy individuals with peptide-pulsed dendritic cells
Author(s)	伊藤, 彰彦
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43159
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	伊 藤 彰 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 4 1 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 5 月 14 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	Generation of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes from healthy individuals with peptide-pulsed dendritic cells (樹状細胞による HCV 特異的細胞障害性 T リンパ球の誘導)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 正二 (副査) 教 授 林 紀夫 教 授 山西 弘一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

C 型肝炎において細胞障害性 T 細胞 (以下 CTL) が肝炎の病態や HCV の排除に関与していると考えられているが、一般に C 型慢性肝炎の患者は免疫応答が弱く CTL の働きが十分でないと考えられる。一方、樹状細胞 (Dendritic cell 以下 DC) は最も強力な抗原提示細胞で、種々の costimulatory molecule、サイトカインを発現または分泌しナイーブな T 細胞をも活性化すると考えられている。

本研究では DC を用いて効率的に HCV 特異的 CTL を誘導する方法を開発することを目的とした。

【方法ならびに成績】

5 人の HCV 非感染者を対象とした。その内 3 名が HLA-A2 陽性、2 名が HLA-A24 陽性、1 名がいずれも陰性のコントロールであった。末梢血からリンパ球を採取し前駆細胞を分離し、これを GM-CSF、IL-4 で刺激することにより DC を誘導した。得られた DC の表面マーカーをフローサイトメトリーで確認し、allogeneic のリンパ球混合培養反応 (MLR) で抗原提示能の強さを評価した。CTL は autologous の T 細胞を、マイトマイシン C で処理し HLA-A2 もしくは A24 の binding motif を含むペプチドをパルスした DC と混合培養し IL-7、IL-2 で刺激することにより誘導した。ペプチドは HLA-A2 の binding motif を含むものを HCV のコア (ペプチド 1) および NS4 領域 (ペプチド 2) の 2 種類、A24 のものは HCV の NS3 領域から 2 種類 (ペプチド 3, 4) を準備した。CTL の細胞障害活性は autologous の Con A blast にペプチドをパルスしたものをターゲットとし、クロムリリースアッセイにて評価した。得られた CTL は HLA クラス I、II の抗体で活性を抑制したり、あるいは抗 CD4、抗 CD8 抗体で細胞を選別することで、その表現型を確認した。

得られた DC は HLA クラス I、クラス II、B7-1、B7-2、ICAM-1 等を強発現していた。allogeneic の MLR ではコントロールの Con A blast に比し明らかに強力な抗原提示能を示した。DC により誘導された CTL は、CD8 陽性細胞を除去すること、あるいは抗 HLA クラス I 抗体を加えることで活性が抑制された。NK 細胞感受性である K 562 細胞に対しては活性を示さなかった。以上より得られた CTL は HLA クラス I 拘束性の CD8 陽性の CTL であると考えられた。CTL は A2、コアのペプチド 1 では 3 名中 3 名、A2、NS4 のペプチド 2 では 2 名で活性が得られた。A24 はペプチド 3 では 2 名中 2 名で活性が得られたが、ペプチド 4 では活性が得られなかった。HLA-A2、A24 をもたないコントロールのリンパ球からは、いずれのペプチドでも CTL は得られなかった。

【総括】

樹状細胞を用いることにより、HCV 非感染者のリンパ球から HCV 特異的 CTL を誘導することが可能であった。HCV 非感染者は CTL の前駆細胞が少ないと考えられるが、本研究のように樹状細胞を用いた方法は従来報告されていた方法に比し効率的であった。樹状細胞を用いた C 型慢性肝炎の治療の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

樹状細胞は生体においてもっとも強力な抗原提示細胞で naive な T 細胞をも活性化する。C 型慢性肝炎においては細胞障害性 T 細胞 (CTL) が誘導されにくいことが持続感染に関与している可能性があり C 型慢性肝炎における樹状細胞の機能を明らかにする必要がある。

伊藤彰彦君は樹状細胞が naive な T 細胞から HCV 特異的 CTL を誘導できるか否かを検討した。HCV 非感染者のリンパ球を樹状細胞で刺激し、HCV 特異的 CTL を誘導した。樹状細胞は末梢血リンパ球を採取しこの中の前駆細胞を GM-CSF、IL-4 の存在下で培養し、誘導した。これに HCV ペプチドをパルスし、autologous な T 細胞と混合培養した。得られた細胞は HCV のペプチドを認識し、細胞障害活性を発揮し HCV 特異的 CTL であることが確認された。

一方、C 型慢性肝炎患者の樹状細胞は非感染者に比し costimulatory molecule の発現、MLR における allogeneic T 細胞に対する抗原提示能、サイトカイン産生能において低下がみとめられた。

以上の事実より C 型慢性肝炎において樹状細胞機能を回復させることが C 型慢性肝炎の治療に結びつくことが考えられ、伊藤彰彦君のこの業績は学位に値するものとする。