The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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

【19】

氏　　名	伊藤彰彦（いとう あきひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16417　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K562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考える。