



Title	A New IFN-Like Cytokine, Limitin Modulates the Immune Response Without Influencing Thymocyte Development
Author(s)	高橋, 功
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43693
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	たか はし いさお 高 橋 功
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 8 2 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	A New IFN-Like Cytokine, Limitin Modulates the Immune Response Without Influencing Thymocyte Development (新規インターフェロン様サイトカイン limitin は胸腺細胞の成熟には影響なく免疫応答を制御する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 金倉 讓 教 授 吉川 邦彦

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Limitin は当教室においてストローマ細胞株 BMS2.4 が産生する白血病細胞増殖抑制因子として新しく同定された分子である。Limitin は IFN- α/β とアミノ酸レベルで約30%の相同性を持ち、IFN- α/β 受容体に結合し生理活性を発揮することより type I IFN family に属すると考えられている。Limitin は IFN- α/β と同様に抗腫瘍作用や抗ウイルス作用を有するが、IFN- α/β と異なり骨髓球系細胞や赤芽球系細胞の増殖に影響を及ぼさない特徴を有している。このことより limitin は骨髓抑制の少ない新規の IFN として臨床応用上より安全性の高いものと考えられる。IFN- α/β は直接腫瘍に働くだけでなく免疫を介して腫瘍細胞の増殖を抑制することが示されているが、limitin の免疫調節作用については未だ不明である。本研究では limitin の T 細胞機能に対する影響を明らかにすることを目的とした。

【方法ならび成績】

1) 材料

Limitin とヒト免疫グロブリン融合蛋白である limitin-Ig とそのコントロールとして CD44-Ig 融合蛋白を作製した。抗原特異的な T 細胞反応をみるため、MHC クラス I 拘束性または MHC クラス II 拘束性に卵白アルブミン (OVA) 抗原特異的な T 細胞受容体を発現するトランスジェニックマウス (OT-I マウス・OT-II マウス) および MHC クラス II プロモーター下に OVA 遺伝子を発現するトランスジェニックマウス (II-mOVA マウス) を用いた。OVA 抗原提示細胞として OVA 遺伝子と MHC クラス II 遺伝子を導入した EL-4 細胞 (EL-4AbOVA 細胞) とそのコントロールとして MHC クラス II 遺伝子のみを導入した EL-4 細胞 (EL-4Ab 細胞) を用いた。

2) Limitin の T 細胞増殖に及ぼす影響

OVA 抗原特異的な CD8⁺ T 細胞増殖 (OT-I 由来 T 細胞を EL-4AbOVA 細胞で刺激) や OVA 抗原特異的な CD4⁺ T 細胞増殖 (OT-II 由来リンパ節細胞を OVA クラス II ペプチドで刺激) は limitin-Ig の添加により約70%に抑制された。次に、limitin の細胞増殖抑制のメカニズムを解析するため、T 細胞増殖因子である IL-2 シグナルに対する limitin の影響を検討した。IL-2 で誘導される活性化 T 細胞の増殖は limitin-Ig の添加で抑制されたが、limitin は IL-2 シグナルには影響を与えなかった。

3) limitin の細胞傷害 (CTL) 活性に及ぼす影響

OVA 抗原特異的なエフェクター細胞の EL-4AbOVA 細胞に対する CTL 活性 (OT- I 由来 T 細胞と EL-4AbOVA 細胞の混合培養により誘導) を ^{51}Cr -release assay にて測定した。CTL 活性は limitin-Ig の添加により約 2 倍に増強され、その増強は perforin-granzyme pathway の阻害剤である Conkanamycin A で抑制された。さらに、ケラチノサイト細胞株である Pam212 細胞やマウス脾細胞を limitin-Ig で刺激すると limitin の MHC クラス I 抗原の発現増強作用を認めた。以上より、limitin は IFN- α/β と同様に CTL 活性を増強すると考えられた。生体内における limitin の CTL 誘導に対する影響を検討するために、II-mOVA マウスに照射後、OT- I リンパ節細胞を輸注する lethal GVHD assay を行った。Limitin-Ig 注射群で生存日数が 8.3 日から 6.2 日へと短縮したことから limitin 投与により生体内で強い GVHD (CTL 活性) が誘導されることが明らかになった。

4) Limitin の胸腺細胞の成熟に及ぼす影響

14 日齢の胎仔胸腺を 10 日間組織培養すると、CD4⁺CD8⁺ の未分化胸腺細胞は CD4⁺CD8⁺ 細胞を介し CD4⁺CD8⁺ 細胞や CD4⁺CD8⁺ 細胞に分化する。Limitin-Ig の添加は培養後に出現する各成熟段階の胸腺細胞分画および数に影響を及ぼさなかった。生体内におけるマウス胸腺は絶えず骨髓から未分化な CD4⁺CD8⁺ 細胞の供給を受けているが、Limitin-Ig を生後 3 日齢のマウスに 6 日間連日投与し生体内における CD4⁺CD8⁺ 細胞の分化過程に対する limitin の影響を検討した。脾臓において B 細胞増殖抑制を引き起こす量の limitin-Ig 注射を行ったが、Limitin は胸腺における細胞数や細胞分画に影響を及ぼさなかった。このことは従来の IFN が胸腺における CD4⁺CD8⁺ 細胞から CD4⁺CD8⁺ 細胞への分化を抑制したという Lin らの報告とは異なっていた。以上より limitin は IFN- α/β と異なり胸腺における T リンパ球前駆細胞の成熟には影響を及ぼさないことが明らかになった。

【総括】

新規インターフェロン様サイトカイン limitin は IFN- α/β と同様に抗原刺激後の T 細胞の増殖抑制や CTL 活性増強をもたらすが、IFN- α/β と異なり胸腺細胞の増殖・分化を抑制しないことが明らかとなった。Limitin は腫瘍免疫増強という観点から悪性疾患治療への臨床応用が期待できる。

論文審査の結果の要旨

新規インターフェロン (IFN) 様サイトカイン limitin は骨髓抑制の少ないより安全性の高い新規の IFN として臨床応用が期待されているが、その免疫調節作用については未だ不明であった。本研究により limitin は IFN- α/β と同様に抗原刺激後の T 細胞の増殖抑制や CTL 活性増強をもたらすが、IFN- α/β と異なり胸腺細胞の増殖・分化を抑制しないことが明らかとなった。本研究は limitin の免疫増強作用から悪性疾患治療への臨床応用の可能性を裏付け、IFN- α/β と異なり胸腺機能に影響を及ぼさないことから細胞性免疫においても limitin の安全性を確認したものである。従って、本研究は学位の授与に値すると考えられる。