



Title	CD28 costimulation is required not only to induce IL-12 receptor but also to render Janus kinases/STAT4 responsive to IL-12 stimulation in TCR-triggered T cells
Author(s)	朴, 雄蓮
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43761">https://hdl.handle.net/11094/43761</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">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="#">ご参照</a> 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	朴 雄 蓮
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16861 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 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	CD28 costimulation is required not only to induce IL-12 receptor but also to render Janus kinases/STAT4 responsive to IL-12 stimulation in TCR-triggered Tcells (CD28副刺激はT細胞のIL-12レセプター発現及びJAKs/STAT4を含むIL-12応答能の誘導に重要である)
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 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】

T細胞の完全な活性化にはTCR刺激に加えて添加的な副刺激が必要である。T細胞の重要な副刺激分子の一つであるCD28分子はT細胞のIFN- $\gamma$ 及びIL-4を含むサイトカイン産生とサイトカイン反応能の獲得、即ち、T細胞のTh1/Th2分化に重要である。マウスモデルの研究よりT細胞のTh1への分化にはIL-12シグナル、Th2分化にはIL-4シグナルが関与することがわかってきた。そこで我々はT細胞のTh1/Th2分化におけるCD28副刺激の役割を解析するためIL-12の応答能の獲得にCD28副刺激が関与するか否かを検討することを目的とした。

#### 【方法ならび成績】

方法：C57BL/6マウスのリンパ節から、磁気ビーズを用いてB細胞とAPC（抗原提示細胞）を除去することによりT細胞集団を調製した。IL-12刺激によるT細胞の応答を見る為、T細胞を抗CD3抗体又は抗CD3抗体+抗CD28抗体で48時間培養して活性化した後回収し、16時間starvationした後再び回収して活性化T細胞集団として用いた。

成績：(1)T細胞のIL-2R $\alpha$ とIL-12R発現は、低濃度の抗CD3抗体で活性化したT細胞では誘導されず抗CD28抗体が共存することによって誘導された。一方、高濃度の抗CD3抗体で活性化したT細胞では、CD28副刺激の有無にかかわらず同程度のIL-2R $\alpha$ 、IL-12R発現が強く誘導された。又、IL-12R $\beta$ 1、IL-12R $\beta$ 2mRNAの発現においても高濃度の抗CD3抗体で活性化したT細胞ではCD28副刺激の有無にかかわらず同程度に誘導された。(2)IL-12刺激によるIFN- $\gamma$ 産生量をT細胞のIL-12応答能の指標として検出した結果、CD28副刺激で活性化したT細胞では強いIFN- $\gamma$ 産生が誘導された。(3)IL-12刺激によるIFN- $\gamma$ 産生にはSTAT4が関与している事が明らかにされている。活性化T細胞をIL-12で刺激し、STAT4のリン酸化を見たところ、CD28副刺激T細胞においては抗CD3抗体単独で活性化したT細胞と比し、はるかに強いSTAT4のリン酸化が認められた。又、STAT4のリン酸化に関与するTYK2/JAK2のリン酸化もCD28副刺激で活性化したT細胞で強く誘導された。(4)一方CD28副刺激がIL-2及びIL-4応答性に影響を及ぼすかどうかを検討した。その結果、IL-2刺激によるSTAT5/JAK3のリン酸化、IL-4刺激によるSTAT6のリン酸化はCD28副刺激の有無にかかわらず強く誘導され、IL-4応答性即ちTh2分化には影響を及ぼさないことが示された。

## 【総括】

以上より、CD28副刺激がT細胞のIL-12R発現の増加及びIL-12応答性の獲得、即ち、T細胞のTh1分化に向かうメカニズムに関与する可能性を示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

T細胞の完全な活性化にはTCR刺激に加えて副刺激が必要である。T細胞の重要な副刺激分子の一つとして、CD28分子はT細胞のIFN- $\gamma$ 及びIL-4を含むサイトカイン産生とサイトカイン応答性の獲得、即ち、T細胞のTh1/Th2分化に重要であるサイトカインのバランスの制御に関与している。T細胞のTh1への分化にはIL-12シグナル、Th2分化にはIL-4シグナルが関与することが知られている。そこで本研究ではT細胞のTh1/Th2分化において、Th1分化に重要なIL-12応答性の獲得におけるCD28副刺激の役割を明らかにすることを目的とした。

T細胞のIL-12受容体は、低濃度の抗CD3抗体で活性化したT細胞では誘導されず抗CD28抗体が共存することによって誘導された。一方、高濃度の抗CD3抗体で活性化したT細胞では、CD28副刺激の有無にかかわらず同程度のIL-12R発現が強く誘導された。又、IL-12R $\beta$ 1、IL-12R $\beta$ 2mRNAの発現においても高濃度の抗CD3抗体で活性化したT細胞ではCD28副刺激の有無にかかわらず同程度に誘導された。IL-12応答性の指標としてIL-12刺激によるIFN- $\gamma$ 産生を検出した結果、CD28副刺激で活性化したT細胞では強いIFN- $\gamma$ 産生が誘導された。IL-12刺激によるIFN- $\gamma$ 産生に関与しているSTAT4やTYK2/JAK2のリン酸化を見たところ、CD28副刺激T細胞においては抗CD3抗体単独で活性化したT細胞と比し、はるかに強いSTAT4とTYK2/JAK2のリン酸化が認められた。一方、IL-4刺激によるSTAT6のリン酸化はCD28副刺激の有無にかかわらず強く誘導され、Th2分化に重要なIL-4応答性の獲得には影響を及ぼさないことが示された。CD28副刺激がT細胞のIL-12R発現の増加及びIL-12応答性の獲得、即ち、T細胞のTh1分化に向かうメカニズムに関与する可能性が示唆される。

以上より、本研究はT細胞のTh1/Th2分化において、Th1分化に重要なIL-12応答性の獲得にCD28副刺激が必須であ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。