The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Induction of cytotoxic T lymphocyte responses by cholera toxin-treated bone marrow-derived dendritic cells
Author(s)	張, 明浩
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43970
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　張（ジャン）　明（ミョン）　浩（ホウ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　17645　号

学位授与年月日　平成15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　Induction of cytotoxic T lymphocyte responses by cholera toxin-treated bone marrow-derived dendritic cells
（コレラ毒素（CT）の免疫増強メカニズムの解明：CTによる骨髄由来樹状細胞を介した細胞障害性Tリンパ球の誘導効果）

論文審査委員　（主査）
教　授　清野　宏

（副査）
教　授　宮坂　昌之　　教　授　本田　武司

論文内容の要旨

［目的］

強力な粘膜免疫誘導因子であるコレラ毒素（CT）は、経口または経鼻免疫の際共投与された蛋白抗原に対して抗原特異的分泌型IgA（S-IgA）や血清IgG抗体産生応答の誘導を惹起することが知られている。また、コレラ毒素は樹状細胞やマクロファージを含む抗原提示細胞（APC）に作用することによってその免疫賦活作用を引き起こすことが示唆されてきた。さらにCTによって処理したヒト単球由来樹状細胞において、IL-12の産生抑制と副刺激分子の活性化を介してTh2型反応を増強することが報告されている。一方、CTは細胞障害性T細胞応答をも誘導することが知られているが、CTによる細胞障害性T細胞（CTL）の誘導、制御についての詳細はほとんど明らかにされていない。そこで本研究ではCTのCTL誘導能について明らかにするために、強い抗原提示能力を有する樹状細胞（DC）を介した細胞障害性 $CD8^+$ T細胞の誘導効果について産生されるサイトカインや副刺激分子の発現状況を含めて検討した。

［方法ならびに成績］

1×10^6 骨髄由来DC（BM-DC）を至適濃度CT（10 ng/ml）存在下で培養した。その結果、副刺激分子B7-1の発現が著しく増強されたが、B7-2分子の発現量には変化がなかった。さらにC57BL/6マウスの脾臓細胞をCT存在下で培養したBALB/cマウス由来BM-DCによって刺激した結果、同種異系抗原（アロ抗原）認識性 $CD8^+$ CTL応答が誘導された。また、CT処理したBM-DCとアロ抗原認識性 $CD8^+$ CTLを培養したときIFN-γ産生性 $CD8^+$ T細胞の増加が認められた。CT処理したBM-DCに強発現しているB7-1分子を特異的モノクローナル抗体で阻止するとアロ抗原認識性CTL応答が顕著に抑制された。これらの結果はCTによるDCへのB7-1分子誘導効果とそのCTL誘導における重要性を示唆している。

もう一つの重要な副刺激分子であるCD40に関しても検討を行った。CT存在下において、BM-DCを培養した結果CD40の発現はコントロールと比べほとんどかわらなかった。さらに、CD40欠損マウス由来のBM-DCによってもアロ抗原認識性CTLが誘導された。その誘導能は正常マウス由来のCT処理BMDCで惹起されたCTL応答と同

レベルであったことから、CD40を介した副刺激はCTで誘導されたDCを介すCTL応答には不必要であることが示唆された。本研究結果から免疫増強因子であるCTはDCにおいて副刺激分子B7-1の発現増強を介して$CD8^+$ CTLを効果的に誘導することが明らかになった。

［総括］

以上の結果より、CTはDCにおいてB7-1分子の特異的な発現上昇を通してCTL応答の誘導における免疫増強作用を引き起こすことが示唆された。また、その結果IFN-γ産生性$CD8^+$ CTLを誘導した。コレラ毒素の免疫増強作用の応用が、ウイルスワクチンや癌治療の開発に対して有用ではないかと期待されており、さらなる探究を行っていく必要がある。

論文審査の結果の要旨

コレラ菌由来コレラ毒素（CT）には免疫増強効果があることが知られており、その特徴を応用したアジュバント開発に向けて活発な基礎研究が展開されている。しかしながら、そのアジュバント効果の詳細についてはまだ不明な点が多い。そこで本研究では細胞障害性T細胞（CTL）誘導能について検討した。特に強い抗原提示能力を有する樹状細胞（DC）を介した細胞障害性$CD8^+$ T細胞の誘導効果について抗原特異的殺傷効果、サイトカイン産生そして副刺激分子の発現について解析を行った。

CTはDCにおいて副刺激分子の中でもB7-1分子の特異的な発現上昇を通してアロ抗原特異的CTL応答の誘導における免疫増強作用を引き起こすことが示唆された。また、その結果IFN-γ産生性 $CD8^+$ CTLを誘導した。この結果はコレラ毒素によるDCを介した抗原特異的CTL誘導メカニズムを明らかにした初めての知見である。コレラ毒素による細胞性免疫増強作用の応用が、新しいウイルスワクチンや癌治療の開発に対して有用である可能性が提示され、本研究は学位論文に値する。