

Title	Expansion of a CD28-Intermediate Subset among CD8 T Cells in Patients with Infectious Mononucleosis
Author(s)	宇田, 裕史
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44559
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	宇 田 裕 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 8 6 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 25 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	Expansion of a CD28-Intermediate Subset among CD8 T Cells in Patients with Infectious Mononucleosis (伝染性単核球症患者の CD8T 細胞における CD28 中間型サブセットの発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 川 瀬 一 郎 (副査) 教 授 平 野 俊 夫 教 授 木 下 タ ロ ウ

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

Epstein-Barr (EB) ウイルスはガンマヘルペス亜科に属し、B 細胞等に感染することが知られている。またバーキットリンパ腫の発症に関与することも知られている。EB ウイルスに幼少期感染するとほとんど無症状に経過することが多いが、成人期に感染すると伝染性単核球症 (IM) として発症する。この時著明に CD8 陽性 T 細胞が増加し、HLA-DR や CD45RO 等の T 細胞活性化分子が陽性となる。

CD28 は T 細胞上に存在する T-B 相互刺激分子の一つであり、B 細胞上の B7 ファミリーと結合することにより、T 細胞の活性化をもたらす。CD28 は CD4T 細胞の大部分および、CD8T 細胞の約 50% に発現を認める。CD8T 細胞はさらに CD28 の発現によって細胞障害性 T 細胞 (CD28 陽性) と抑制性 T 細胞 (CD28 陰性) に二分されるが、IM における CD28 の発現及び機能については未だ明らかにされていない。

今回我々は、IM で増加した CD8T 細胞において、特異的に CD28 中間型細胞の発現することを認めたが、今まで報告がなく、その性状と機能について検索を行った。

〔方 法〕

IM と他のウイルス感染症患者 (麻疹・B 型肝炎・伝染性紅斑・流行性耳下腺炎など) 及び健常者を対象とした。臨床症状と抗体検査等により診断を行った。単核球はヘパリン加末梢血より Ficoll 比重遠心法で分離し、抗 CD8・CD28 抗体を用いて、2 色蛍光分析を FACScan にて行った。また、HLA-DR・CD45RO・CD80 等の発現についてもそれぞれに対する抗体を用い、アポトーシスについてはアネキシン V を用いた蛍光分析にて調べた。

細胞培養は 10%FCS 添加 RPMI 液で 37°C CO₂ インキュベーターにて行った。

患者 CD8 陽性 T 細胞を CD28 の発現によって、CD28 陽性、CD28 中間型、CD28 陰性に分類し、それぞれの群の細胞採取を FACS Vantage にて行った。その後 EB ウイルスにより樹立した自己及び非自己の B 細胞株と NK 感受性 K562 細胞株を標的として、CD28 陽性、CD28 中間型、CD28 陰性各分画の細胞障害活性をクロム標識法にて比較した。

HLA 抗原については西宮腎センターに依頼して測定した。なお細胞障害における HLA-class I の関与は HLA class

I に対する抗体 (clone W6/32) を用いて調べた。

〔成績〕

CD8/CD28 の 2 色分析で IM 患者に CD8T 細胞の著増が確認されるとともに、CD8T 細胞における CD28 の発現はみかけ上連続していた。このような特徴的な像は、過去に報告はなく、他のウイルス感染症患者や、健常者ではこのような像は認められなかった。

アポトーシスについての解析では、FACS 前方散乱光/側方散乱光分析では患者単核球は正常単核球領域 (R1 領域) に存在したが、24 時間培養後には、細胞密度が高い、R2 領域に 50% 以上が移動した。この移動は健常人では認められなかった。24 時間培養後 R1 領域について CD8/CD28 分析すると、CD8T 細胞の CD28 中間型サブセットは消失し、通常のパターンに戻った。またこのとき R2 領域を調べたところ、CD8 陽性 CD28 中間型の細胞が多数認められ、アネキシン V 陽性細胞の増加が著明に認められた。以上の結果は、IM 患者で発現した CD8 陽性 CD28 中間型細胞は体外で早期にアポトーシスを起こすことが示唆された。

細胞障害活性は患者 (自己・非自己) B 細胞株を標的とした場合、CD28 中間型群で強く認められた。この活性は抗 class I 抗体を用いると抑制されたが、非特異的 IgG では障害されなかった。さらに CD28 中間型細胞はアロの B 細胞株や K562 細胞株に対しても同様の細胞障害活性を示した。以上のことは CD28 中間型の細胞障害活性は HLA class I 依存性で、抗原非特異的であることが示唆された。

他の細胞間相互刺激分子である CD152 や CD80 は IM 患者と健常人との差異は認められなかった。また活性化分子である HLA-DR、CD45RO が陽性、CD45RA は陰性で、従来の報告通りであった。

IM 患者の CD28 中間型細胞の経過をみると、軽快後 1 ヶ月以上存在し、その消失には半年以上を要することも明らかとなった。

〔総括〕

伝染性単核球症において CD8 陽性 T 細胞に特徴的な機能的 CD28 中間型サブセットが発現することを明らかにした。この結果は本症の診断と感染防御機構の解析に有用であると思われる。

論文審査の結果の要旨

伝染性単核球症 (AIM) は急性の EB ウイルス感染症であり、CD8T 細胞の著明な増加が起こることが知られているが、その CD28 の発現及びその意義については明らかにされていない。

宇田らは AIM 患者末梢血単核球をフローサイトメトリーで解析し、26 例全例において CD8T 細胞の CD28 発現が陰性から陽性まで連続しており非常に特異な像を呈することを見出した。健常人や他のウイルス感染症の患者では連続した像は認められず、AIM に特異的であった。また、24 時間培養後 FACS 分析すると、CD8T 細胞における連続した像は消失し、CD28 陽性と陰性に分かれ、CD28 中間型細胞の存在が示された。

CD28 中間型細胞は生体外培養で短期にアポトーシスをおこし、また EB ウイルス感染細胞等に対し細胞障害活性を示し、ウイルスの感染防御に働く細胞であることが示唆された。

これらの知見は、CD28 の機能の解明、EB ウイルス感染に対する防御機構の解明、さらに AIM の診断に有用と考えられ、学位論文に値するものと思われる。