



Title	Th2細胞におけるCCR4の細胞表面発現と機能発現の発現時期および発現機構の検討
Author(s)	森本, 泰成
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45561
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	もりもと やすなり 森 本 泰 成
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 3 8 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	Th2 細胞における CCR4 の細胞表面発現と機能発現の発現時期および発現機構の検討
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 古郷 幹彦 (副査) 教 授 村上 伸也 助教授 川端 重忠 講 師 墨 哲郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕ケモカインシステムは、ケモカインとケモカインレセプターが結合することにより、リンパ球上のインテグリン接着分子を活性化するメカニズムであり、多数存在する生物学的反応過程の一つである。生体内において炎症部位へリンパ球が移行する際に重要な役割を果たすと考えられており、胸腺内の未分化な T 細胞からメモリー T 細胞に至るまで、分化に応じて T 細胞には種々のケモカインレセプターが発現することが知られている。

抗原刺激によって、ナイーブ（抗原未感作）CD4 陽性 T 細胞は Th1 および Th2 という二種の異なるエフェクター細胞へと分化する。これら二つのサブセットはそれらの細胞が産生するサイトカインの種類によって 2 種類に分類されている。Th1 細胞が IL-2 および IFN- γ を産生するのに対して Th2 細胞は IL-4、IL-5 および IL-6 を産生する。Th1 細胞は IL-12 および IFN- γ 、Th2 細胞は IL-4 といった細胞周囲に存在するサイトカインによって、それぞれの細胞分化が決定される。

抗原刺激によって Th1 細胞においては CCR5 および CXCR3、Th2 細胞においては CCR3、CCR4 および CCR8 と異なるケモカインレセプターを発現する。たとえば、細胞性免疫疾患である慢性関節リウマチによって生じる関節内容液中に誘導される Th1 細胞には CXCR3 および CCR5 といったケモカインレセプターが発現しているのに対して、Th2 細胞では CCR3、CCR4 および CCR8 を発現している。Th1 細胞および Th2 細胞にこれら特定のケモカインレセプターが発現していることは広く知られているものの、抗原刺激を受けた静止期 T 細胞がケモカインレセプターを発現する機序については未だ明らかにされていない。そこでわれわれは、マウス Th2 分化中に CCR4 の細胞表面発現および CCR4 に結合するケモカインに対する反応性発現がどのように誘導されるのかについて観察し、発現機構を検討した。

〔結果〕マウスリンパ節から抽出した静止期 CD4 陽性 T 細胞と、その細胞を Th1 条件（IL12+抗 IL-4 抗体又を添加した条件）、または Th2 条件（IL-4+抗 IFN- γ 抗体添加した条件）下で抗 CD3（TCR）および抗 CD28 抗体にて刺激し、刺激後の T 細胞の細胞と、その細胞をさらに TCR/CD28 刺激を添加せずに Th1 または Th2 条件にて培養した細胞を、各段階にて抗 CCR4 抗体にて染色後、FACS にて計測した。Th1 条件下ではいずれの段階においても CCR4 の発現は認められなかった。一方、CCR4 は Th2 条件下では Th1 の CXCR3 発現とは異なり、TCR 刺激直後から認められた。また、再培養時にも発現を認めた。抗体染色による結果が抗体による非特異反応の可能性を検討するため

に、同様の実験を RT-PCR にて行ったところ、抗体染色と同様の結果が得られた。

CCR4 が CCR4 のリガンドであるケモカインと結合し、CCR4 の機能発現が Th2 分化中にどのように生じるのかを検討した。Th1 および Th2 型ケモカインレセプターの反応性を、刺激後に分化した CD4 陽性 T 細胞をそれぞれ呼応するケモカインを添加し、細胞遊走能の比較にて評価した。静止期 T 細胞では CCR4 は反応性を示さなかった。抗 CD3 および抗 CD28 抗体を Th1 条件下または Th2 条件下にて刺激した後の T 細胞では、いずれの培養条件下でも CCR4 に細胞遊走能は認められなかった。TCR 刺激後に TCR 刺激を除いて再培養を行うと Th1 細胞では CXCR3 の Th2 細胞では CCR4 を介した走化性の亢進みられた。上記の結果より、CCR4 の機能発現と細胞表面発現には差異が存在することが認められた。

CCR4 の細胞表面発現および機能発現にどのような刺激が必要か検討した。IL-4 欠損 T 細胞においては CCR4 を介した細胞遊走能はみられないが、外部から IL-4 を添加することにより、再度細胞遊走能を獲得したことから CCR4 の反応性の獲得には IL-4 の刺激に依存すると示唆された。CCR4 反応性は IL-4 存在下にもかかわらず、STAT6 欠損 T 細胞では認められなかった。さらに STAT6 欠損 T 細胞では CCR4 リガンドであるケモカインの結合能力を生じることはなかった。

[まとめ] Th2 型ケモカインレセプター CCR4 の Th2 細胞分化中におけるリガンドに対する反応性および細胞表面発現についてどのように発現するのか研究を行った結果、以下のことが明らかとなった。

1. CXCR3 の細胞表面発現および機能発現はともに Th1 分化後の細胞にのみ誘導された。
 2. CCR4 の細胞表面発現は Th2 分化途上の細胞に誘導されたが、CCR4 機能は Th2 分化後の細胞にのみ誘導された。
 3. CCR4 の反応性獲得のためには IL-4/STAT6 が必須であった。また、IL-4/STAT6 シグナルの抑制は、Th2 分化中における CCR4 の細胞表面発現誘導を抑制した。
- 以上の研究結果より、CCR4 はその細胞表面発現と機能発現の誘導される時期において差が見られるという独特の性質を示し、Th1 および Th2 分化に必須のサイトカインとそのシグナルを伝達する分子はケモカイン受容体の機能誘導にも決定的な役割を果たすことが分かった。

論文審査の結果の要旨

本研究は Th2 細胞に誘導される CCR4 の細胞表面発現と機能発現の解析を行ったものである。CCR4 の細胞表面発現は Th2 分化途上の細胞に誘導され、機能発現は Th2 分化後の細胞にのみ誘導された。また、CCR4 の機能発現獲得のためには IL-4/STAT6 が必須であることが判明した。以上より、Th2 分化に必須のサイトカインとそのシグナルを伝達する分子はケモカインレセプターの機能誘導にも決定的な役割を果たすことが明らかとなった。

この論文の知見は Th2 液性免疫反応の制御を理解する上で極めて有益であり、博士（歯学）の学位に値するものと認める。