



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	もり森本泰成
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第19386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 墓哲郎

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カélle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。