【176】

氏　名（本　籍）	伊　藤　みさ子（宮　城　県）
学位の種類	博　　士（医　　学）
学位記番号	博　甲　第　2,133　号
学位授与年月日	平成11年 3 月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Thymus and autoimmunity : Production of CD25+CD4+naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in immunologic self-tolerance （自己免疫病発症機構の研究：胸腺における自己反応性T細胞とそれを制御するCD25+CD4+T細胞の生成について）
主　査	筑波大学教授　医学博士　住　田　孝　之
副　査	筑波大学教授　医学博士　小　山　哲　夫
副　査	筑波大学教授　医学博士　武　藤　　弘
副　査	筑波大学助教授　医学博士　渋　谷　　彰
副　査	筑波大学講師　医学博士　高　浜　洋　介

論文の内容の要旨

（目的）

自己反応性T細胞は，様々な自己免疫病の発症に主要な役割を果たす。T細胞の分化過程において，自己反応性T細胞の多くは胸腺内で排除されるが，一部の自己反応性T細胞はその排除を免れ正常個体の末梢にも存在する。従って，末梢での自己反応性T細胞に対する制御機構の解明は，自己免疫病発症機構を解明する上で重要である。著者らは，正常個体末梢CD4+T細胞の5～10％を占めるCD25+CD4+T細胞を除去すると，様々な自己免疫病が自然発症し，ある一定期間内にこの細胞群を補えば，発症が阻止されることを見出した。本研究では，この胸腺由来の免疫抑制性CD25+CD4+T細胞の機能，胸腺における生成，分化を明らかにすることを目的とした。

（材料と方法）

BALB/c(Thy1.2)マウス，BALB/c-Thy1.1マウス，BALB/cヌードマウス，卵白アルブミン(OVA)ペプチド特異的T細胞レセプター(TCR)を発現するトランスジェニック(DO11.10)マウス，RAG-2遺伝子をノックアウトしたDO11.10トランスジェニック(DO11.10 RAG-2-/-)マウスを用い，FACSによる細胞表面マーカーの解析，in vitroリンパ球増殖反応の解析，in vivoでの細胞移入実験を行った。

（結果）

1）胸腺内CD25+CD4+：胸腺におけるCD25+CD4+T細胞の存在と，その細胞表面分子の発現を解析した結果，CD25+CD4+T細胞は胸腺内CD4+T細胞の約5％を構成し，CD5・CD44・CD11a/18・CD62L強陽性，CD45RB・CD54中等度陽性，CD69中～弱陽性，CD122弱陽性，であり，いわゆる“活性化T細胞”としての表現型を示していた。

2）抑制T細胞：CD25+T細胞を除去した胸腺細胞を同系ヌードマウスへ移入すると，全例に激しい自己免疫性胃炎と卵巣炎を認め，その他にも甲状腺炎，唾駅腺炎，副腎炎，膵炎，腎炎を合併するなど多彩な自己免疫性病変が認められた。一方，非除去細胞を移入した場合は，一部のマウスに胃炎が認められたのみであった。また，CD25+T細胞除去胸腺細胞と共に，末梢のCD4+T細胞（CD25+T細胞を含む）を混合して移入した場合，自己免

疫病の発症は抑制された。以上より，胸腺内に存在するCD25$^+$T細胞は，CD25$^-$T細胞群に含まれる自己反応性T細胞に対して抑制性制御能を有すると考えられる。

3）可逆的不応答性：この抑制制御のメカニズムを解説するため，CD25$^+$CD4$^+$およびCD25$^-$CD4$^+$胸腺細胞を，抗CD3抗体を用いin vitroで刺激培養したところ，CD25$^-$4$^+$T細胞が活性化・増殖反応を示すのに対し，CD25$^+$4$^+$T細胞は増殖反応を示さなかった。また，両細胞群を混合後刺激培養すると，CD25$^+$4$^+$T細胞の数に比例して，CD25$^-$4$^+$T細胞の増殖を抑制した。さらに，DO11.10マウスを用いた解析より，CD25$^+$4$^+$T細胞が増殖抑制性能を発揮するには，TCRを介した刺激が不可欠であることが明らかになった。一方，上記培養系にIL-2あるいは抗CD28抗体を加えると，CD25$^+$4$^+$T胸腺細胞の不応答性は破られ，同時にCD25$^-$4$^+$T細胞に対する増殖抑制性能も失われた。さらに，TCR刺激とIL-2によりCD25$^+$4$^+$T細胞の不応答性を破った後の胸腺細胞をヌードマウスに移入したところ，CD25$^+$4$^+$T細胞を除去しても自己免疫病を誘導し得た。

4）胸腺内分化：CD25$^+$4$^+$T細胞の胸腺内での生成について解析した。まず，新生仔マウスの末梢にはCD25$^+$4$^+$T細胞が検出できない時期に，胸腺内には検出できた。また，BALB/c-Thy1.1コンジェニックマウスの胸腺に，BALB/cマウス（Thy-1.2）より調製したCD4$^-$8$^-$未熟胸腺細胞を直接注入し，1週間後の胸腺細胞を解析したところ，成熟したThy-1.2陽性のCD25$^+$4$^+$T細胞が検出され，CD4$^-$未熟胸腺細胞が胸腺内でCD25$^+$4$^+$T細胞に分化したことが示された。これらの結果から，胸腺内のCD25$^-$4$^+$T細胞は末梢から胸腺に移行してきたのではなく，胸腺内で前駆細胞から生成したものと考えられた。

5）胸腺内分化に必要な内因分化に必要な内因性TCRα鎖発現：TCRトランスジェニックマウスを用い，CD25$^+$4$^+$T細胞の胸腺内T細胞分化・選択機構について検討した。DO11.10マウスの胸腺・末梢には正常マウスと同様にCD25$^+$4$^+$T細胞が存在していたが，内因性TCRα鎖を発現しないDo11，10RAG-2-/-マウスには検出されなかった。従って，CD25$^+$4$^+$T細胞の生成には，TCR遺伝子再構成を経た内因性TCRの発現が必要と考えられた。

（考察）

胸腺細胞群からCD25$^+$4$^+$T細胞を除去したり，あるいはIL-2抗CD28抗体を用い，CD25$^+$4$^+$T細胞の抑制能を解除すれば，自己免疫病を惹起し得る。また，自己反応性T細胞を制御する胸腺内CD25$^+$4$^+$T細胞は，一度末梢に放出され何らかの抗原刺激を受けてから胸腺内に再移動したものではなく，胸腺内で分化・選択を受けて生成されると考えられる。従って，正常胸腺は自己免疫病を惹起し得る能力を有する自己反応性T細胞を生成するのみならず，同時にそれらを抑制的に制御するCD25$^+$4$^+$T細胞も生成していることが明らかになった。これらの結果から，CD25$^+$4$^+$T細胞による抑制的制御が，免疫自己寛容の維持に重要であり，その破綻は自己免疫病の発症に直接的につながると考えられる。

審査の結果の要旨

本研究は，自己免疫病の発症機構を解明するために，CD25$^+$4$^+$T細胞の機能，分化を明らかにすることを目的としたものである。筆者らは，マウスのシステムを用いて，胸腺内にCD25$^+$4$^+$T細胞が存在すること自己免疫反応を抑制性に制御する機能を有すること，可逆的不反応性を呈すること，胸腺内で分化しそれには内因性のTCRα発現が必要であること，を明らかにした。本研究は，自己免疫病の発症機構，制御機構を解明する上で重要な成果であり，世界的に高く評価される。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。