

(別紙様式第3号)

医研155

論 文 要 旨

論 文 題 目

HLA Class-I-Restricted and Colon-Specific Cytotoxic T Cells from Lamina Propria  
Lymphocytes of Patients with Ulcerative Colitis

(潰瘍性大腸炎患者の粘膜固有層リンパ球より樹立した HLA クラス I 拘束性および  
大腸特異的細胞障害性 T 細胞)

氏名 石川 隆  印

研究の目的：潰瘍性大腸炎（UC）は大腸
上皮細胞が選択的に傷害される疾患であり、
その機序の1つに細胞傷害性Tリンパ球
（CTL）の関与が示唆されている。本研究で
はUCの炎症局所におけるCTLの存在を確認
するため、UC患者の大腸粘膜固有層リンパ
球（LPL）よりCTL line 及び clone を樹立し、
その性状を解析した。
方法：活動期UC患者8人と健常人5人の
生検もしくは手術検体より酵素法にてLPLを
分離した。CTL line はHLA-A locus の一致
した大腸上皮細胞株で持続的に刺激し、clone
はLPLを限界希釈し特異的な刺激は用いず
PHAにて刺激して、それぞれ樹立した。標的
細胞としてNK細胞に感受性が高いK562と
大腸、食道および肺癌上皮細胞株を用いた。
CTL活性を認めた細胞のフェノタイプを細胞
表面マーカーに対する抗体を用いて同定した。
また、標的細胞株より抽出したペプチドへの
反応性も検討した。




結果： UC 患者 8 人中 3 人の LPL より CTL line を、UC 患者 4 人中 3 人の LPL より clone を、それぞれ樹立した。CTL line および clone は HLA の一致する大腸上皮細胞株に対して高い細胞傷害活性を示し、HLA の一致しない大腸上皮細胞株、HLA の一致する肺および食道上皮細胞株と NK 感受性の K562 に対しては有意な細胞傷害活性を示さなかった。normal control として、健常人 5 人より分離した LPL を同様な方法で刺激し、健常者 1 人より T cell line を樹立できた。しかし、この T cell line は標的細胞に対して非特異的な細胞傷害活性のみを示した。UC 患者由来の CTL line の細胞傷害活性は抗 CD3、CD8、HLA-クラス I 抗体にて著明に抑制された。一方、normal control では有意な細胞傷害活性の抑制は認められなかった。HLA-A24 陽性 UC 患者の LPL を HLA-A24 陽性の大腸上皮細胞株 WiDr で刺激して樹立した CTL line は WiDr 由来ペプチドをパルスした自己 B-cell line (BOL) に対

して細胞障害活性を示したが、Widr由来ペプチドをパルスしなかったBCL、HLAの一致しない大腸上皮細胞株やHLA-A24陽性の食道および肺癌細胞株由来ペプチドをパルスしたBCLとHLA-A24結合モチーフを持つ腫瘍抗原CEAおよびMAGE3をパルスしたBCLに対しては、有意な細胞障害活性は示さなかった。

考察：我々はUC患者LPLよりHLAクラス1拘束性に大腸上皮細胞株を特異的に傷害するCTL line および clone を、それぞれ異なった方法にて樹立することができた。また、樹立したCTL line がHLAクラス1拘束性に大腸上皮細胞由来ペプチドを認識することも確認できた。今後、CTLが認識する大腸上皮細胞上の抗原エピトープを同定していくことが本症の発症機序解明および治療への応用に有用と考えられる。

## 論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	* 課程博 第 号	氏名	砂川 隆
論文審査委員	平成 13 年 12 月 26 日		
	主査教授	武藤 良弘	 印
	副査教授	田中 勇恒	 印
	副査教授	佐藤 良也	 印
(論文題目)			
HLA Class I-Restricted and Colon-Specific Cytotoxic T Cells from Lamina Propria Lymphocytes of Patients with Ulcerative Colitis			
(論文審査結果の要旨)			
上記の論文に対し、その研究に至る背景、論文の内容とその学術的水準、研究の成果とその意義などを慎重に審査し、次のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景： 潰瘍性大腸炎（UC）は直腸より連続かつびまん性に大腸粘膜が傷害される疾患であり、その大腸上皮細胞傷害機序は未だ明かでないが、抗大腸抗体やANCAなどの自己抗体が高頻度に認められ、ADCCやCTLの関与が報告されており、病因として自己免疫機序による大腸上皮細胞傷害が考えられている。本研究ではUCの大腸上皮細胞傷害機序のひとつとして、大腸粘膜固有層リンパ球（LPL）中のCTLについて検討した。			
2. 論文の内容とその水準： 1) 大腸上皮細胞表面のHLAクラスI上に提示された大腸特異的抗原をCTLが認識していると仮定し、HLA-A locusの一致した大腸上皮細胞株でLPLを刺激し、培養することにより、UC患者8例中3例のLPLより、HLAクラスI拘束性到大腸上皮細胞株に対して高い細胞障害活性を示すCTL lineを樹立できた。 2) 健常者5例における検討では、LPLよりCTL lineは樹立できなかった。			

備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。

2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。

3 \*印は記入しないこと。

## 論文審査結果の要旨

(2)

3) UC患者3例のLPLより、HLA クラスI拘束性に大腸上皮細胞株を特異的に認識するCTL cloneを樹立できた。

4) CTL line YKはHLA-A locusの一致する大腸上皮細胞株由来のペプチドを特異的に認識した。

これらの結果は、UC患者LPL中に大腸上皮細胞のHLAクラスI上の抗原ペプチドを認識するCTLが存在することを強く示唆するものと考えられた。

以上の内容は研究方法ならびに成果ともに一定水準以上にあるものと判断された。

### 3. 研究成果の意義：

これまでにUC患者LPLよりCTL lineもしくはcloneを樹立した報告がなく、詳細な性状は明らかでなかったが、本研究ではUC患者LPLよりHLAクラスI拘束性に大腸上皮細胞株を特異的に傷害するCTL lineおよびcloneを、それぞれ異なった方法にて樹立した。また、樹立したCTL lineがHLAクラスI拘束性に大腸上皮細胞由来ペプチドを認識することも確認できた。今後、CTLが認識する大腸上皮細胞上の抗原エピトープを同定することは、本症の発症機序解明および治療への応用に有用と考えられた。

以上の結果から、本研究は学位授与に十分値する内容であると判断した。