

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Cytokines production of U5A2-13-positive T cells by stimulation with glycolipid
 α -galactosylceramide
(α -ガラクトシルセラミド刺激による U5A2-13 陽性 T 細胞のサイトカイン
産生)

氏名 東 正人 (東)
(直 筆)

[目的] NKT 細胞は T 細胞受容体 (T cell receptor, TCR) と NK1.1 抗原を共発現する細胞であり、NK 細胞類似の非特異的な細胞障害活性と大量のサイトカインの産生による免疫調節作用を持つユニークな T 細胞群である。NKT 細胞は多様性の乏しい TCR を持ち、その TCR は樹状細胞表面に存在する CD1d 分子に提示された α ガラクトシルセラミドを認識することが知られている。近年、各方面で NKT 細胞の解析が盛んに行われているが、NKT 細胞を認識する表面抗原である NK1.1 抗原は C57BL/6 などの限られたマウス系統に発現しているのみであり、NK1.1 抗原を発現しないマウス系統における NKT 細胞の解析は困難であった。若杉らは NKT 細胞に類似した表現型を持つヒト炎症性乳癌由来マウスリンパ腫細胞株 (tMK2-U) を免疫原に用いて、ほぼ全ての系統のマウスにおいて NKT 細胞と同様な細胞 (NK 様 T 細胞) を認識する U5A2-13 モノクローナル抗

体を作製した。本研究では、この成果を活用し、U5A2-13抗体を用いてNK1.1を発現しないマウス系統のU5A2-13陽性T細胞の機能を解析した。[方法] フローサイトメーターを応用したソーティングシステムを用いて肝臓から高純度のマウスNKT細胞あるいはU5A2-13陽性T細胞を分離し、脾臓から分離した樹状細胞と α ガラクトシルセラミドを加えて共に培養の後、培養液中のサイトカイン濃度を固相酵素結合免疫測定(ELISA)法で測定することでNKT細胞及びU5A2-13陽性細胞の活性化機構を解析した。[結果]

1. C57BL/6マウス系統のU5A2-13陽性T細胞は樹状細胞と α ガラクトシルセラミドの刺激によりNKT細胞と同様に活性化し、大量のインターフェロン γ 及びインターロイキン4を産生すること、
2. NK1.1抗原を発現しないマウス系統であるBALB/cマウスにおいてもU5A2-13陽性T細胞は樹状細胞と α ガラクトシルセラミドの刺激により活性化し、大

量のインターフェロン γ 及びインターロイキン4を産生することが明らかになった。3. CD1d分子を発現している樹状細胞の刺激と比較して、CD1分子を発現しない β 2ミクログロブリン欠損マウスの樹状細胞の刺激ではU5A2-13陽性T細胞のサイトカイン産生は有意に少なかった。[考察]1および2の結果よりU5A2-13抗体を用いることでNK1.1を発現しないマウス系統においてもNKT細胞に相当する細胞の機能解析が可能となり、U5A2-13陽性T細胞はNKT細胞と同様に樹状細胞と α ガラクトシルセラミドの刺激により活性化されることが明らかとなった。さらに、本研究ではU5A2-13陽性T細胞の活性化機構を解析し(3)、NKT細胞と同様にU5A2-13陽性T細胞は樹状細胞表面のCD1d分子に提示された α ガラクトシルセラミドを認識し活性化することを明らかにした。

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏 名	東 正人
論文審査委員		平成13年3月27日		
		主査教授	田中勇悦	印
		副査教授	野中重雄	印
		副査教授	佐藤良也	印
(論 文 題 目)				
Cytokines production of U5A2-13-positive T cells by stimulation with glycolipid α -galactosylceramide				
(論文審査結果の要旨)				
<p>上記論文に対し、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。</p> <p>1. 研究の背景と目的</p> <p>NKT細胞は T細胞受容体(T cell receptor, TCR)とNK細胞受容体(NK1.1 抗原)を共発現する細胞であり、NK細胞類似の非特異的な細胞障害活性と大量のサイトカインの産生による免疫調節作用を持つユニークな T細胞群である。NKT細胞は多様性の乏しい TCR を持ち、その TCR は樹状細胞表面に存在する CD1d 分子に提示された α ガラクトシルセラミドを認識することが知られている。近年、各方面で NKT細胞の解析が盛んに行われているが、NKT細胞を識別する表面抗原である NK1.1 抗原は C57BL/6 などの限られたマウス系統に発現しているのみであり、NK1.1 抗原を発現しないマウス系統における NKT細胞の解析は困難であった。最近、丸岡らが、ほぼ全ての系統のマウスにおいて NKT細胞と同様な細胞(NK様 T細胞)を認識する U5A2-13 モノクローナル抗体の作製に成功した。本論文では、この U5A2-13 抗体を用いて NK1.1 抗原を発現しないマウス系統の NK様 T細胞(U5A2-13 陽性 T細胞)の機能を解析したものである。</p>				

- 備考
1. 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書とすること。
 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。

2. 論文の内容

フローサイトメーターを応用した分取システムを用いて肝臓から高純度のマウス NKT 細胞あるいは U5A2-13 陽性 T 細胞を分離し、同系統マウスの脾臓から分離した樹状細胞と α ガラクトシルセラミドを加えて混合培養し、培養液中のサイトカイン濃度を酵素標識免疫吸着法(ELISA)で測定することで NKT 細胞及び U5A2-13 陽性細胞の活性化機構を解析し、次のような結果を得た。①C57BL/6 マウス系統の U5A2-13 陽性 T 細胞は、樹状細胞と α ガラクトシルセラミドの刺激により NKT 細胞と同様に活性化し、大量のインターフェロン γ 及びインターロイキン 4 を産生した。②NK1.1 抗原を発現しないマウス系統である BALB/c マウスにおいても U5A2-13 陽性 T 細胞は、樹状細胞と α ガラクトシルセラミドの刺激により活性化し、大量のインターフェロン γ 及びインターロイキン 4 を産生した。これらの結果より U5A2-13 抗体を用いることで NK1.1 抗原を発現しないマウス系統においても NKT 細胞に相当する細胞の機能解析が可能となり、U5A2-13 陽性 T 細胞は NKT 細胞と同様に樹状細胞と α ガラクトシルセラミドの刺激により活性化されることが初めて明らかにされた。また、NKT 細胞と同様に U5A2-13 陽性 T 細胞は樹状細胞表面の CD1d 分子に提示された α ガラクトシルセラミドを認識し活性化するという事実が初めて明らかにされた。

3. 研究成果の意義と学術的水準

本研究により U5A2-13 抗体を用いることで NK1.1 抗原を発現しないマウス系統においても NKT 細胞に相当する細胞の機能解析が可能となり、今後、多系統のマウスにおいて抗腫瘍免疫反応あるいは自己免疫反応における NKT 細胞の役割について有用な情報が得られることが期待されることから、本研究は優れた学術的意義を有するものであると判断した。また、高いレベルの免疫学的手法を駆使した実験内容は高い学術的水準を有するものと判断した。

以上の審査結果から、本論文は学位授与に十分値するものであると判定した。