

学 位 論 文 題 名

Phenotypic and functional characteristics of asialoGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> central memory-type T cell as a novel immunomodulator of type 1 immunity

(タイプ 1 免疫の新規免疫調節細胞である asialoGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の表現形とその機能的性状に関する研究)

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

2種類ヘルパーT(Th)細胞により制御されている Th1/Th2 バランスは免疫調節の中核的な役割を果たしており、この免疫バランスの破綻はアレルギーや糖尿病をはじめとする様々な免疫病の発症、さらには発癌率の増加にもつながる可能性がある。したがって Th1/Th2 バランス制御機構の解明に関する研究は様々な疾病の原因解明や診断法、治療法の開発のために非常に重要な課題であると考えられる。近年、Th1、Th2 細胞以外にも多くの細胞が免疫バランス制御に関与していることが明確にされている。例えば、CD8<sup>+</sup>キラーT (Tc) 細胞も Th 細胞と同様に IL-2 や IFN- $\gamma$ を産生する Tc1 細胞と、IL-4 を産生する Tc2 細胞に分類できることが証明されている。さらに、獲得性免疫を担う T 細胞だけではなく、自然免疫を担う樹状細胞 (DC) や natural killer (NK) 細胞、natural killer T (NKT) 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞などが産生する様々なサイトカインも免疫バランス制御において重要な役割を担っていることが明らかにされた。このように、免疫バランスは Th1 免疫の活性化に重要な役割を果たす Th1、Tc1、DC1、NK、NKT 細胞などのタイプ 1 免疫調節細胞群と Th2 免疫の活性化に関わる Th2、Tc2、DC2、NKT 細胞などのタイプ 2 免疫調節細胞群の大きな2つの細胞集団に大別されると考えられる。

これまでにタイプ 1/タイプ 2 バランス制御に関わる因子として様々な細胞群、サイトカイン、シグナルなどが報告されている。さらに最近では免疫バランス制御機構が神経、内分泌機構と関連して生体内の恒常性維持に重要であるという報告もあり、タイプ 1/タイプ 2 バランス制御に関する研究はこれまで以上に重要になっていくことが考えられる。本研究では、タイプ 1 免疫の活性化に関与する新たな免疫調節細胞群である asialoGM1 (ASGM1)<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞を見出し、その機能解析を行った。

第1章では序章として、免疫バランス制御、感染および癌治療におけるタイプ 1 免疫の重要性、さらにナイーブ CD8<sup>+</sup> T 細胞からメモリーCD8<sup>+</sup> T 細胞への分化機序やその機能的特徴について概説した。

第2章では、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞が有する表現型と IL-12 応答性について述べた。糖脂質である ASGM1 は主に NK マーカーとして用いられているが、CD8<sup>+</sup> T 細胞中において ASGM1 分子を発現している細胞群が存在することを見出した。この ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞は CD44<sup>hi</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞群の約 35%を占めるメモリータイプの細胞であり、さらに CD62L や CCR7 を発現していることより、本細胞はセントラルメモ

リータイプの細胞群であると考えられた。ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は IL-2+IL-12 刺激に対して高い細胞増殖能や細胞傷害性活性、IFN- $\gamma$  産生能をもつことが判明したが、これは本細胞が IL-12 に直接反応した後に IL-2 応答性を獲得した結果であることが示唆された。実際に ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞群に比べ IL-12 受容体  $\beta$ 2 の発現量が高く、in vivo に IL-12 を投与すると、生体内において本細胞より高い細胞傷害性活性が誘導されることが証明された。以上の結果より、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞が IL-12 応答性を有しており、タイプ 1 免疫の活性化に重要な役割を果たしているであろうことが示された。

第 3 章では、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の抗 CD3 抗体刺激に対する反応性と本細胞の遺伝子支配について述べた。ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は抗 CD3 抗体刺激に対して、メモリータイプである CD44<sup>hi</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞群の中でも著しく強い IFN- $\gamma$  産生能を有していることが判明した。また、in vivo に抗 CD3 抗体を投与すると ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は NK 細胞や NKT 細胞と同様に、IFN- $\gamma$  を早期に産生することが明らかとなり、本細胞が免疫反応初期におけるタイプ 1/タイプ 2 バランス制御においても重要な役割を担っていることが示唆された。さらに、本細胞はナイーブ Th 細胞から Th1 細胞への誘導能も持ち合わせていることより、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は IFN- $\gamma$  産生型 (Tc1) のキラー前駆細胞としての役割をもつだけでなく、タイプ 1 免疫の誘導に重要な調節細胞として機能することも明らかになった。免疫バランス制御には遺伝子支配があることが古くから報告されており、マウスモデルとして Th1 型の C57BL/6 マウスと Th2 型の BALB/c マウスがよく知られている。この 2 系統のマウスにおいて、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の存在率および IFN- $\gamma$  産生能はどちらも Th1 型である C57BL/6 マウスがより高いことが半明し、本細胞は遺伝子支配されたタイプ 1/タイプ 2 バランス制御においても重要であることが推測された。

第 4 章は、総括である。本研究では、タイプ 1 免疫反応の誘導に極めて重要であると考えられる ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の表現形およびその機能的特徴を明らかにした。さらに、本細胞は存在率のみならずその機能も遺伝子支配を受けていることが示された。したがって、新規免疫調節細胞である ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は、免疫バランス制御を介した疾病制御においても重要な意義を有すると考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 紳一郎  
副 査 教 授 西 村 孝 司 (医学研究科)  
副 査 教 授 綾 部 時 芳 (生命科学学院)  
副 査 教 授 河 野 敬 一

学 位 論 文 題 名

## Phenotypic and functional characteristics of asialoGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> central memory-type T cell as a novel immunomodulator of type 1 immunity

(タイプ1免疫の新規免疫調節細胞である asialoGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の表現形とその機能的性状に関する研究)

近年、免疫系の制御を介した疾患克服に関する研究が盛んに行われている。免疫系は Th1 免疫の活性化に重要な役割を果たすタイプ 1 免疫調節細胞群と、Th2 免疫の誘導に関与するタイプ 2 免疫調節細胞群の 2 つの細胞集団に大別することができる。この 2 つの免疫バランスの破綻はアレルギーや糖尿病をはじめとする様々な免疫病の発症、さらには悪性腫瘍の発症率増加にもつながる可能性があることから、タイプ 1 / タイプ 2 免疫バランス制御機構の解明に関する研究は様々な疾病の原因解明や診断法、治療法の開発のために非常に重要な課題である。

本論文は、感染や悪性腫瘍に対する防御免疫に極めて重要なタイプ 1 免疫を活性化する asialoGM1<sup>+</sup>(ASGM1<sup>+</sup>)CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の存在を報告し、この新規免疫調節細胞の表現形と機能的性状に関して議論している。一般に糖脂質である asialoGM1(ASGM1)分子は、免疫担当細胞群の中で、主にナチュラルキラー細胞を同定する標的分子として利用されているが、本研究で CD8<sup>+</sup> T 細胞においても発現していることを見いだしている。この ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞は CD44<sup>high</sup>CD8<sup>+</sup>メモリータイプ T 細胞群の約 35%を占め、さらに CD62L や CCR7 も発現していることから、本細胞はセントラルメモリータイプの細胞群であることを明らかにしている。次に、C57BL/6 マウスの脾細胞より分取した ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞を IL-2+IL-12 で刺激する場合、高い細胞増殖能や細胞傷害性活性、IFN- $\gamma$ 産生能が誘導される事を述べている。この反応性は IL-2 と IL-12 を用いたパルス実験より、本細胞が IL-12 に直接反応した後に IL-2 応答性を獲得した結果であることを示している。実際に ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 細胞群に比べ IL-12 受容体  $\beta 2$  の発現量が高く、生体内において IL-12 を直接投与する場合、本細胞より高い細胞傷害性活性が誘導されることを証明している。また、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞は、CD44<sup>high</sup>CD8<sup>+</sup>メモリータイプ T 細胞群の中でも著しく強い IFN- $\gamma$ 産生能を有することを明らかにし、加えて感染初期に反応するナチュラルキラー細胞やナチュラルキラー T 細胞と同様に、抗原刺激早期に IFN- $\gamma$ を産生することを示している。したがって、本細胞は免疫反応初期におけるタイプ 1 / タイプ 2 バランス制御においても重要な役割を担っていることが分かる。さらに、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメ

メモリータイプ T 細胞はナイーブ Th 細胞を Th1 細胞へ誘導する能力も持ち合わせていることより、IFN- $\gamma$  産生型のタイプ 1 キラー前駆細胞としての役割を持つだけでなく、タイプ 1 免疫の誘導に重要な調節細胞として機能することも証明している。免疫バランスの制御には遺伝子支配があることが古くから報告されているが、ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の存在率および IFN- $\gamma$  産生能はどちらも Th1 型である C57BL/6 マウスが Th2 型の BALB/c マウスより高いことが判明し、本細胞は遺伝子支配されたタイプ 1/タイプ 2 バランス制御においても重要であることを証明している。

これを要するに、著者は、タイプ 1 免疫反応の誘導に極めて重要な新規免疫調節細胞である ASGM1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> セントラルメモリータイプ T 細胞の機能的特徴を明らかにし、免疫バランス制御機構を介した新たな疾病治療法の開発に大きな貢献を果たしたものといえる。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。