

氏名(生年月日)	オオ 大	ニシ 西	ムツ 睦	コ 子
本 籍				
学位の種類	博士(医学)			
学位授与の番号	甲第397号			
学位授与の日付	平成17年3月18日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)			
学位論文題目	Evaluation of functional CMV specific T cell recovery in patients after reduced intensity allogeneic stem cell transplants using interferon- γ -enzyme-linked immunospot assay with an immunodominant T cell epitope (同種造血幹細胞移植後患者におけるサイトメガロウイルス(CMV)特異的T細胞応答のモニタリングに関する研究)			
主論文公表誌				
論文審査委員	(主査) 教授 泉二登志子 (副査) 教授 内山 竹彦, 堀 貞夫			

論文内容の要旨

〔目的〕

同種造血幹細胞移植後患者におけるサイトメガロウイルス(CMV)に対する免疫応答を解析する目的で, CMV特異的T細胞の生体内動態を, HLAテトラマー法およびELISPOT法でモニタリングを行い, 比較検討した.

〔対象および方法〕

健康人ドナー末梢血単核球から, 3種類のHLA-A*0201拘束性CMV-T細胞エピトープペプチドを用い, CMV特異的T細胞を誘導し, その抗原認識特異性を, IFN- γ 分泌試験(ELISA法)とPE標識HLAテトラマーで検討した. 次に, 同種造血幹細胞移植後患者の末梢血中のCMVpp65(495-503)ペプチド(NLVPMVATV)特異的T細胞動態を, PE標識CMVpp65(495-503)/HLA-A*0201テトラマーとFITC標識抗CD8抗体を用いたFACSによるCMVpp65(495-503)特異的T細胞頻度および, ELISPOT法によるCMVpp65(495-503)特異的IFN- γ 分泌性T細胞の頻度を, それぞれ経時的に測定することにより検討した.

〔結果〕

末梢血単核球からHLA-A*0201拘束性CMVpp65(495-503)特異的CD8+T細胞は, HLA-A*0201陽性ドナー8例中7例, HLA-A*0206陽性ドナー6例中6例に誘導された. 28例のHLA-A*0201患者と, 9例のHLA-A*0206患者の同種造血幹細胞移植後の末梢血において, このCMVpp65(495-503)ペプチドに対する特異的T細胞動態を, HLAテトラマー法およびELISPOT法により経時的にモニタリングした. その結果, ELISPOT法が, HLAテトラマー法と比較して, 高感度で, CMV特異的免疫応答の開始をより早く検出することができた. さらに, 抗ヒト胸腺グロブリン(anti-thymocyte globulin; ATG)なしの非骨髄破壊的移植と, ATGありの非骨髄破壊的移植と, 通常骨髄破壊的移植の3種類の移植前処置において, CMV特異的T細胞が検出される日をELISPOT法で比較した. その結果, ATGなしの非骨髄破壊的移植において, CMVペプチド特異的T細胞が, 移植後最も早く検出され, また, CMV血症が発症しない 1×10^6 T細胞/L末梢血に到達した.

〔考察〕

CMVpp65(495-503)ペプチドは, immunodominantであり, HLA-A*0201およびHLA-A*0206患者におけるCMV特異的T細胞応答のモニタリングに使用できる可能性が示唆された. また, テトラマー法と比較し, ELISPOT法は, 機能的な抗ウイルス活性を反映している可能性が示唆された.

〔結論〕

CMV 特異的 T 細胞応答を、HLA テトラマー法と ELISPOT 法を用いて経時的に観察し、ELISPOT 法は、より正確に高感度で T 細胞活性を測定できると考えられた。さらに ATG なしの非骨髄破壊的移植と、ATG ありの非骨髄破壊的移植と、通常骨髄破壊的移植の 3 種類の移植前処置において、ATG なしの非骨髄破壊的移植は、移植後 CMV に対する免疫応答の回復が、最も早いことが示唆された。

論 文 審 査 の 要 旨

同種造血幹細胞移植後患者におけるサイトメガロウイルス (CMV) に対する免疫応答を解析する目的で CMV 特異的 T 細胞の生体内動態を検討した。健康人末梢血単核球から、3 種類の HLA-A*0201 拘束性 CMV-T 細胞エピトープペプチドを用い、CMV 特異的 T 細胞を誘導し、その抗原認識特異性を IFN- γ 分泌性 T 細胞をみる ELISPOT 法と flow cytometry を用いた HLA テトラマー法で検討した。その結果 HLA-A*0201 拘束性 CMVpp65 (495-503), NLVPMVATV エピトープペプチドに対する特異的 CD8+ T 細胞が高率に誘導されることが判明したので、これを用い同種造血幹細胞移植後患者の末梢血中の CMVpp65 ペプチド特異的 T 細胞の頻度を調べた。その結果 ELISPOT 法が HLA テトラマー法と比較して高感度で CMV 特異的免疫応答をより早く検出できることが明らかになった。抗ヒト胸腺グロブリン (ATG) を投与されずに非骨髄破壊的移植を受けた患者、ATG を投与され非骨髄破壊的移植を受けた患者、通常の骨髄破壊的移植を受けた患者と比較すると、ATG を投与されずに非骨髄破壊的移植を受けた患者において CMV ペプチド特異的 T 細胞が移植後最も早く検出され、移植後の免疫応答の回復が最も早いことが示唆された。