

新しいT細胞活性化マーカー、H4分子の
胸腺内T細胞の分化、選択における役割

09670344

平成9年度～平成11年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))研究成果報告書

平成12年3月



研究代表者

八木 淳二

(東京女子医科大学医学部 講師)

H11
KC2
Yag

はしがき

科学研究費補助金基盤研究 (C) (2) 「新しいT細胞活性化マーカー、H4分子の胸腺内T細胞の分化、選択における役割」 (課題番号09670344) により我々は新しい知見をもたらした多くの研究成果を得ることができました。とくに、H4分子表現に基づき新しいタイプのNKT様細胞の存在を明らかにすることができました。研究費授与に関係された各位に深く感謝いたします。また、H4分子は、1991年にNature誌に発表されたヒト活性化T細胞上に表現される新しい補助刺激シグナル分子、ICOSと同一のマウスのT細胞表面分子であることが判明しました。ICOSおよびそのリガンドは、最近急速に明らかにされつつあり、多くの研究論文が発表されております。補助刺激シグナル分子は、T細胞の活性化、不活化という基本的な免疫反応のみならず、臨床的には、移植の拒絶反応や外毒素による異常反応などに密接に関わっております。我々は、H4ないしICOSおよびそのリガンドの解析は、将来、様々な免疫システムの異常反応の克服に役立つものと期待し、現在研究をさらに展開しております。

東京女子医科大学 微生物学・免疫学教室

八木 淳二

研究組織

研究代表者：八木淳二 (東京女子医科大学医学部 講師)

研究分担者：内山竹彦 (東京女子医科大学医学部 教授)

研究分担者：今西健一 (東京女子医科大学医学部 助教授)

研究分担者：藤巻わかえ (東京女子医科大学医学部 講師)

研究分担者：加藤秀人 (東京女子医科大学医学部 助手)

研究分担者：秋山 徹 (東京女子医科大学医学部 助手)

研究分担者：田中義正 (京都大学医学部 助手)

研究経費

平成9年度	1 1 0 0 千円
平成10年度	9 0 0 千円
平成11年度	1 1 0 0 千円
計	3 1 0 0 千円

研究発表

(1) 学会誌

1. J. Yagi, T. Uchida, K. Kuroda, and T. Uchiyama. Influence of retinoic acid on the differentiation pathway of T cells in the thymus. *Cell. Immunol.* 181:153-162, 1997.
2. J. Yagi, U. Dianzani, H. Kato, T. Okamoto, T. Katsurada, D. Buonfiglio, T. Miyoshi-Akiyama, and T. Uchiyama. Identification of a new type of invariant Va14⁺ T cells and responsiveness to a superantigen, *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen. *J. Immunol.* 163:3083-3091, 1999.
3. 八木淳二. T細胞レセプターのレパートリー形成. *アレルギー・免疫*6:456-464, 1999.

(2) 口頭発表

1. 八木淳二, Umberto Dianzani, 加藤秀人, 田中義正, 藤巻わかえ, 小林博人, 内山竹彦. 新しいT細胞活性化マーカー、H4分子を表現する胸腺T細胞サブポピュレーションの解析. 第27回 日本免疫学会総会・学術集会. 1997年10月31日

2. 八木淳二, Umberto Dianzani, 加藤秀人, 桂田友子, 岡本俊宏, 内山竹彦. 新しいT細胞活性化マーカー、H4分子表現に基づく胸腺T細胞サブポピュレーションの反応性の解析. 第8回 Kyoto T Cell Conference. 1998年10月9日

3. 八木淳二, Umberto Dianzani, 加藤秀人, 桂田友子, 岡本俊宏, 内山竹彦. 新しいT細胞活性化マーカー、H4分子を表現する胸腺T細胞サブポピュレーションの解析. 第28回 日本免疫学会総会・学術集会. 1998年12月4日

4. 八木淳二, Umberto Dianzani, 加藤秀人, 桂田友子, 岡本俊宏, 内山竹彦. 新しいT細胞活性化マーカー、H4分子表現に基づく胸腺T細胞サブポピュレーションの反応性の解析. 第72回 日本細菌学会総会. 1999年3月25日

5. 八木淳二, Umberto Dianzani, 加藤秀人, 五字弘, 岡本俊宏, 有村裕, 内山竹彦. 新しいタイプのマウスInvariant Va14⁺T細胞の同定と反応性の検討. 第9回 Kyoto T Cell Conference. 1999年10月9日

6. 八木淳二, Umberto Dianzani, 加藤秀人, 五字弘, 岡本俊宏, 秋山徹, 内山竹彦. 新しいタイプのマウスInvariant Va14⁺T細胞の同定と反応性の検討. 第29回 日本免疫学会総会・学術集会. 1999年12月1日

研究成果

T細胞の免疫応答には、様々な調節性の分子が関わっている。なかでも、CD28分子は、主要な補助刺激シグナルを提供する分子としてよく知られている。最近になって、活性化したT細胞にのみ表現される補助刺激シグナル分子の存在が明らかになってきた。ヒトの表面分子ICOS (Hutloff, A. et al. Nature, 397: 263, 1999) は、活性化T細胞にのみ表現され、TCRを介した刺激を増幅させる。構造的にCD28分子と高い相同性をもっている。一方、我々は、マウスにおける同様な分子H4を解析してきた。H4はTCRとcocappingすることから、TCRと会合する新しい補助刺激シグナル分子であることが示唆される (Redoglia, V. et al. Eur. J. Immunol., 26: 2781, 1996)。モノクローナル抗H4抗体は、ICOSのtransfectantにも反応することから、現在のところH4は、ICOSと同一の分子である可能性が高いと考えている。

我々は、H4分子がマウス胸腺細胞に強く表現されることを認め、H4分子の役割について解析を進めてきた。その結果、胸腺TCR- $\alpha\beta$ 陽性CD4 シングルポジティブ(SP)細胞は、H4の表現量に基づいて三つのサブポピュレーションに分かれることが明らかとなった。すなわち、大部分を占めるH4陰性ないし弱陽性細胞 (H4^{low}細胞、TCR- $\alpha\beta$ 陽性CD4 SP細胞中の85%) は主要な分化、選択の経路にのる通常のT細胞であり、H4中等度陽性細胞 (H4^{int}細胞、TCR- $\alpha\beta$ 陽性CD4 SP細胞中の1.5%) はV β 2、7、8からなる片寄ったTCR V β レパートリーとNKTのphenotype: TCR- $\alpha\beta$ ^{low}、CD44^{high}、Ly6C^{high}、NK1.1を表現する通常のNKT細胞であるのに対して、H4強陽性細胞 (H4^{high}細胞、TCR- $\alpha\beta$ 陽性CD4 SP細胞中の3.0%) は、V β 2、7、8からなるV β レパートリーと均一なV α 14-J α 281⁺ α 鎖からなるTCRを主として表現するが、TCR- $\alpha\beta$ ^{high}、CD44^{int}、Ly6CおよびNK1.1を全く表現しない新しいタイプの細胞であることが示された。したがって、invariant V α 14⁺T細胞は、通常のNKT細胞と新しいタイプのH4^{high}細胞からなると考えられる。また、V β 7⁺、V β 8.1⁺H4^{low}細胞は、マウス乳癌ウイルス(Mtv)-7を保有するDBA/2マウス胸腺において、Mtv-7由来スーパー抗原に反応してクローン消失し著しく減少するのに対し、V β 7⁺、V β 8.1⁺invariant V α 14⁺胸腺T細胞はMtv-7陰性のBALB/cマウスと同程度存在することが認められた。このようにクローン消失を逃

れて存在するDBA/2V β 7⁺invariant V α 14⁺胸腺T細胞は、エルシニア由来スーパー抗原、*Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen (YPM)に対してin vitroでBALB/cに匹敵する高い反応性を示した。以上の結果を踏まえて、我々は、新しいタイプのinvariant V α 14⁺T細胞の存在とinvariant V α 14⁺T細胞はクローン消失に抵抗性があり、DBA/2マウスにおいて潜在的に自己反応性であるV β 7⁺invariant V α 14⁺T細胞は、外来抗原には反応性を保ちながら、自己寛容を維持するユニークな免疫学的な調節を受けていることを報告した(Yagi, J. et al. J. Immunol., 163: 3083, 1999)。

H4は、マウス胸腺細胞において、CD4 SP、CD8 SPおよびダブルネガティブ(DN)細胞に表現されるが、ダブルポジティブ(DP)細胞には全く表現されない。H4はCD3ないしTCR- α β 陰性の胸腺細胞には表現されないが、それらの表現の獲得にともなって表現されてくる。DBA/2マウス胸腺においてクローン消失するV β 陽性細胞のTCR- α β 弱陽性細胞およびクローン消失しないV β 陽性細胞のTCR- α β 弱陽性細胞および強陽性細胞ともにH4^{low}表現を認めた。さらに、BALB/cマウスのDP細胞を抗CD3抗体をコートしたプレートで培養するのにともないCD69陽性細胞およびH4^{low}細胞が出現した。したがって、H4はDP細胞が選択のシグナルをうけると発現し、さらにH4を介して選択のシグナルに影響をあたえることも示唆される。

我々は、以上の成果に基づいて、今後さらに、新しいタイプのinvariant V α 14⁺T細胞のマウス末梢リンパ組織中での同定およびCD1拘束性の有無、YPMに対する反応性、ヒト胸腺細胞でのH4表現などによって、invariant V α 14⁺T細胞の同定と機能解析をさらに進めたい。さらに、H4分子について、胸腺内T細胞の分化、選択における役割を検討するために、種々の実験系においてモノクローナル抗H4抗体やH4とIgGのfusion蛋白の効果解析する。また、T細胞活性化やアナジュー誘導への関与やシグナル伝達系について、CD28分子と比較検討しながら、H4の免疫学的意義について多角的な解析に努めたいと考えている。