

氏名	いしもと ゆい こ 石本結子
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第11号
学位授与の日付	平成17年 3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Age-dependent variation in the proportion and number of intestinal lymphocyte subsets, especially natural killer T cells, double-positive CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> cells and B220 <sup>+</sup> T cells, in mice (加齢によるマウス腸管リンパ球サブセットの割合と数の変化について(特にNKT細胞、CD4陽性CD8陽性細胞、B220陽性T細胞に注目して))
論文審査委員	主査 教授 内藤 眞 副査 教授 青柳 豊 副査 教授 安保 徹

#### 博士論文の要旨

先天的に胸腺のないヌードマウスでは約10週齢まではほとんどT細胞を認めないが、加齢とともに肝臓や腸管上皮に多数のT細胞が認められるようになる。これは胸腺外分化T細胞が加齢とともに増加するからである。胸腺を有するマウスでは、加齢による胸腺の萎縮に伴い胸腺外分化T細胞が増加する。今回我々は、肝臓や小腸、大腸、虫垂などの胸腺外免疫組織において、加齢とともにリンパ球サブセットがどのように変化するかを検討した。今回の研究ではC57BL/6(B6)マウスの他に、conventional NKT細胞(TCR $\alpha$ 鎖にV $\alpha$ 14 J $\alpha$ 281遺伝子を用いるNKT細胞。CD1d拘束性であり、多くはNK1.1<sup>+</sup>TCR<sup>int</sup>でCD4<sup>+</sup>あるいはCD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>。)を欠損するJ $\alpha$ 281(-/-)やCD1d(-/-)マウスも使用した。

〔方法〕4週、9週、40週齢のB6マウスおよびJ $\alpha$ 281(-/-)、CD1d(-/-)マウスを用いて、肝リンパ球および小腸・大腸・虫垂の腸管上皮内リンパ球(IEL)を分離し、その表面マーカーをフローサイトメトリーで解析した。

〔結果と考察〕4週齢マウスに比し、9週齢、40週齢マウスでリンパ球総数が肝臓、小腸、大腸、虫垂のどの臓器においても増加していた。このことは、胸腺や脾臓、リンパ節など胸腺由来T細胞の主に存在する臓器では逆に加齢に伴いリンパ球の総数が減少することから興味深い結果となった。加齢とともに増加するリンパ球サブセットの多くは、肝臓ではIL-2R $\beta$ <sup>+</sup>CD3<sup>int</sup>細胞(その約半数はNK1.1<sup>-</sup>)であったが、小腸、大腸、虫垂のIELではIL-2R $\beta$ <sup>-</sup>NK1.1<sup>-</sup>CD3<sup>+</sup>細胞であった。これまで我々は肝リンパ球におけるIL-2R $\beta$ <sup>+</sup>NK1.1<sup>-</sup>CD3<sup>int</sup>細胞が胸腺外分化T細胞であることを報告しているが、肝臓は系統発生的に消化管から発生した臓器であることから、肝臓および腸管も胸腺外分化T細胞の発生

の場合であると我々は考えた。そこで、肝リンパ球と IEL の組成を比較すると、肝リンパ球は主に T 細胞、B 細胞からなるのに対して IEL ではほとんどが T 細胞であった。また、各臓器における NKT (NK1.1<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>)細胞、T(NK1.1<sup>-</sup>CD3<sup>+</sup>)細胞中の CD4/CD8 比を比較すると、肝臓では両分画とも CD4<sup>+</sup>細胞が多く存在するが、腸管では CD8<sup>+</sup>細胞や CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>細胞が多く、加齢とともに CD8<sup>+</sup>細胞が増加することが分かった。また、小腸の T 細胞では CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>の特殊な分画を認め、加齢とともに増加した。また、肝 NKT、T 細胞で  $\gamma\delta$  細胞はほとんど認めなかったが、腸管では多くが  $\gamma\delta$  であった。さらに B220<sup>+</sup>T 細胞が虫垂 IEL に多く認められ、加齢とともに大腸、小腸 IEL では減少するのに対し、虫垂では減少を認めなかった。また、肝リンパ球に B220<sup>+</sup>T 細胞は認められなかった。J $\alpha$ 281(-/-)マウス、CD1d(-/-)マウスの肝臓では conventional NKT 細胞が減少するため、NKT 細胞は少数しか認められなくなるものの、腸管 IEL で NKT 細胞の割合に変化を認めなかった。このことは前述の結果からも腸管には CD8<sup>+</sup>unconventional NKT 細胞が存在するためと考えられた。以上より、肝臓も腸管も多くの胸腺外分化 T 細胞を有しているが、リンパ球サブセットの分布や年齢による変化は各臓器で異なっていることが分かった。胸腺由来 T 細胞ではその分化過程で自己応答性 T 細胞が排除されるため、外来抗原に対する免疫反応を主とするのに対して、胸腺外分化 T 細胞では自己応答性禁止クローンが存在することから、加齢により胸腺外分化 T 細胞が増加することは、加齢と共に発生する変性した自己細胞（癌など）を排除するためにも理にかなった現象であると考えられた。

## 審査結果の要旨

申請者はマウスの胸腺外免疫組織における加齢に伴うリンパ球のサブセットの変化を検討した。その結果、加齢に伴い、肝や消化管などの臓器においてリンパ球は増加し、肝内リンパ球は IL-2R $\beta$ <sup>+</sup>CD3<sup>int</sup>細胞、腸管上皮内リンパ球は IL-2R $\beta$ <sup>-</sup>NK1.1<sup>-</sup>CD3<sup>+</sup>細胞が主体であった。また、これら臓器の NKT 細胞、T 細胞中の CD4 細胞と CD8 細胞の比率や  $\gamma\delta$  細胞の分布は異なっていた。

本研究は肝や腸管に含まれるリンパ球のサブセットの分布や年齢による変化を明らかにし、加齢に伴う免疫反応の変化の一因を示した。この点に学位論文としての価値を認める。