

慢性ウイルス感染症における メモリーT細胞の機能解析

外丸 詩野 [北海道大学大学院医学研究科/助手]

背景・目的

ウイルス感染症においてウイルス特異的な免疫反応は宿主の免疫防御において重要な役割を果たす一方、様々なウイルス関連疾患の発症にも関与していると考えられている。本研究は慢性持続性ウイルス感染症の中でも、道内に感染者が多数存在するヒトT細胞白血病ウイルスI型(human T cell lymphocyte virus type I: HTLV-I)感染症に着目し、ウイルス特異的CD8+T細胞の機能を、最近樹立されたヒトHLA特異の人工的抗原提示細胞を用いて解析し、ウイルス感染のコントロール機構とウイルス関連疾患の発症機序解明を目的として行った。

内容・方法

本研究では最近樹立した人工的抗原提示細胞HmyA2GFPを用い、ウイルス特異的CD8+T細胞の機能解析を行った。HmyA2GFP細胞はHLA-A*201分子とGreen Fluorescence Protein (GFP)の融合蛋白を細胞表面に発現する細胞で、抗原ペプチドを添加後、抗原特異的CD8+T細胞と反応させることにより、ウイルス特異的CD8+T細胞と抗原提示細胞の相互作用、免疫シナプスの形成を簡便に解析することが可能となる。

実験にはHTLV-I関連疾患である脊髄症(HAM/TSP)を発症した患者末梢血リンパ球を用い、ウイルス特異的CD8+T細胞を表面抗原解析によりフェノタイプに細分類し、それぞれのフェノタイプ群のCD8+T細胞の人工的抗原提示細胞との免疫シナプス形成やサイトカイン産生能、接着分子等の発現の強弱と比較検討し、慢性HTLV-I感染症におけるウイルス特異的CD8+T細胞の機能解析を行った。

1. フェノタイプの解析には、表面抗原マーカーCD27、CD45RA等を用い、ウイルス特異的CD8+T細胞を4つの成熟段階に細分類し、ウイルス特異的CD8+T細胞の基礎的な解析を行った。
2. それぞれのフェノタイプの細胞群のウイルス特異的CD8+T細胞と抗原提示細胞との免疫シナプスの形成の効率について、人工的抗原提示細胞HmyA2GFP細胞を用いて検討した。

免疫シナプス形成の効率に関しては、各フェノタイプ群のCD8+T細胞のGFP陽性細胞の割合をFACSにより比較した。

3. それぞれのフェノタイプ群における接着因子やサイトカイン産生能を同様にFACSにより解析し、2の結果と比較検討した。

結果・成果

1. ウイルス特異的CD8+T細胞の基礎的な解析
HTLV-IとCMVの両方に感染した患者血液を用いて、ウイルス特異的CD8+T細胞の基礎的検討を行なった。抗

CD27、CD45RA抗体を用いたフェノタイプの解析では、同じ個体においてもウイルスの種類により、抗原特異的CD8+T細胞のフェノタイプの集積に違いがあることがわかった。CMV特異的CD8+T細胞ではナイーブ、あるいはエフェクター、特にエフェクターのフェノタイプを有するCD8+T細胞の集積が多く症例で観察されたが、一方HTLV-I特異的CD8+T細胞ではメモリーフェノタイプのCD8+T細胞の集積を有意に観察した。

2. ウイルス特異的CD8+T細胞による免疫シナプスの形成に係る検討

ウイルス特異的CD8+T細胞のフェノタイプを抗CD27、CD45RA抗体を用いて細分化し、それぞれのフェノタイプにおけるペプチド/HLA-GFP複合体の取込み、IFN-gamma産生、LFA-1発現を検討したところ、メモリー、エフェクター/メモリーのフェノタイプを有するCD8+T細胞より、ナイーブやエフェクター細胞において、より有意なペプチド/HLA-GFP複合体の取込み、IFN-gamma産生、LFA-1発現が観察された。

本研究課題では、免疫シナプスの形成に引き続くペプチド/HLA複合体の取込みがCD8+T細胞のフェノタイプにより異なったレベルで観察されることを示した。また、ペプチド/HLA複合体の取込みという現象がサイトカイン産生等のT細胞機能に相関していること、免疫シナプスの形成に必要な接着因子の発現に相関していることが明らかとなった。この結果から、CD8+T細胞によるペプチド/HLA複合体の取込みはT細胞機能を考える上で重要な要素であることが考えられる。また、最近の研究ではこのCD8+T細胞により取り込まれたペプチド/HLA複合体は他の抗原特異的CD8+T細胞により認識されることが示されている。CD8+T細胞によるペプチド/HLA複合体の取込みと疑似的な抗原提示が免疫反応の制御機構に関連している可能性が論じられ、慢性ウイルス感染症のウイルスコントロール機構や関連疾患の発症機序を解明する上でも興味深い現象として考えられている。

本研究で行なったウイルス抗原特異的CD8+T細胞のフェノタイプに関する検討では、同一患者の血液でもウイルスの種類により集積するCD8+T細胞のフェノタイプに相違が認められることが明らかになっており、これらの結果から集積するフェノタイプの相違とT細胞機能の相違が慢性ウイルス感染症のウイルスコントロール機構や関連疾患の発症機序に関連している可能性が推察され、さらなる検討が有効な治療法の開発のためにも期待された。

今後の展望

本研究を通じた慢性ウイルス感染症におけるウイルス特異的CD8+T細胞の機能解析に関する検討は、ウイルス関連疾患の発症機序解明に大きな進展を与えるのみならず、治療法の確立のためにも非常に意義深いと考えられる。また、本研究開発はHTLV-Iのみならず、HIV-1をはじめとするわが国でもまん延が問題になっている多くの慢性ウイルス感染症に対するウイルス感染のコントロール機構とウイルス関連疾患の発症機序解明にも大きな進展を与えることが期待される。