

氏 名（本籍） 倉 根 一 郎

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 3 7 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 2 月 26 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 53 年 3 月 24 日  
東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 Dengue virus-specific human T cell clones :  
serotype crossreactive proliferation, inter-  
feron gamma production and cytotoxic acti-  
vity (デングウイルス特異的ヒト T細胞クロー  
ンの解析. 特に型交差性増殖反応, インターフェ  
ロンガンマ産生, 及び殺細胞活性の解析)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 菅 村 和 夫 教 授 岩 崎 祐 三

教 授 橋 武 彦

## 論 文 内 容 要 旨

デングウイルス感染症は、世界各地の熱帯亜熱帯地域、特に東南アジアや中南アメリカで大きな問題となっている疾患である。デングウイルスはフラビウイルスに属し蚊によって媒介される。4つの型（1-4型）に分類され、生体内では単球やマクロファージに感染する。デングウイルスの感染は重篤度の異なる2つの病態をひきおこす。95%以上の患者は、発熱、筋肉痛、骨痛などを主症状とする Dengue fever (DF) と呼ばれる病態を示し一週間前後で回復する。しかし、一部の患者は血漿漏出、出血傾向を主症状とする重篤な病態を呈する。この病態は Dengue hemorrhagic fever (DHF) と呼ばれ、さらに血圧低下が主症状として現われる致死的な病態は Dengue shock syndrome (DSS) と呼ばれる。1950年代に初めて DHF/DSS が報告されて以来、DHF/DSS による150万人以上の入院、3万人の死亡が報告されている。DHF/DSS の成因は不明であるが、疫学的に1-15歳の小児が9割をしめ、初感染時に比べ百倍以上の率で再感染時に発症すること、又この再感染は初感染と異なる型のデングウイルスによることが知られている。これらの事より DHF/DSS の病態形成にはデングウイルス型交差性の免疫反応が関与することが推察されてきた。その一つの可能性としてウイルス特異的 T細胞の関与が考えられる。一方、他のウイルス感染においてウイルス特異的 T細胞は感染からの回復に重要な役割をはたすことが知られている。私はデングウイルス感染におけるデングウイルス特異的 T細胞の役割を解明することを最終的な目標としてウイルス特異的 T細胞クローンを樹立し、その性状と機能を解析した。T細胞クローンはデングウイルス3型に1年前に感染し回復した健康成人の末梢血リンパ球より非感染性デングウイルス3型抗原を用いて樹立した。樹立された12クローンはすべて CD3, CD4抗原を有する T細胞であり CD8抗原は有さなかった。このうち4クローンはデングウイルス3型抗原に対してのみ増殖反応を示す型特異的クローンであった。8クローンは他の型の抗原に対しても増殖反応を示す型交差反応性クローンであった。

次にこれら T細胞クローンの機能を検索した。デングウイルス特異的 T細胞クローンは各抗原刺激による増殖反応時に高濃度のインターフェロンガンマ (IFN  $\gamma$ ) を産生した。又、T細胞クローンはデングウイルスに感染した自己細胞や、非感染性デングウイルス抗原と培養した自己細胞を抗原特異的に溶解する殺細胞活性を有していた。殺細胞活性を用いて6クローンのウイルス型交差反応性をさらによくわしく検討した。これら6つの T細胞クローンは①デングウイルス3型のみを認識するもの (Serotype-specific) ②デングウイルス2, 3, 4型を認識するもの (Dengue subcomplex-specific) ③デングウイルス1-4型を認識するもの (Dengue serotype-crossreactive) ④デングウイルス1-4型、ウエストナイルウイルス (WNV) を認識するもの

(Flavivirus-cross-reactive) ⑤デングウイルス 1-4 型, WNV, 黄熱病ウイルスを認識するもの (Flavivirus-crossreactive) の 5 つに分類された。さらに, これら T 細胞クローンの HLA 依存型を HLA DP, DQ, DR に対するモノクローナル抗体を用いて検索すると, デングウイルス 2, 3, 4 型を認識する subcomplex-specific クローンは HLA DQ 依存性に, 他のクローンは HLA DP 依存性にターゲット細胞を溶解した。

以上の結果は, デングウイルス初感染後, デングウイルス特異的で CD4 抗原を有する T 細胞が出現することを示している。これらの T 細胞はデングウイルス型交差反応性のものが型特異的なものより優位であり, その型交差反応性はさらに 4 つに分けられた。したがって初感染と異なる型のデングウイルスによる再感染時, これらの型交差反応性, CD4<sup>+</sup>T 細胞が増殖し IFN  $\gamma$  を産生する。私は過去に IFN  $\gamma$  が抗デングウイルス抗体存在下で単球のデングウイルス感染を大幅に増加させることを観察し, その機構が IFN  $\gamma$  による Fc レセプターの発現増加によることを報告した。再感染時, 型交差反応性抗デングウイルス抗体が血液中に存在することが知られており, デングウイルス特異的 T 細胞が, 増殖時 IFN  $\gamma$  を産生するという事実は, 再感染時生体内でこれらの T 細胞が IFN  $\gamma$  産生を介してデングウイルス感染を増加する可能性を強く示唆する。IFN  $\gamma$  は単球を活性化させ, 単球によるサイトカインやケミカルメディエーターの産生を増加させる。以上より再感染時デングウイルス型交差反応性 CD4<sup>+</sup>T 細胞が IFN  $\gamma$  産生によりデングウイルス感染単球の増加と活性化をひきおこし, さらにこれらの感染単球を溶解することにより大量のサイトカインやケミカルメディエーターを放出させ DHF/DSS の病態発現に関与する可能性が示唆される。

## 審査結果の要旨

本論文は、デングウイルス感染により、デングウイルス特異的でCD4抗原を有するT細胞が出現すること、又これらのT細胞は、デングウイルス型交差反応性のものが型特異的なものより優位であり、ウイルス型特異性により5種に分類されることを示したものである。

デングウイルス感染症は、世界各地の熱帯及び亜熱帯地域で大きな問題となっている疾患である。デングウイルス感染は重篤度の異なる2つの病態 Dengue fever と Dengue hemorrhagic fever (DHF) を引き起こす。特に、DHFは血漿漏出、出血傾向を主症状とする致死的な疾患である。DHFの成因は不明であるが、疫学的に1～15歳の小児が9割を占め、初感染時に比べ高い率で再感染時に発症すること、又この再感染は初感染と異なる型のデングウイルスによるものであることが知られており、DHFの病態形成にデングウイルス型交差性の免疫反応が関与していると考えられている。

本論文では、デングウイルスに感染し回復した成人のリンパ球よりT細胞クローンを樹立することにより、デングウイルス特異的T細胞の性状、機能を詳細に検討した。デングウイルス特異的T細胞クローンはデングウイルス3型に1年間感染し回復した健康成人の末梢血リンパ球より非感染性デングウイルス3型抗原を用いて樹立した。樹立されたT細胞クローンはいずれもCD3、CD4抗原を有しCD8抗原を有さなかった。これらのT細胞クローンは抗原特異的殺細胞活性を有しており、又、抗原刺激による増殖時に高濃度のインターフェロン $\gamma$ を産生した。T細胞クローンの、デングウイルス1-4型と他のフラビウイルスに対する反応特異性は単一でなく①デングウイルス3型のみを認識するもの ②デングウイルス2, 3, 4型を認識するもの ③デングウイルス1-4型を認識するもの ④デングウイルス1-4型, ウエストナイルウイルスを認識するもの ⑤デングウイルス1-4型, ウエストナイルウイルス, 黄熱病ウイルスを認識するものの5種に分類された。さらにこれらT細胞の抗原認識は、デングウイルス2, 3, 4型を認識するクローンはHLA DQ依存性であり、他のクローンはHLA DP依存性であった。以上の点が明らかにされた。

デングウイルス感染症はフラビウイルスによる感染症において、最も重要なものの一つである。デングウイルス特異的T細胞の解析は、デングウイルス感染の病態解明や将来のワクチン開発にとって重要である。デングウイルス初感染により型交差反応性T細胞が出現することは、初感染と異なる型のデングウイルスによる再感染時、これらのT細胞が迅速に活性化されることを示しており、デングウイルス再感染時におけるDHFの病態形成の解明にとって重要な発見である。従って、本論文は博士号授与に値する研究とみなす。