

技術習得報告書

提出日 2011年 9月 5日



申請者	氏名	藤田 剛
	所属・職	医学系研究科免疫学分野博士課程1年
出張期間	2011年 8月 22日 ~ 8月 26日	
出張先	米国ハワイ大学 AIDS センター	
出張目的	技術習得	
研究課題名	ヒトにおける CD4+リンパ球の数的恒常性	

技術解説・プロトコル・得られた成果など

<技術解説>

リンパ球は数が減少すると数の面での恒常性を保つために増殖を行うことがわかっている。リンパ球減少を感知するメカニズムについてはいまだあきらかとなっていないが、現在、常在細菌との関連性や自己抗原による刺激など様々なものが考えられている。今回の出張で技術を教えてくださいました Lishomwa Ndhlovu 博士は、初めてリンパ球同士の相互作用による増殖を発見された。彼は CD4+リンパ球を CD25 と CD39 によりサブセットにわけ、それぞれ suppressor T cell(Tsup), inducer T cell(Tind), responder T cell(Tres)と名づけた。(fig.1)これは、Tres をそれぞれ Tres, Tsup, Tind と共培養したときに、Tsup との共培養では Tres の増殖が抑制され、Tind との共培養では増殖が促進されるという発見に由来する。(fig.2)のメカニズムに関しては現在研究の最中であるが、CD39 を介した NTPDase の活性が関与していることを Ndhlovu 博士らのグループは突き止めており、これは上述のリンパ球の増殖とは全く異なるものだと考えられる。

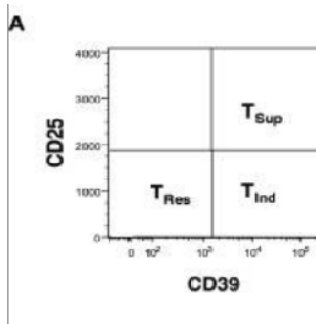


fig.1 European Journal of Immunology 2010

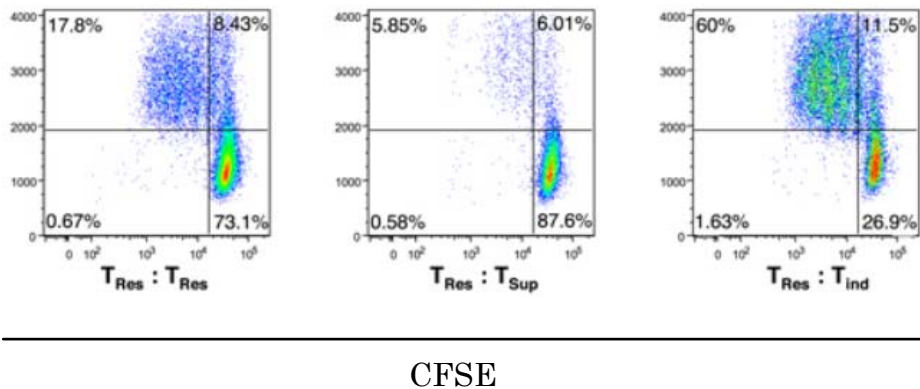


fig.2 European Journal of Immunology 2010

<p>技術解説・プロトコル・得られた成果など</p>	<p>&lt;プロトコル&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ヒトの血液サンプルから密度勾配遠心法により末梢血単核球を採取する。</li> <li>2. セルソーターを用いて, Tsup, Tres, Tind をそれぞれ 95%以上の高純度で採取する。 <ol style="list-style-type: none"> <li>a.Tsup: CD39(+), CD25(+)</li> <li>b.Tind: CD39(+), CD25(-)</li> <li>c. Tres: CD39(-), CD25(-)</li> </ol> </li> <li>3. Tres を CFSE でラベリングする。</li> <li>4. CFSE でラベルした Tres を Tsup, Tres, Tind とそれぞれ共培養する。(今回は細胞数の比率は双方とも 50,000 細胞で 1:1 であった。) <p style="margin-left: 2em;">このとき抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体により刺激し, 5日間共培養する。</p> </li> <li>5. 共培養した細胞を FACS で CD4, CD25,CD39,CFSE で展開する。このとき, 分裂するごとに細胞質内の CSFE 濃度が半減していくため, CSFE の強度を見ることにより分裂の回数や程度をみる事が可能になる。</li> </ol> <p>&lt;得られた成果&gt;</p> <p>今回 Ndhlovu 博士から教えていただいたリンパ球の増殖の仕組みは全く新しいものである。これに我々が既に得ている知見である, リンパ球は減少により生じたスペースを埋めるように増殖する, という考えかたを統合することでリンパ球の数的恒常性について様々な側面から考えることが可能になった。</p>
----------------------------	---

- ※ 出張後 10 日以内に報告書を提出してください。HP に掲載することがあります。
- ※ 技術解説・プロトコルに焦点をあてたものを記載してください。
- ※ 可能であれば写真も添付してください。
- ※ 用紙が不足する場合は、適宜加えてください。