

学位授与番号：甲 939 号

氏 名：中野真範

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 25 年 4 月 24 日

学位論文名：

IFN- γ 産生性活性化型 NKT 細胞は樹状細胞を介したマウスの自己免疫性肝障害の発症に関与する

主論文名：

Activated natural killer T cells producing interferon-gamma elicit promoting activity to murine dendritic cell-based autoimmune hepatic inflammation.

(IFN- γ 産生性活性化型 NKT 細胞は樹状細胞を介したマウスの自己免疫性肝障害の発症に関与する)

学位審査委員長：矢永勝彦教授

学位審査委員：山田 尚教授、中川秀己教授

学位論文要旨

| | | |
|---|------|------------|
| 論文提出者名 | 中野真範 | 指導教授名 銭谷幹男 |
| <p>主論文題名</p> <p>Activated natural killer T cells producing interferon-gamma elicit promoting activity to murine dendritic cell-based autoimmune hepatic inflammation.</p> <p>(IFN-γ 産生性活性化型NKT細胞は樹状細胞を介したマウスの自己免疫性肝障害の発症に関与する)</p> <p>Clinical and experimental immunology. 2012 December;170(3):274-82.</p> <p>Natural killer (NK) T 細胞は自己免疫性疾患の進展において重要な役割を果たす。このため NKT 細胞は自己免疫性肝疾患における疾患発症に関して重要な役割を担っていると考えられる。我々はこれまでに、マウスの樹状細胞 (DCs) と正常肝細胞に表現型が近似する肝癌細胞 (Hepa1-6) の融合細胞 (DC/Hepa1-6) により免疫されたマウスでは、自己肝細胞障害性を有する細胞障害性 T リンパ球 (CTL) が誘導される事を報告し、更に IFN-γ を誘導する IL-12 を腹腔内投与することにより、自己免疫性肝障害をきたすモデルマウスを報告している。同モデルマウスを用い、自己免疫性肝疾患の発症における NKT 細胞の重要性を検討した。自己免疫性肝障害の発症早期では肝内の CD3 陽性 NK1.1 陽性 NKT 細胞数は著明に増加する一方、脾臓の NKT 細胞数は減少した。また、肝内 NKT 細胞の CXCR6 発現と肝組織中の CXCL16 発現も顕著に増強しており、NKT 細胞が炎症期に肝内へ遊走された事を示唆している。肝障害早期の肝内 NKT 細胞は CD69 強陽性で IFN-γ を産生するが、IL-4 は産生しなかった。自己免疫性肝障害の程度は NKT 細胞が欠乏した CD1d^{-/-}マウスでは有意に減弱していた。この事は NKT 細胞が自己免疫性肝障害の進展に重要な役割を果たしていることを示している。DC/Hepa1-6 で免疫したマウスに NKT 細胞を強力に活性化させる α-galactosylceramide (α-GalCer) を投与すると既存の自己免疫性肝障害モデルマウスと類似する肝障害を生じ、活性化した NKT 細胞は IFN-γ を産生し、肝内に浸潤する CD8 陽性 T 細胞は自己肝細胞に対する細胞障害能を有していた。IFN-γ 産生性の活性化型 NKT 細胞は樹状細胞が関与するマウスの自己免疫性肝障害を増強する。</p> | | |

論文審査の結果の要旨

中野 真範氏の大学院博士課程の学位請求論文は主論文 1 冊からなり、題名は、Activated natural killer T cells producing interferon-gamma elicit promoting activity to murine dendritic cell-based autoimmune hepatic inflammation. (IFN- γ 産生性活性化型 NKT 細胞は樹状細胞を介したマウスの自己免疫性肝障害の発症に関与する)と題するもので、Clinical and Experimental Immunology 誌に 2012 年に掲載されています。同誌の Impact Factor は 3.36 で、指導教授は消化器内科学の銭谷幹男教授です。ここでは主論文のみについてその要旨を説明いたします。

Natural killer (NK) T 細胞は自己免疫性疾患の進展に重要な役割を果たします。このため NKT 細胞は自己免疫性肝疾患における疾患発症に関して重要な役割を担っていると考えられます。中野氏らの研究グループはこれまでに、マウスの樹状細胞 (DCs) と正常肝細胞に表現型が近似する肝癌細胞 (Hepa1-6) の融合細胞 (DC/Hepa1-6) により免疫されたマウスでは、自己肝細胞障害性を有する細胞障害性 T リンパ球 (CTL) が誘導される事を報告し、更に IFN- γ を誘導する IL-12 を腹腔内投与により、自己免疫性肝障害をきたすモデルマウスを樹立し報告しています。中野氏の本研究では同マウスモデルを用い、自己免疫性肝疾患の発症における NKT 細胞の重要性を検討しました。

その結果、自己免疫性肝障害の発症早期では肝内の CD3 陽性 NK1.1 陽性 NKT 細胞数は著明に増加する一方、脾臓の NKT 細胞数は減少していました。また、肝内 NKT 細胞の CXCR6 発現と肝組織中の CXCL16 発現も顕著に増強しており、NKT 細胞が炎症期に肝内へ遊走された事が示唆されました。肝障害早期の肝内 NKT 細胞は CD69 強陽性で IFN- γ を産生しますが、IL-4 は産生しませんでした。自己免疫性肝障害の程度は、NKT 細胞が欠乏した CD1d^{-/-}マウスでは有意に減弱していました。この事から、NKT 細胞が自己免疫性肝障害の進展に重要な役割を果たしていることが判明しました。

次に DC/Hepa1-6 で免疫したマウスに NKT 細胞を強力に活性化させる α -galactosylceramide (α -GalCer) を投与すると、既存の自己免疫性肝障害モデルマウスと類似した肝障害が発生し、活性化した NKT 細胞は IFN- γ を産生し、肝内に浸潤する CD8 陽性 T 細胞は自己肝細胞に対する細胞障害性を有していました。自己免疫肝障害モデルマウスでは、肝内における免疫担当細胞である Kupffer 細胞、樹状細胞の CD1d 発現はいずれも有意に増加していました。この結果は、Kupffer 細胞や樹状細胞の CD1d 発現が増強することにより、肝内 NKT 細胞の活性化が惹起されやすい環境が誘導されている事を示唆しています。モデルマウスの肝内 NKT 細胞における FasL の発現も有意に上昇しており、モデルマウスの肝障害において NKT 細胞自体が少なからず直接的に肝細胞障害に関与することが示唆されました。以上の結果から、中野氏は IFN- γ 産生性の活性化型 NKT 細胞は樹状細胞が関与したマウスの自己免疫性肝障害を増強する、と結論付けました。

以上の趣旨の研究結果の主論文に対し、平成 25 年 4 月 17 日に銭谷幹男教授ご臨席の下、山田 尚教授、中川秀己教授と共に公開審査会を開催いたしました。審査では中野氏のプ

レゼンテーションの後、各審査委員より、NKT 細胞数の確認方法、脾臓内 NKT 細胞が肝内に移行するか否か、自己免疫性肝炎モデルの発症メカニズム、Hepa 1-6 細胞とマウスの MHC の関係、皮下接種した DC/Hepa 1-6 fusion 細胞が肝内の単核細胞を活性化するメカニズム、生体内で ceramide が NKT 細胞を活性化するか否か、肝障害マウスモデルが肝障害をきたすメカニズム、Th17 あるいは IL-17 の関与の有無、肝炎発症前後での経時的な検討、本検討の自己免疫性肝炎の臨床へのフィードバックなど、多くの質問がなされました。これらに対し中野氏は適切に回答いたしました。その後、山田、中川両教授と慎重審議の結果、本委員会としては学位請求論文として十分な価値があるものと認定いたしました。