

学位授与番号：甲 1097 号

氏 名：勝俣 陽貴

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 31 年 3 月 13 日

学位論文名：

Impact of Activated Invariant Natural Killer T Cells on the Expansion of Regulatory T Cell Precursors in Murine Thymocytes In Vitro.

（培養マウス胸腺細胞において活性化不変ナチュラルキラーT 細胞が前駆制御性 T 細胞を誘導する）

学位論文審査委員長：教授 矢永勝彦

学位論文審査委員：教授 金城雄樹 教授 矢野真吾

論文要旨

氏名	勝俣 陽貴	指導教授名	横尾 隆
----	-------	-------	------

主論文

Impact of Activated Invariant Natural Killer T Cells on the Expansion of Regulatory T Cell Precursors in Murine Thymocytes In Vitro.

(培養マウス胸腺細胞において活性化インバリアントナチュラルキラーT細胞が前駆制御性T細胞を誘導する)

Haruki Katsumata, Masako Ikemiyagi, Toshihito Hirai, Taichi Kanzawa, Rumi Ishii, Satoshi Miyairi, Hironori Fukuda, Kan Saiga, Masayoshi Okumi, Yasuyuki Ishii, Takashi Yokoo, Kazunari Tanabe

Immunology Letters 2019; 206: 41-48. doi: 10.1016/j.imlet.2018.11.013.

要旨

【背景・目的】

免疫寛容誘導は臓器移植患者の免疫抑制剤の内服を不要とし、拒絶反応や感染症、悪性新生物などの問題を解決する。マウス骨髄移植モデルにおいて不変ナチュラルキラーT細胞（以下 iNKT 細胞）の免疫調節能を活性化することで、低侵襲に骨髄細胞が生着することが報告されている (*Am J Transplant* 2014; 14: 554)。同モデルでは制御性T細胞（以下 Treg）の存在が必須であったが、その過程に胸腺組織が重要な役割を担っており、iNKT細胞活性化後の胸腺内における Treg のメカニズムの解明が必要であり、本研究の目的とした。

【方法】

iNKT細胞の免疫調節能の誘導が可能である Liposomal α -galactosylceramide（以下 Lipo- α -GalCer）の刺激の下でマウス胸腺細胞を培養し、その後増加する Treg を含めた細胞群の評価、上清中のサイトカインの測定を行った。前駆 Treg の Treg 分化能の評価では前駆 Treg のみをソーティングし、IL-2 で 24 時間刺激を行なった。

【結果】

Lipo- α -GalCer の刺激を受けた胸腺細胞内の Treg が培養 3 日目において無刺激の場合と比較して有意に増加した。前駆 Treg を含む細胞も増加しており、同細胞群を IL-2 で刺激すると Foxp3 を発現し成熟した Treg となった。Lipo- α -GalCer 刺激後も既存の Treg に変化はなかった。これらの反応には細胞間相互作用が重要であった。

【結論】

胸腺において iNKT細胞の活性化は未分化細胞から前駆 Treg への分化誘導を介し、結果として Treg の増殖に寄与した。またこの際細胞間相互作用は必須の要素であった。

学位論文審査結果の要旨

勝俣陽貴氏の大学院博士課程の学位請求論文は主論文 1 編 1 冊よりなり、主論文の題名は **Impact of Activated Invariant Natural Killer T Cells on the Expansion of Regulatory T Cell Precursors in Murine Thymocytes In Vitro.**

(培養マウス胸腺細胞において活性化インバリアントナチュラルキラーT細胞が前駆制御性T細胞を誘導する)で、*Immunology Letters* 誌に2019年に掲載されています。同雑誌の2018年のImpact Factorは2.436です。指導教授は腎臓高血圧内科の横尾 隆教授です。

平成31年2月21日に横尾教授ご臨席の下、金城雄樹教授、矢野真吾教授と共に公開審査会を開催いたしました。審査では勝俣氏の主論文に関するプレゼンテーションの後、各審査委員と活発な質疑応答がなされました。代表的な質問は以下の通りです。

- ・インバリアントナチュラルキラーT細胞のCD4分画は評価したか？
- ・CD4+CD25+Foxp3-細胞に関して、増えた部分のCD1d tetramerの染色を行ったか、またLipo- α Galcer単剤とLipo- α Galcer+抗CD40L抗体で統計学的有意差はあったか？
- ・サイトカイン中和実験における各抗体の濃度設定
- ・培養上清中のIL-2濃度の測定は脾臓細胞での培養でも行なっていたが、IL-2、4、10の中和実験は提示されている胸腺細胞以外に、脾臓細胞でも行なったのか？
- ・ナチュラルキラーT細胞欠損マウス由来の胸腺細胞と野生型マウス由来の胸腺細胞ではLipo- α Galcer刺激による制御性T細胞の増殖に差異はあったのか？
- ・前駆制御性T細胞から制御性T細胞への分化に関して、どのような細胞間相互作用が重要なのか？
- ・Lipo- α Galcerによる制御性T細胞の増殖などの現象はインバリアントナチュラルキラーT細胞が関与しているのか？

これらに対し、勝俣氏は自身の研究成果、未発表データならびに過去の文献を元に適切に回答いたしました。なお、当初の邦文タイトル「不変」ナチュラルキラーT細胞につき、ニュアンスをうまく伝えられない恐れがあるため、原文のまま「インバリアント」ナチュラルキラーT細胞と表現した方が良いとの指摘、ならびに学位審査用論文中の文言の若干の変更の必要性が指摘されました。勝俣氏はそれに対し、論文要旨と学位審査用論文の該当部分の修正を迅速かつ的確に行いました。

金城・矢野両審査委員と慎重審議の上、本委員会として学位論文として十分な価値があるものと認定いたしました。