

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	濱 勇
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 827 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Different distribution of mucosal-associated invariant T cells within the human cecum and colon (盲腸と結腸の粘膜における MAIT 細胞に関する検討)
論文審査委員	主査 教授 片貝 智哉 副査 教授 寺井 崇二 副査 准教授 横山 純二

博士論文の要旨

背景と目的 : Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞は、MHC-related 1 (MR 1) に拘束された T 細胞受容体 (TCR) に invariant  $\alpha$  鎖を発現する T 細胞である。MAIT 細胞は末梢血中や腸管、肺の粘膜組織内に多く存在し、細菌や真菌に対する感染病態に関与することが報告されている。腸管免疫機構で重要な役割があると考えられているが大腸内での分布やその役割は明らかにされていない。本研究は、盲腸と結腸における MAIT 細胞の分布と特徴について明らかにすることを目的とした。

方法 : 2013 年 4 月から 2015 年 3 月に当院で手術を施行された盲腸癌患者 4 例、結腸癌患者 8 例を対象とした。盲腸癌患者は男性 3 例、女性 1 例、年齢の中央値は 57 (51-65) 歳、結腸癌患者は男性 7 例、女性 1 例、年齢の中央値は 70 (55-75) 歳であり、末梢血中のリンパ球、手術施行時の切除標本の粘膜上皮のリンパ球 (intraepithelial lymphocytes, IELs) 及び粘膜固有層のリンパ球 (lamina propria lymphocytes, LPLs) を分離し、MAIT 細胞を FACS により解析した。フローサイトメトリー解析には以下の抗体を用いた。Anti-TCR- $\gamma$   $\delta$  -PE, anti-CD161-FITC, anti-CD3-PerCP, anti-CD8-PerCP, anti-CD69-PE, anti-NKG2D-PE,-PE, anti-NKG2A-PerCP, anti-IL-7R-PE, anti-CD195-PE, anti-CD196-PerCP, anti-TCR-V  $\alpha$  7.2-APC。また、免疫組織化学染色には anti-TCR-V  $\alpha$  7.2 を使用した。

結果 : MAIT 細胞は CD3+TCR- $\gamma$   $\delta$  -CD161hiTCR-V  $\alpha$  7.2+リンパ球と同定できる。末梢血中、盲腸及び結腸内の IELs 及び LPLs 中における MAIT 細胞の出現頻度を比較した。結腸と比較して、盲腸の IELs 内で MAIT 細胞は有意に増加していた。LPLs 内の MAIT 細胞の発現頻度は盲腸と結腸で有意差は認めなかった。免疫組織化学染色による盲腸及び結腸内の分布の検討では TCR-V  $\alpha$  7.2+細胞は主に盲腸内の粘膜固有層で確認されたが、結腸内の腸上皮にも同細胞が確認された。MAIT 細胞の表現型についての解析では、MAIT 細胞における CD8、CD69、及び natural killer group2, member D (NKG2D) 陽性細胞の発現頻度に結腸と盲腸とで有意差はなかったが、末梢血と比較すると盲腸及び結腸での MAIT 細胞内の CD69 発現は有意に増加していた。MAIT 細胞中の natural killer group2, member A (NKG2A) 陽性細胞が盲腸で有意に増加していた。C-C chemokine receptor type 5 (CCR5) と CCR6 発現についても解析したが、大腸と末梢血で有意差は認めなかった。MAIT における IL-7 receptor (IL-7R) の発現は末梢血に比べ、IELs 内で有意に低下していた。

考察 : 本研究では盲腸及び結腸における腸上皮と粘膜固有層での MAIT 細胞の分布を検討した。その結果、MAIT 細胞は結腸と比較して、盲腸の IELs 内で有意に増加していた。申請者らが調べた限

りでは本研究はヒト盲腸及び結腸内で MAIT 細胞の分布が異なっていたことを示した初めての報告である。MAIT 細胞の CD69 発現は末梢血と比べ、盲腸と結腸において有意に増加していた。また、MAIT 細胞内の NKG2A 陽性細胞の発現頻度が盲腸で有意に増加した。NKG2A は抑制性 NK 細胞受容体の一つであるが、T 細胞や MAIT 細胞にも発現し、炎症部位で速やかに MAIT 細胞が集簇する。これらのことから MAIT 細胞は結腸や血中よりも盲腸の腸上皮内で活性化され、集簇している可能性が示唆された。しかし、本研究では盲腸の切除検体が少数であること、癌切除例から得られた検体を解析しているため、癌による影響などの点でバイアスがかかっている可能性はある。そのため、ヒト大腸内の MAIT 細胞の分布と機能を明らかにするためにはさらなる研究が必要と考えられた。

#### 審査結果の要旨

Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞は、MHC-related 1 (MR 1) に拘束された T 細胞受容体 (TCR) に invariant  $\alpha$  鎖を発現する T 細胞で、末梢血中や腸管、肺の粘膜組織内に多く存在し、細菌や真菌に対する感染病態への関与が報告されている。腸管免疫機構に重要な役割があると考えられているが、これまで大腸内における分布は明らかにされていなかった。

本研究で申請者らは、新潟大学医歯学総合病院において手術を施行された盲腸癌患者 4 例、結腸癌患者 8 例を対象とし、盲腸と結腸における MAIT 細胞の分布と特徴についての解析を行った。

CD3+TCR- $\gamma\delta$ -CD161hiTCR-V $\alpha$ 7.2+リンパ球を MAIT 細胞とし、末梢血中、盲腸及び結腸内の IELs 及び LPLs 中における出現頻度を比較すると、盲腸の IELs 内で MAIT 細胞が有意に増加していた。一方、LPLs 内の MAIT 細胞の頻度は盲腸と結腸で有意差は認めなかった。免疫組織化学染色により、TCR-V $\alpha$ 7.2+細胞は主に盲腸内の粘膜固有層で確認されたが、結腸内では腸上皮にも同細胞が確認された。MAIT 細胞における CD8、CD69、及び natural killer group2, member D (NKG2D) 陽性細胞の発現頻度に結腸と盲腸とで有意差はなかったが、末梢血と比較すると盲腸及び結腸での CD69 発現は有意に増加していた。また、natural killer group2, member A (NKG2A) 陽性細胞が盲腸で有意に増加していた。C-C chemokine receptor type 5 (CCR5) と CCR6 発現については、大腸と末梢血で有意差は認めなかった。IL-7 receptor (IL-7R) は末梢血に比べ、IELs で発現が有意に低下していた。

本研究は、ヒト盲腸及び結腸内で MAIT 細胞の分布が異なっていることを示した初めての報告である。また、MAIT 細胞は結腸や血中よりも盲腸の腸上皮内で活性化され、集簇している可能性が示唆された。これらの成果は、博士論文として十分な価値を認めるものである。