

	ハク	セツ	ホウ
氏名	白	雪	峰
学位	博	士	(医学)
学位記番号	新大院博(医)第39号		
学位授与の日付	平成17年 3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
博士論文名	加齢に伴うマウス肝内 NK 細胞の機能変化		
論文審査委員	主査	教授	畠山 勝 義
	副査	教授	安 保 徹
	副査	教授	青 柳 豊

博士論文の要旨

【目的】 Natural killer (NK)細胞は加齢に伴いその細胞傷害活性が変化することが明らかになっている。末梢血と脾臓内の NK 細胞は若齢では弱い細胞傷害活性を示しても、加齢に伴いだんだん強くなり、成熟期以降安定状態になる。肝臓は胎生期の造血器官として NK 細胞の成熟に深い関係がある。成熟期の肝内 NK 細胞は脾と末梢血内 NK 細胞と同じ程度の細胞傷害活性を有するという報告があるものの、若齢肝内 NK 細胞に関して不明点が多い。本研究では、肝臓における NK 細胞の加齢による変化を phenotype と機能の点を中心に解析した。

【方法】 各週齢の C57BL/6 マウス及び 2, 8 週齢 perforin(-/-) マウスを使用した。肝と脾内の単核球を採取した。細胞傷害活性を測定するために、YAC-1、EL-4 及び B6 胸腺細胞を標的細胞として 4 時間 ⁵¹Cr 遊離試験を行った。二重免疫蛍光染色によって NK 細胞 (CD3⁻NK1.1⁺, CD3-IL-Rβ⁺) を同定した。NK 細胞における Mac-1, CD69, Fas-L, Ly49C/I, CD94 及び NKG2 を解析した。また、2 週齢と 8 週齢 B6 マウス肝内単核球の perforin 及び Fas-L を RT-PCR 法により測定した。

【結果】 肝内 NK 細胞はすでに 1 週齢より強い細胞傷害活性を有しており、2 週齢時に最大となり、8 週齢まで徐々に低下し、8 週齢以降 48 週齢までは安定状態であった。その現象は脾臓では認められなかった。PKO マウス肝内 NK 細胞では週齢に関係なく NK 細胞細胞傷害活性は顕著に低下していた。8 週齢肝臓には CD69^{low}Mac-1^{high} 細胞細胞が多いのに対して、2 週齢肝内 NK 細胞はほぼ CD69^{high}Mac-1^{low} であった。また、NK 細胞活性化リセプターの発現について、2 週齢の肝内 NK 細胞では Ly49C/I^{low}, CD94^{high}, NKG2^{high} であったが、8 週齢の肝内 NK 細胞では Ly49C/I^{high}, CD94^{low}, NKG2^{low} であった。細胞傷害活性関連分子においては、2 週齢マウスの肝単核球では 8 週齢マウスの肝単核球に比し perforin の発現は増大していた。

【考察】 今回の研究では、肝臓の NK 細胞の加齢による性質と機能の変化について解析し

た。成熟マウス(8週齢)より若齢マウス(2週齢)肝内NK細胞は強い細胞傷害活性を有することが明らかになった。その現象は脾内NK細胞では認められなかった。PKOマウスの肝内NK細胞の細胞傷害活性は抑制されていること、また、2週齢マウスのperforin mRNAが多いことよりからも肝内NK細胞はその細胞傷害活性はperforinを使用していると考えられた。また、2週齢マウスの肝内NK細胞はCD69, CD94, NKG2の発現が高かったことから、2週齢マウスの肝内NK細胞は無刺激でも活性化された状態であると考えられた。肝臓は胎生期造血器官としてNK前駆細胞も有し、肝臓内環境及び肝細胞はNK細胞の発育成熟において重要な役割をもっていると報告されている。このような事から、今回の検討で認められた肝内NK細胞は肝臓という特殊な環境で成熟し、通常のNK細胞と異なった性質を有していると考えられた。

審査結果の要旨

申請者は、肝臓におけるNK細胞の加齢による細胞障害活性の変化を、phenotypeと機能を中心に、各週齢のC57BL/6マウス及び2, 8週齢のperforin(-/-)マウスを用いて解析した。その結果、肝内NK細胞は1週齢より既に強い細胞障害活性を有しており、2週齢時に最大となり、その後8週齢まで徐々に低下し、8週齢以降48週齢まで安定状態であった。この現象は脾内NK細胞では認められなかった。一方、perforin(-/-)マウスの肝内NK細胞の細胞障害活性は週齢に関係なく低下していた。また、2週齢マウスの肝内NK細胞はCD69, CD94, NKG2の発現が高かったことより、無刺激でも細胞障害が活性化された状態であると考えられた。

以上、マウスを用いた実験により、肝内NK細胞は脾内NK細胞とは明らかに異なり、若齢マウスで既に強い細胞障害活性があることやその細胞障害活性はperforinが強く関与していることを証明し、無刺激でも細胞障害が活性化された状態であることを明らかにした点に博士論文の価値があると思われる。