

第 8 号様式

論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	DANG THUC ANH VU
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・ 2 項該当		
論 文 題 目			
Fasting enhances TRAIL-mediated liver natural killer cell activity via HSP70 upregulation (絶食刺激により HSP70 発現が増強することで、TRAIL を介した NK 細胞の活性化が生じる)			
論文審査担当者			
主 査 教 授 菅 野 雅 元 印			
審査委員 教 授 一 戸 辰 夫			
審査委員 准教授 鎌 田 英 明			
〔論文審査の要旨〕			
絶食は免疫系に様々な影響を及ぼすことが広く知られている。自然免疫を担う代表的な NK 細胞においても実臨床で絶食により腫瘍細胞に対して活性化が生じるという報告が見られるが、そのメカニズムについては明らかでない。本研究では絶食刺激による NK 活性の増強メカニズムについてマウスを用いて解析を行った。C57BL/6J マウスを 1 日および 3 日間絶食下におくことで NK 細胞上の tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) と CD69 の発現割合は 3 日間絶食下において有意に増加を認めた。CD122 や CD25 といった他の NK 細胞マーカーの発現には変化を認めなかった。絶食による NK 細胞数への影響について検討したところ肝 NK 細胞数に変化を認めておらず、絶食環境下においては肝 TRAIL⁺細胞が減少し、一方で TRAIL⁺細胞が増加していた。その他の NK 細胞マーカーについても検討したところ、NKG2D や FasL 発現には変化を認めなかった。さらに CD49a と DX5 を用いて NK 細胞を分類し検討すると、絶食下では TRAIL および CD69 を高発現する CD49a⁺DX5⁺細胞が増加していた。このことから 3 日間絶食下で肝レジデント CD49a⁺DX5⁺細胞に TRAIL、CD69 が高発現することが明らかとなった。 次に、絶食刺激による NK 細胞上の TRAIL 増強のメカニズムについて、特に TRAIL⁺細胞から TRAIL⁺細胞への転換が生じているのか否かについて検討した。NK 細胞を有さない			

Rag-2^{-/-} γ chain^{-/-} B6 マウスに TRAIL⁻ NK 細胞を養子移入すると、摂食群と比較して 3 日間絶食群において有意に肝内 NK 細胞で TRAIL⁺ NK 細胞への転換が認められた。脾臓および末梢血 NK 細胞においては NK 細胞のホーミングは認められなかった。次に肝臓内の NK 細胞障害活性について ⁵¹Cr release assay を用いて検討すると、3 日間絶食群において有意な増強を認めた。さらにそのメカニズムについて perforin inhibitor、抗 Fas 抗体、抗 TRAIL 抗体を用いて解析を行ったところ、この NK 活性の上昇は perforin および TRAIL 経路の増強によるものであることが明らかとなった。

ストレス刺激に対する代表的な応答因子である Heat shock proteins (HSPs) についてこれまで HSP70 が NK 細胞を活性化するという報告があり、絶食刺激による TRAIL を介した NK 細胞の抗腫瘍効果に HSPs が関与しているとの仮説を立てた。3 日間絶食により NK 細胞上に有意に HSP70 の発現増加を Western blot にて認めたが、HSP27 発現には変化を認めなかった。次に NK 細胞活性における HSP70 の役割について解析することとし、recombinant HSP70 を肝リンパ球に投与したところ、濃度依存性に肝 NK 細胞上に TRAIL と CD69 発現が有意に認められた (n=6, p<0.05)。HSP70 と TRAIL 依存性 NK 活性の関連性についてさらに明らかとするべく in vivo で HSP70 neutralization assay を行った。anti-HSP70 抗体 (100 μg/mouse) を B6 マウスに腹腔内投与し 3 日間絶食とした後に肝 NK 細胞のフェノタイプ解析を行った。TRAIL 発現割合はコントロール (mouse IgG) 群と比較して anti-HSP 抗体投与群において有意に低下を認めた (n=6, p<0.05)。CD69 発現割合も同様に anti-HSP70 抗体投与群において低下を認めたが有意差は認めなかった。なお、TRAIL および CD69 陽性細胞における MFI 値は両群でそれぞれ差を認めなかった。本研究では NK 細胞は絶食刺激により TRAIL 依存性に抗腫瘍活性の増強を認め、HSP70 の増強がその TRAIL 活性化に関与していることが明らかとなった。絶食が肝 TRAIL 依存性 NK 細胞の活性化を通じて自然免疫系にプラスの効果を示すメカニズムの一端が示され、このことは手術後や悪液質などの同様の環境下における腫瘍やウイルス感染に対する新たな治療法の開発のための基礎的な一助となるものと考えられる。

以上の結果から、本論文は絶食下における自然免疫機構とくに NK 細胞が肝臓内で活性化されることを証明しそのメカニズムについて解明し術後や悪液質などの飢餓状態での抗腫瘍あるいは感染症対策において新規治療が期待される点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。