

論文内容要旨

Hepatectomy leads to loss of TRAIL-expressing
liver NK cells via downregulation of the
CXCL9-CXCR3 axis in mice

(肝切除後は CXCL9-CXCR3 経路を介して肝臓内の
TRAIL 陽性 NK 細胞が消失する)

PloS One, 12(10): e0186997, 2017.

主指導教員：大段 秀樹教授
(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：安達 伸生教授
(医歯薬保健学研究科 整形外科学)

副指導教員：田中 友加准教授
(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

矢野 琢也

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

論文審査の要旨

【背景】肝臓癌に対する肝切除後の再発部位として肝内再発は最多であり重要な課題である。我々は、マウス肝臓内リンパ球の解析の結果、肝臓内 natural killer (NK)細胞が細胞傷害分子である TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)を介して抗腫瘍効果を発揮しており、肝切除後には TRAIL 陽性 NK 細胞が消失し、肝臓癌再発の一因となることを報告してきた。しかし、TRAIL 陽性 NK 細胞が肝切除後に肝臓内から消失するメカニズムに関しては不明である。そこで、TRAIL 陽性 NK 細胞の解析と肝切除後に TRAIL 陽性 NK 細胞が肝臓内から消失するメカニズムの解析を行った。

【方法】マウス肝臓内 NK 細胞のケモカインレセプターの発現をフローサイトメトリーで測定し、肝切除前後の肝臓内ケモカイン・サイトカインの RNA 発現と蛋白量測定を行った。CXCL9 に対する TRAIL 陽性 NK 細胞の遊走能を migration assay で評価した。さらに CXCL9 産生細胞の特定のため、肝臓内免疫細胞を培養しフローサイトメトリーで解析した。肝切除後の CXCL9 を維持するために、肝切除後に polyinosinic-polycytidylic acid (poly I:C)を投与し TRAIL 陽性 NK 細胞が肝臓内へ維持されるかを wild-type マウスと CXCR3 KO マウスを用いて解析した。

【結果】TRAIL 陽性 NK 細胞がケモカインレセプター CXCR3 を $98.8 \pm 0.1\%$ 発現し、TRAIL 陰性 NK 細胞の $20.4 \pm 2.3\%$ と比較し、有意に CXCR3 を発現していることを見出した。70%肝切除マウスの肝切除前後の肝臓組織で、real time PCR を用いてケモカイン発現の網羅的解析を行ったところ、CXCR3 に対する ligand である CXCL9 と interferon gamma (IFN- γ)の発現が肝切除後に有意に低下していた。そして肝切除後の CXCL9 の推移は TRAIL 陽性 NK 細胞消失の推移と同様に術後 3 日目まで低下し、術後 7 日目に回復していた。さらに、肝臓内 NK 細胞と CXCL9 の共培養による migration assay により、CXCL9 の添加によって遊走能の促進が認められ、CXCL9 antagonist によって抑制された。肝臓内免疫細胞を IFN- γ 存在下で培養したところ、IFN- γ 濃度依存性に肝臓内マクロファージにおいて CXCL9 産生の増加がみられた。肝切除後には肝臓内マクロファージは増加するが、その主体は CXCL9 産生能の低い F4/80 low のマクロファージであった。そして wild-type マウスと CXCR3 ノックアウトマウスに 70%肝切除を行い、day1 に poly I:C を投与すると wild-type マウスと CXCR3 ノックアウトマウスともに肝切除後においても肝臓内の CXCL9 は保たれたが、wild-type マウスでのみ TRAIL 陽性 NK 細胞が肝臓内に維持され、CXCR3 ノックアウトマウスでは TRAIL 陽性 NK 細胞が肝臓内から消失した。

【考察】肝切除によりケモカイン CXCL9 の発現が肝臓内で低下し、その結果として、CXCR3 を持つ TRAIL 陽性 NK 細胞が肝臓内から消失すると考えられた。CXCL9 は IFN- γ 存在下に肝臓内マクロファージのうち F4/80 high のマクロファージが主に産生をしており、肝切除後に肝臓内 IFN- γ が低下することでマクロファージからの CXCL9 産生が低下すると考えられた。肝切除後の CXCL9 の低下を防ぐことで、TRAIL 陽性 NK 細胞を肝臓内に維持することができ、肝切除後の腫瘍再発予防の新たな治療戦略になると考える。