

## 論文内容要旨

The aryl hydrocarbon receptor maintains antitumor activity of liver resident natural killer cells after partial hepatectomy in C57BL/6J mice  
(芳香族炭化水素受容体は C57BL/6J マウスにおける肝部分切除後も肝内在性ナチュラルキラー細胞の抗腫瘍活性を維持する)

Cancer Medicine, 12(19): 19821–19837, 2023.

主指導教員：大段 秀樹 教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：田中 友加 准教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：安達 伸生 教授

(医系科学研究科 整形外科学)

佐藤 幸毅

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】肝内在性 NK 細胞 (lr-NK) は従来の NK 細胞とは異なり、immature な NK 細胞集団であり、TNF 関連アポトーシス誘導 ligand (TRAIL) 依存性に肝細胞癌に対する抗腫瘍活性を有する。肝部分切除 (PH) によって lr-NK の TRAIL 発現が有意に抑制され、抗腫瘍効果が低下する機序は未だ不明であり、臨床上克服すべき課題である。本研究では、lr-NK の TRAIL 活性を維持する因子として芳香族炭化水素受容体 (AhR) に注目した。AhR は外因性および内因性のリガンドによって調節される転写因子として知られており、NK 細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしている。PH 後の lr-NK における TRAIL 活性減弱メカニズムと AhR シグナル伝達の関わりを評価した。

【方法】C57BL/6J (B6) (H-2b)マウスの 70%肝切除モデルで lr-NK の maturation を解析した。AhR agonist である 6-formylindolo[3,2-b] carbazole (FICZ) を用いて、lr-NK の maturation および AhR シグナル伝達を解析した。

### 【結果】

(1) PH によって lr-NK の細胞分化は変化する。

PH 後に lr-NK の maturation を解析したところ、PH 後に TRAIL 高発現の immature な CD27 SP NK 細胞は有意に減少した一方で、TRAIL 低発現の mature な CD11b SP NK 細胞は有意に増加した ( $p < 0.05$ )。PH によって lr-NK の phenotype が変化し、TRAIL 発現が低下した。

(2) AhR は TRAIL<sup>+</sup> NK 細胞の分化に関わる。

TRAIL を発現する NK 細胞の maturation に影響を与えるメカニズムを TRAIL<sup>+</sup> NK 細胞および TRAIL<sup>-</sup> NK 細胞を用いた microarray 解析で評価した。AhR は高度に TRAIL<sup>+</sup> NK 細胞で up regulate (fold change = 10.1) されていた。次に、Gene Ontology (GO)解析を施行し TRAIL 発現に強く関与する遺伝子に存在する annotation を解析した。71 の upregulated genes (fold change >10)における GO term ( $p < 0.05$ )に対して GO 解析し、66 の GO annotation を抽出した。PH 後に lr-NK の分化が変化することから、GO0030098 (lymphocyte differentiation) に注目した。GO0030098 に含まれる 46 genes のうち NK maturation に関連することが報告されている AhR に注目した。

(3) AhR アゴニストは lr-NK の成熟を阻害し TRAIL 発現および細胞障害活性を亢進させる。

FICZ を投与することで、immature な CD27 SP NK 細胞が有意に増加した一方で、mature な CD11b SP NK 細胞は有意に減少した。FICZ によって lr-NK の phenotype が変化し、有意に TRAIL 発現および細胞障害活性が増加した ( $p < 0.05$ )。

(4) PH 前の FICZ 投与によって TRAIL 発現低下および腫瘍発育は減弱される。

PH 前に FICZ を投与すると、immature な CD27 SP NK 細胞の減少を有意に抑制し、mature な CD11b SP NK 細胞の増加を有意に抑制した ( $p < 0.05$ )。それに伴って、lr-NK における TRAIL 活性の低下と細胞障害活性低下が減弱された。Hepa 1-6 細胞を用いた PH 後のマウス肝転移モデルにおいて、FICZ 投与は有意に腫瘍発育を抑制した ( $p < 0.05$ )。

(5) AhR は成熟関連転写因子を介して TRAIL 発現を制御する。

microarray 解析結果から AhR から TRAIL gene への pathway を解析した。Pathway 上の

maturation genes (T-bet, Eomes, FoxO1)を qRT-PCR で測定したところ、FICZ 投与された lr-NK では有意な発現変動を認めた ( $p < 0.05$ )。FICZ-AhR シグナル伝達が NK 細胞の成熟関連転写因子を介して TRAIL gene の発現を制御する可能性が示唆された。

【考察】 FICZ を用いた AhR シグナル伝達により、PH 後も lr-NK の TRAIL 活性は維持された。AhR を介した成熟関連転写因子の調節によって、lr-NK における TRAIL 発現が影響されることから、AhR が lr-NK の分化を制御し、細胞活性に関与している可能性が示唆された。AhR アゴニストを用いた周術期細胞療法は、lr-NK 活性を亢進させ、肝切除後の肝細胞癌の再発を減少させる可能性があると考えられた。