

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	佐藤 幸毅
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主 査 教授	保田 朋波流	印	
審査委員 教授	岡 志郎		
審査委員 准教授	柘植 雅貴		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>肝内在性 NK 細胞 (lr-NK) は従来の NK 細胞とは異なり, 未成熟な NK 細胞集団であり, TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (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, 臨床克服すべき課題である。これまでの研究から, lr-NK における分化は CD11b と CD27 の発現パターンから, 機能的に異なる分化段階の NK 細胞に分画することが可能である。CD11b⁺CD27⁺ NK (CD27 SP NK 細胞)は TRAIL 高発現の未成熟な NK 細胞であり, CD11b⁺CD27⁻ NK (CD11b SP NK 細胞)は TRAIL 低発現の成熟な NK 細胞である。本研究は, まず PH 後の lr-NK における TRAIL 活性減弱メカニズムに lr-NK の分化の変化が関与すると仮説を立てた。C57BL/6J (B6) (H-2b)マウスの 70%肝切除モデルを用いて, lr-NK の分化を解析したところ, PH 後に TRAIL 高発現の未成熟な CD27 SP NK 細胞は有意に減少した一方で, TRAIL 低発現の成熟な CD11b SP NK 細胞は有意に増加した。PH による lr-NK のフェノタイプの変化が, TRAIL 発現の減弱と関わることを確認された。次に TRAIL 発現に関与する遺伝子を評価するために, TRAIL⁺ NK 細胞および TRAIL⁻ NK 細胞を用いた microarray 解析を施行した。その結果から, 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。Fold change が 10 以上の 71 の upregulated genes における GO term を解析し, 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, GO 0030098 (lymphocyte differentiation) に注目した。GO 0030098 に含まれる gene のうち, これまでに NK 細胞分化に関連することが報告されており, かつ最も upregulated された 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。Lr-NK における AhR の関わりを, AhR アゴニストである 6-formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) を用いて, lr-NK の分化および AhR シグナル伝達を解析した。FICZ を投与することで, 未成熟な CD27 SP NK 細胞が有意に増加した一方で, 成熟な CD11b SP NK 細胞は有意に減少した。FICZ によって lr-NK のフェノタイプが変化し, TRAIL 発現および Hepa1-6 細胞に対する細胞障害活性が増加することが確認された。次に PH 前に FICZ を投与することで, PH による lr-NK のフェノタイプおよび TRAIL 発現の変化を評価した。PH 前に FICZ を投与すると, 未成熟な CD27 SP NK 細胞の減少が有意に抑制され, 成熟な CD11b SP NK 細胞の増加が有意に抑制された。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ことが確認された。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。Lr-NK における FICZ-AhR シグナル伝達を評価するために, microarray 解析結果から AhR から TRAIL gene への pathway を解析した。Pathway 上の成熟関連転写因子 (Tbx21, 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。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。</p> <p>以上の結果から, FICZ を用いた AhR シグナル伝達により, PH 後も lr-NK の TRAIL 活</p>			

性が維持されたことが確認された。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ことを示している。

よって審査委員会委員全員は、本論文が佐藤幸毅に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。