

氏名(本籍)	瀬川誠司(広島県)			
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第6228号			
学位授与年月日	平成24年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Involvement of NK1.1-positive $\gamma\delta$T cells in interleukin-18 plus interleukin-2-induced interstitial lung disease (IL-2+IL-18 誘導性間質性肺炎モデルマウスにおける NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞の解析)			
主査	筑波大学教授	博士(医学)	檜澤伸之	
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	澁谷和子	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	臼井丈一	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	森島祐子	

論文の内容の要旨

(目的)

IL-2+IL-18 誘導性間質性肺炎モデルマウスにおける NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞の役割を明らかにする。

(対象と方法)

① C57BL/6 マウスへ IL-2+IL-18 投与により間質性肺炎誘導後、肺組織中リンパ球をフローサイトメトリ (FCM) を用いて解析した。② C57BL/6 マウスへ IL-2+IL-18 投与後、肺以外の各臓器(脾臓・鼠径リンパ節・肝臓・腸管)における NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞割合を解析した。③ C57BL/6 マウスへ IL-2+IL-18 投与後、各臓器(肺・肝臓・脾臓)での $V\gamma$ - $V\delta$ TCR 受容体レパトワを RT-PCR で解析した。④ C57BL/6 マウスより脾細胞および脾細胞由来 NK1.1 陰性・NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞を単離後、in vitro で PMA+ionomycin または、IL-2+IL-18 刺激を行い、サイトカイン産生能を解析した。⑤ IFN- γ KO マウスおよび C57BL/6 (WT) マウスに IL-2+IL-18 後、組織学的・細胞学的な評価を行った。⑥ NK1.1 陰性・NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞上の IL-2 受容体および IL-18 受容体の発現、in vitro における IL-2+IL-18 に対する細胞増殖の割合を解析した。⑦ TCR δ KO ($\gamma\delta$ T 細胞欠損) マウスおよび C57BL/6 (WT) マウスに IL-2+IL-18 を投与後、組織学的・細胞学的な評価を行った。⑧ TCR δ KO マウスへ C57BL/6 (WT) マウス由来 NK1.1 陰性・NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞を移入後、IL-2+IL-18 を行い、肺組織中の NK 細胞の割合、IFN- γ 産生を解析した。

(結果)

① IL-2+IL-18 投与後の肺組織では、NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞が有意に増加していた。② IL-2+IL-18 投与後の脾臓・鼠径リンパ節でも増加傾向が見られた。③ 肺・肝臓・脾臓に存在する NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞は、 $V\gamma$ 1,2,3 および $V\delta$ 1,2,3,4,5,6,7,8 を有し、polyclonal な TCR を有する細胞集団であることが分かった。④ PMA/ionomycin 刺激に対して、NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞は IFN- γ 、TNF- α 、IL-4 を高産生した。IL-2+IL-18 刺激に対しては、NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞は IFN- γ を高産生した。⑤ IFN- γ KO マウスでは WT マウスに比べて、病態軽減が確認された。さらに、IFN- γ KO マウスでは、炎症局所で NK 細胞の割合も減少していた。⑥ NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T

細胞では、IL-2 受容体・IL-18 受容体発現が高く、IL-2+IL-18 に対して高い増殖能を示した。⑦ TCR δ KO マウスでは、病態が軽減した。さらに、TCR δ KO マウスでは、肺組織中の NK 細胞の割合、IFN- γ 産生の減少が確認された。⑧ NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞移入群では、NK1.1 陰性 $\gamma\delta$ T 細胞移入群に比べて、肺組織中の NK 細胞の割合、IFN- γ 産生が増加した。

(考察)

IL-2+IL-18 誘導性間質性肺炎モデルマウスにおいて NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞が炎症局所で増加することを見出した。NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞は、IL-2+IL-18 刺激に対する増殖能が高く、IFN- γ 産生能を示すことが明らかとなった。さらに、IFN- γ KO マウス、TCR δ KO マウスを用いた検討より、NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞は IL-2+IL-18 誘導性間質性肺炎モデルにおいて、病態増悪作用を持つことが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は間質性肺炎モデルマウスを用いた解析により、NK 細胞マーカである NK1.1 を発現したユニークな $\gamma\delta$ T 細胞が間質性肺炎病態の増悪に寄与することを示した。ヒトにおいても同等の細胞集団の存在が確認されており、今後、特に自己免疫疾患に併発した間質性肺炎の発症・増悪メカニズムの解明に向けた研究の基礎となるものであると考えられた。

平成 23 年 12 月 28 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。