



Title	In vivo eradication of MLL/ENL leukemia cells by NK cells in the absence of adaptive immunity
Author(s)	中田, 潤
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34254
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	中 田 潤
論文題名 Title	<i>In vivo</i> eradication of MLL/ENL leukemia cells by NK cells in the absence of adaptive immunity (<i>in vivo</i> における獲得免疫非存在下でのNK細胞によるMLL/ENL白血病細胞の破壊)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>近年、癌の発症過程において、「免疫細胞がごく少量の発生した異常細胞を駆逐し (Elimination)、駆逐されなかった異常細胞は免疫系との平衡状態 (Equilibrium) を経て、免疫抵抗性の異常細胞が選択的に増殖し発症する (Escape)」というImmunoediting仮説が提唱されている。これは免疫細胞のある環境とない環境での腫瘍の発生頻度やその形質を比較して示され、T細胞において多く報告されている。しかし、獲得免疫系が作動する前に腫瘍を認識・排除すると考えられるNK細胞の関与に関しては十分な解析がなされていない。そこで、我々はB,T,NKTのないRag2^{-/-}マウスとB,T,NK,NKTのないRag2^{-/-}γc^{-/-}マウスでのMLL/ENL白血病の発症頻度や腫瘍の形質の比較することでNK細胞のimmunoeditingへの関与を評価した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>Balb/cマウスの骨髄内c-kit陽性細胞にMSCV-MLL/ENL-IRES-GFPウイルスを感染させ、メチカルト培地でserial replatingを繰り返すことにより、サイトカイン(SCF,IL3,IL6)含有液体培地にて無限に増殖可能なsingle cell由来のMLL/ENL白血病細胞を作成した。この白血病細胞を野生型、Rag2^{-/-}、Rag2^{-/-}γc^{-/-}の3系統のマウスに移植したところ、野生型ではすべてで拒絶されたのに対し、Rag2^{-/-}γc^{-/-}では全例で4週間内に末血に白血病細胞を検出した。Rag2^{-/-}では5例中3例で拒絶され、2例では末血での白血病細胞の検出は112日目とRag2^{-/-}γc^{-/-}への移植に比べ著しく遅延した。この結果より獲得免疫非存在下においてもNK細胞がMLL/ENL白血病細胞を殺傷し拒絶しうることを示唆された。また、移植24時間後の骨髄・脾臓に残存する腫瘍細胞数 (GFP陽性細胞/1×10⁶有核細胞) の比較をRag2^{-/-}、Rag2^{-/-}γc^{-/-}間で行ったところ、有意にRag2^{-/-}でMLL/ENL白血病細胞が少なかった (骨髄: 18.6 vs 0.4、脾臓: 152.2 vs 0.3)。骨髄内の移植24時間後の残存腫瘍細胞数は、Asialo-GM1によりRag2^{-/-}マウスからNK細胞をdepletionすることで0.3→20.6細胞と有意に増加し、Rag2^{-/-}γc^{-/-}マウスにNK細胞を投与する系でも有意に残存腫瘍細胞数が減少した。</p> <p>次にNK細胞がどのようにしてMLL/ENL白血病細胞を認識し排除するのかを評価した。In vitro Cr releasing assayにおいてもMLL/ENL白血病細胞は正常造血幹細胞よりも強く認識された。HLA Class1分子 (H2Kd,H2Dd,H2Ld,Qa-1) の発現は両細胞に差異を認めなかったが、活性化リガンドであるNKG2D ligands (Rae1,H60,MULT1) やDNAM1 ligands (CD112,CD155) はMLL/ENL白血病細胞により強く発現し、抑制性リガンドであるCD48はより低く発現していた。NKG2D ligandsを抗体blockingしたところ、Cr releasing assay、移植24時間後の残存腫瘍細胞数のいずれでもNK細胞に殺傷されにくくなった。また、これらリガンドの発現をコントロールベクター (MSCV-IRES-GFP) 導入細胞と比較したところ、MLL/ENL oncogeneを導入した細胞で有意にリガンドの変化が見られた。以上よりMLL/ENLによる白血病化がNKG2D ligandsやDNAM1 ligandsの上昇、CD48の低下を引き起こし、これらの表面形質の変化をNK細胞が認識し攻撃したと考えられた。</p> <p>最後にRag2^{-/-}から発症した白血病細胞とRag2^{-/-}γc^{-/-}から発症した白血病細胞の性質を比較した。Rag2^{-/-}から発症した白血病はRag2^{-/-}γc^{-/-}から発症した白血病細胞に比べNKG2D ligandsやDNAM1 ligandsは低く、CD48は多く発現していた。また、Rag2^{-/-}へ移植した際の24時間後残存腫瘍細胞数、二次移植での白血病の発症のいずれにおいても、Rag2^{-/-}から発症した白血病は有意にNK細胞に殺傷されにくい傾向を示した。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>MLL/ENL白血病細胞モデルでは、NK細胞は獲得免疫非存在下でも白血病細胞を殺傷・拒絶しうる力を有していた。また、NK細胞存在下で発症した白血病細胞はよりNK細胞に攻撃されにくい形質へと変化していた。これらの結果はNK細胞が腫瘍発生期においてimmunoeditingに関与しうることを示唆した。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中田 潤

論文審査担当者	(職) 氏名
主査大阪大学教授	熊、御 淳
副査大阪大学教授	金 倉 讓
副査大阪大学教授	石 井 優

論文審査の結果の要旨

近年、癌の発症過程において、「免疫細胞がごく少量の発生した異常細胞を駆逐し、駆逐されなかった異常細胞は免疫系との平衡状態を経て、免疫抵抗性の異常細胞が選択的に増殖し発症する」という免疫監視仮説が提唱されている。T細胞については多く報告されてきたが、獲得免疫系が作動する前に腫瘍を認識・排除すると考えられるNK細胞の関与に関しては十分な解析がなされていない。しかし、本研究では、B,T,NKTのないRag2^{-/-}マウスとB,T,NK,NKTのないRag2^{-/-}γc^{-/-}マウスとで比較することにより、獲得免疫なしでもNK細胞がMLL/ENL白血病を認識・破壊することを見出した。また、NK細胞の存在下で発症した白血病細胞はよりNKに攻撃されにくい形質を獲得していることを明らかにした。以上の結果はNK細胞が免疫監視に寄与することを示唆した。よって、本論文は、博士（医学）の学位授与に値する。