The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Enhanced ability of peripheral invariant natural killer T cells to produce IL-13 in chronic hepatitis C virus infection
Author(s)	早川, 路代
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54219
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【160】

氏　　名	早川（井上）路代（はやかわ（いのうえ）　みちよ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４０７９　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学　位　論　文　名	Enhanced ability of peripheral invariant natural killer T cells to produce IL-13 in Chronic hepatitis C virus infection （C型慢性肝炎における末梢血インバリアントナチュラルキラーT細胞のIL-13産生能亢進）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　林　　紀夫 （副査） 教　授　川瀬　一郎　　教　授　上田　啓次

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

インバリアントナチュラルキラーT(Invariant Natural Killer T、iNKT)細胞は、樹状細胞(Dendritic Cell、DC)上のCD1dに掲示された糖脂質を認識し活性化する。iNKT細胞に対する内因性リガンドは未だ明らかではないが、α-galactosyl-ceramide(αGalCer)がiNKT細胞を選択的に活性化するsurrogateとして研究に繁用されている。活性化したiNKT細胞はTh1型（IFN-γ、TNF-α）やTh2型サイトカイン(IL-4、IL-5、IL-13)を産生し、自己免疫性疾患、ウイルス感染症、腫瘍性疾患における免疫反応の調節に関与している。C型慢性肝炎において、HCVの持続感染の機序として自然免疫、獲得免疫系の異常が報告されているが、iNKT細胞の関与は明らかではない。本研究では、C型慢性肝炎の病態におけるiNKT細胞の意義を明らかにすることを目的とした。

〔　方法ならびに成績　〕

Invariant NKT細胞は特定のT細胞受容体(TCR)を持ち、Vα24(+)Vβ11(+)細胞として同定される。iNKT細胞にはCD4(+)、CD4(-)のサブセットが存在する。C型慢性肝炎患者(CH)と非感染者(HS)からPBMCを分離し、FACSにてiNKT細胞サブセットの頻度を検討すると、CD4(+)Vα24(+)Vβ11(+)細胞、CD4(-)Vα24(+)Vβ11(+)細胞とも両群で同等であった。次にiNKT細胞の生体内での動態を検討するために、ケモカインレセプターの発現を患者群と非感染者群とで比較した。CH群ではCD4(+), CD4(-)の両サブセットともCXCR3の発現がHS群よりも有意に高く(MFI値平均：CD4(+)iNKT　HS群=85.94 vs CH群=174.89　$p<0.05$、CD4(-)iNKT　HS群=54.46 vs CH群=159.91 $p<0.05$)、CCR4、CCR7、CD62Lの発現は両群で差を認めなかった。iNKT細胞の定常状態でのサイトカイン産生能を検討するため、αGalCerを添加した単球由来DCでPBMCを刺激し、IFN-γ産生細胞をELISPOT法で、IL-4、IL-5、IL-13の産生量をELISA法にて解析した。αGalCer添加DC刺激によるIFN-γ 産生細胞はVα24(+)細胞及びVβ11(+)細胞の除去によって有意に減少することから、これらはiNKT細胞であることが確認された。αGalCer反応性IFN-γ産生細胞数はCH群のHS群と同等であったが、IL-4、IL-5、IL-13の産生は両群とも認められなかった。次に、iNKT細胞のαGalCer刺激に対する増殖能を調べるため、αGalCer添加DCとPBMCを5週間共培養し、iNKT細胞の増加率を解析した。CH群、HS群とも培養前に比べiNKT細胞は両サブセットとも有意に増殖したが、その増加率に差を認めなかった。活性化したiNKT細胞のサイトカイン能を検討するために、αGalCer添加DC刺激により増殖したiNKT細胞をCD4(+), CD4(-)のサブセット別にソーティングし、αGalCer添加DCで再刺激した上清をELISAで解析した。αGalCerにより活性化したiNKT細胞は、両群ともIFN-γのみならずIL-4、IL-5、IL-13も産生した。IFN-γ産生量は両サブセットとも両群で同等であったが、IL-13などのTh2サイトカイン産生量はCH群でHS群に比べ高い傾向にあり、特にIL-13産生量は有意に高かった。(IL-13産生量平均：CD4(+)iNKT　HS群=5.21ng/ml vs CH群=17.1ng/ml　$p<0.05$、CD4(-)iNKT　HS群=0.89ng/ml vs CH群=10.71ng/ml $p<0.05$)

〔　総　　括　〕

C型慢性肝炎患者におけるiNKT細胞は、定常状態ではその頻度やサイトカイン産生能は非感染者と同等であったが、炎症を伴う組織への浸潤に関与するCXCR3の発現が高かった。一方、C型慢性肝炎患者の活性化iNKT細胞はTh2サイトカインの産生能が非感染者iNKT細胞に比べて亢進しており、特にIL-13の産生能が高かった。以上より、C型慢性肝炎患者のTh2産生型に機能シフトしたiNKT細胞は、炎症肝におけるTh1反応の抑制などの病態に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

NKTは樹状細胞(DC)上のCD1dに提示されたα-galactosylceramide(αGalCer)により活性化し、Th1、Th2サイトカインの産生を介して抗ウィルス免疫の調節に関与する。本研究では、C型慢性肝炎におけるNKTの意義を明らかにするため、末梢血NKTの頻度と機能を非感染者と比較した。研究の結果、肝炎群におけるNKTの頻度及び定常状態のNKTのサイトカイン産生能は非感染者と同等であった。肝ではCD1dが高発現していることが報告されており、NKTは肝において活性化している可能性が示唆される。そこで、活性化NKTの機能を検討するため、αGalCer添加DCとの培養によりNKTを増幅させたところ、増加率は両群とも同等であった。また肝炎群の活性化NKTのIFN-γ産生量は非感染者と同等であったが、IL-13などのTh2サイトカインの産生量は著明に亢進していた。肝炎群のNKTは、炎症組織への浸潤に関与するCXCR3の発現が亢進していた。本研究において、NKTは炎症肝におけるTh1反応を抑制し、HCVの持続感染に関与している可能性が示唆され、臨床的にも有意義であり、学位の授与に値すると考えられる。