The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	α-Fetoprotein impairs activation of natural killer cells by inhibiting the function of dendritic cells
Author(s)	山本, 政司
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58922
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

【71】

氏　　名	山　本　政　司（やま もと まさ し）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学　位　記　番　号	第　２５１１７　号
学位授与年月日	平成24年３月22日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	α-Fetoprotein impairs activation of natural killer cells by inhibiting the function of dendritic cells （α-Fetoproteinは樹状細胞の機能を阻害する事でNK細胞活性を抑制している）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　竹原　徹郎 （副査） 教　授　金倉　　譲　　教　授　土岐祐一郎

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

α-fetoprotein(AFP)は肝細胞癌の腫瘍マーカーとして知られているが、一方で、非担癌状態の慢性肝炎・肝硬変でもAFPが高値となる例は散見され、こういったAFP高値の肝硬変患者群ではAFP低値群より発癌率が高いという事が報告されている。しかしAFPが発癌にどの様に寄与しているのか、その機序については未だ明らかとなっていない。

生体には免疫細胞による腫瘍監視機構が存在し、発生初期の段階で腫瘍を排除し発癌を予防している

事が知られているが、こうした腫瘍監視機構においてはNK細胞がその中心的な役割を担っている。
そこで今回我々はNK細胞の細胞障害活性にAFPが及ぼす影響について検討を行った。

〔　方法ならびに成績　〕

健常人の抹消血から磁気ビーズ法を用いてCD56陽性NK細胞を採取し、AFPを添加して培養を行った。24時間培養後、クロムリリース法にてその細胞傷害活性を評価した。標的細胞にはNK細胞に特異的に傷害されるK562を用いた。その結果、AFP添加にて細胞傷害活性に変化は認められず、AFPは直接的にはNK細胞の細胞傷害活性に影響を及ぼさない事が確認された。

NK細胞は、抗原刺激を受けた成熟樹状細胞によってその活性を更に強める事が知られている。そこで次に、健常人末梢血中から樹状細胞(DC)をAFP存在下で誘導し、LPSによる成熟刺激を与えた後に、上記のNK細胞と共培養させ、同様にクロムリリース法を用いてNK細胞の細胞傷害活性を検討した。結果、AFP存在下にDCと共培養されたNK細胞ではコントロール群に比べて細胞傷害活性が減弱する事が確認された。

DCがNK細胞を活性化させる経路は直接接触による経路と液性因子を介する経路の2つが存在するため、前述の共培養の実験をtranswell-membraneを用いて再度行った。結果、transwell-membraneを用いた場合でも用いなかった場合と同程度にAFP群で細胞傷害活性が減弱する事が確認され、AFPはDCの液性因子を介したNK細胞活性化を阻害している事が明らかとなった。

そこでAFP添加によるDCのサイトカイン産生量の変化を検討した。NK細胞を活性化させる液性因子として、培養上清中のIL-18濃度・IL-12濃度をELISA法にて測定した。IL-18濃度はコントロール群・AFP群で差を認めなかったが、IL-12濃度はAFP群においてコントロール群よりも有意に低かった。RT-PCR法を用いてm-RNA発現量を検討したところ、AFP群ではIL-12を構成するサブユニットであるp35・p40双方でその発現が有意に低下していた。

これらの結果は、Poly(I;C)を成熟刺激として用いた場合でも同様の結果であった。

最後に、recombinant IL-12を添加してAFP存在下にDC・NK細胞の共培養を行うと、NK細胞の細胞傷害活性は減弱しなかった。

また、IL-12中和抗体を添加して培養されたコントロール群では、NK細胞の細胞傷害活性はAFP群と同程度まで減弱する事が確認された。

以上の事から、AFPはDCを介したNK細胞活性を阻害しており、その作用はIL-12依存的であると考えられた。

〔　総　　括　〕

AFPは樹状細胞のIL-12産生低下を介してNK細胞の細胞傷害活性を減弱させると考えられた。

論文審査の結果の要旨

α-fetoprotein (AFP) は肝細胞癌の腫瘍マーカーとして日常臨床で使用されるが、慢性肝炎や肝硬変の症例にもAFPが高値となる例が存在し、こうした症例は肝細胞癌に進展する確率が高い事が報告されている。

生体の持つ発癌予防機構としては、NK細胞を中心とした腫瘍監視機構が知られており、これら免疫細胞が発生初期の段階の腫瘍細胞を排除している。

そこで申請者は、NK細胞活性にAFPが及ぼす影響について検討を行った。

NK細胞は樹状細胞により活性化され細胞傷害活性を強めるため、AFPを添加した培養液中でNK細胞と樹状細胞を共培養したところ、その細胞傷害活性の減弱が確認された。

また、AFPを添加して培養した樹状細胞を解析したところ、NK細胞を活性化させるサイトカインであるIL-12の産生が低下している事も確認された。

AFPがNK細胞活性を阻害している事を示した今回の結果は、慢性肝炎・肝硬変からの発癌における新たな知見の1つであり、AFPを阻害する事が発癌を予防する可能性を提示したという点においても非常に意義深い研究であり、学位の授与に価すると考えられる。