

京都大学	博士 (医学)	氏名	梁 冰 霏
論文題目	Role of hepatocyte-derived IL-7 in maintenance of intrahepatic NKT cells and T cells and development of B cells in fetal liver. (肝臓内 NKT 細胞と T 細胞の維持および胎児肝臓内 B 細胞分化における肝細胞に由来する IL-7 の役割)		
(論文内容の要旨) 肝臓は、代謝機能、解毒、胆汁産生など多様な機能をもつ重要な臓器である。近年、肝臓は生体における主要な代謝器官であるとともに、重要な造血・免疫組織としても認識されつつある。肝臓は T 細胞や B 細胞などの適応免疫系のみならず、NKT 細胞、NK 細胞、樹状細胞、マクロファージなどの自然免疫系の細胞を豊富にふくんでいる。一方、インターロイキン-7 (IL-7) はリンパ球の増殖・分化・維持に重要な働きをしている。IL-7 は、主に胸腺上皮細胞、骨髄ストローマ細胞、リンパ節の細網線維芽細胞、皮膚や消化管の上皮細胞などで発現している。さらに、IL-7 は肝細胞から産生されていることが知られているが、その局所における機能は十分にはわかっていない。 そこで、この問題を明らかにするために、IL-7 遺伝子の第 4 エクソンの両側に loxP を挿入した IL-7-floxed マウスを作製し、肝細胞で特異的に Cre 組換え酵素を発現する Albumin-Cre トランスジェニックマウスと交配させ、肝細胞で特異的に IL-7 遺伝子が破壊された Alb-Cre IL-7 コンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作製した。まず、IL-7 遺伝子の欠失効率を解析するために、Alb-Cre IL-7 cKO マウスの肝臓から肝細胞を単離し、定量的 PCR 法にてゲノム DNA と RNA の IL-7 遺伝子量を測定した。その結果、IL-7 遺伝子はコントロールマウスの約 10 分の 1 に減少しており、IL-7 遺伝子が高効率で欠失し発現が低下していることが確認された。一方、胸腺の IL-7 の発現量はコントロールマウスと差がなかった。また、肝臓における TSLP や IL-15 などの他のサイトカインの発現量も変化がなかった。次に、肝臓内リンパ球を単離しフローサイトメトリーで解析した。cKO マウスでは細胞数が減少しており、特に T 細胞と NKT 細胞の数が 60% 程度に減少していた。一方、樹状細胞や B 細胞には変化がなかった。さらに、CD1d テトラマーを用いて invariant NKT 細胞を解析すると、cKO マウスの肝臓では細胞数が 5 分の 1 に減少していたが、胸腺や脾臓などの他の器官では変化がなかった。さらに、胸腺、脾臓、リンパ節などの免疫組織における T 細胞と NKT 細胞の細胞数に変化はなかった。胎児期の肝臓では B 細胞分化が見られ、それは IL-7 に依存している。そこで、胎生後期から新生仔期の cKO マウスの肝臓を解析すると、初期 B 細胞の数が約 60% に減少していた。 以上の結果から、肝細胞が産生する IL-7 が成体期の肝臓内の T 細胞と NK 細胞の維持に不可欠な働きをしていることが明らかとなった。さらに、胎児期においては肝細胞が産生する IL-7 が B 細胞の分化に重要な働きをしていることが示された。したがって、肝細胞はいわば IL-7 ニッチを形成し、免疫系の恒常性を維持する一翼を担っていると考えられた。			

(論文審査の結果の要旨)

肝臓は T 細胞、NKT 細胞、NK 細胞、マクロファージなどの免疫系細胞を豊富にふくんでいる。リンパ球の分化や維持に重要な働きをしているインターロイキン-7 (IL-7) が肝細胞から産生されているが、その局所における機能は十分にはわかっていない。

この問題を明らかにするために、IL-7-floxed マウスを作製し、Albumin-Cre マウスと交配することで、肝細胞で特異的に IL-7 遺伝子が破壊された Alb-Cre IL-7 conditional knockout (cKO) マウスを得た。まず、cKO マウスの肝細胞で IL-7 の発現量が著しく低下していたが、他の臓器ではコントロールマウスと差がなかった。次に、cKO マウスでは肝臓内リンパ球の数が減少しており、特に T 細胞と NKT 細胞が 60% に減少していたが、樹状細胞や B 細胞は変化がなかった。一方、胸腺、骨髄、脾臓などの免疫組織におけるリンパ球に変化はなかった。最後に、胎児後期から新生児期の cKO マウスで初期 B 細胞が 60% に減少していた。以上の結果から、肝細胞が産生する IL-7 が成体期の肝臓内の T 細胞と NKT 細胞の維持に大きな働きをしていることが明らかとなった。さらに、胎児期においては肝細胞が産生する IL-7 が B 細胞の分化に重要な働きをしていることが示された。

以上の研究は肝細胞の免疫系維持機構の解明に貢献し、肝臓の免疫機能の理解に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 25 年 1 月 31 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降