

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	鷹 尾 珠 美 子
論文題目	The rapid induction of HLA-E is essential for the survival of antigen-activated naive CD4 T cells from attack by NK cells (ナイーブ CD4 陽性 T 細胞が NK 細胞による細胞障害を回避し増殖するためには、抗原刺激後早期から HLA-E を発現することが必須である。)		
(論文内容の要旨)			
近年、NK 細胞も T 細胞反応の緻密な制御に関与していることが明らかとなってきた。しかし、その詳細な機構についてはまだ十分に解明されていない。本研究では、抗原刺激を受けたナイーブ CD4 陽性 T 細胞の増殖が、NK 細胞による制御を受ける機序を解明するため、健常人末梢血単核球を用いて解析を行った。 健常人末梢血よりナイーブ CD4 陽性 T 細胞を分離し、別の健常人末梢血由来の単球から誘導した樹状細胞と共培養して同種抗原の刺激を与えると T 細胞が増殖する。この共培養系に、培養開始 1 日後に IL-15 と IL-18 で活性化した NK 細胞を加えると、T 細胞の増殖が抑制された。この NK 細胞による増殖抑制は、抑制性サイトカインの産生や樹状細胞への作用によるものではなく、T 細胞への直接的な作用によるものであった。この T 細胞と同種樹状細胞の共培養系では、一部の T 細胞だけが樹状細胞上の同種抗原を認識して活性化し、他の T 細胞は同種抗原を認識せず休止状態にとどまる。この両者を分離して NK 細胞との共培養を行ったところ、前者のみが NK 細胞による細胞障害活性を受けた。これらの結果から、NK 細胞によるナイーブ CD4 陽性 T 細胞の増殖抑制は、抗原刺激を受けた T 細胞に対して特異的に働く NK 細胞の細胞障害活性によってもたらされることが明らかとなった。 また、NK 細胞の細胞障害活性に対するナイーブ CD4 陽性 T 細胞の感受性は経時的に変化し、刺激前は感受性が低いが、抗原刺激 1 日後には非常に高くなり、3 日後には再び低下していた。また、抗原刺激に使用する樹状細胞の活性化状態によっても感受性が異なり、LPS によって成熟刺激を加えた樹状細胞と TNF-α によって成熟刺激を受けた樹状細胞では、前者から抗原刺激を受けた T 細胞の方が NK 細胞の細胞障害活性に対して感受性が低く、NK 細胞存在下でも増殖が比較的保たれていた。 次に、NK 細胞の細胞障害活性に対する感受性を制御する因子を明らかにするため、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞における、NK 細胞活性化リガンドおよび抑制性リガンドの発現を解析した。抗原刺激を受けた T 細胞には、活性化リガンドである NKG2D リガンドが誘導され、NK 細胞の細胞障害活性を促進する一因となっていたが、その発現強度と細胞障害活性に対する感受性に相関はなかった。一方、抑制性リガンドのひとつである HLA-E は、その発現強度が細胞障害活性に対する感受性と相関しており、LPS 刺激樹状細胞で活性化された T 細胞には刺激 1 日後から高発現し、また、いずれの樹状細胞で刺激した T 細胞でも刺激 3 日後には高発現していた。実際に、抗体で T 細胞上の HLA-E と NK 細胞上の NKG2A の結合を阻害することにより T 細胞の NK 細胞に対する感受性が増大することが確認された。			

以上の結果より、抗原刺激を受けたナイーブ CD4 陽性 T 細胞が NK 細胞による細胞障害を回避し増殖するためには、刺激後早期から HLA-E を発現することが必須であることが明らかになった。また、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞上の HLA-E の発現は、活性化の時相や抗原刺激条件を反映して厳密に制御されていることも明らかになった。これらの結果から、HLA-E の発現調節は、樹状細胞、T 細胞、NK 細胞が関わる免疫反応の制御に重要な役割を果たしていることが示唆され、移植、自己免疫性疾患、抗腫瘍免疫において新たな治療標的となり得ることが期待される。

（論文審査の結果の要旨）

近年、NK 細胞も T 細胞反応の緻密な制御に関与していることが明らかとなってきたが、その詳細な機構についてはまだ十分に解明されていない。申請者らは、抗原刺激を受けたナイーブ CD4 陽性 T 細胞の増殖に対する NK 細胞の制御機構について検討した。

健常人末梢血ナイーブ CD4 陽性 T 細胞と、別の健常人末梢血単球から誘導した樹状細胞の共培養に、活性化 NK 細胞を加えると、T 細胞の増殖が抑制された。この NK 細胞による増殖抑制は、抗原刺激を受けた T 細胞に特異的に働く NK 細胞の細胞障害活性によってもたらされることを示した。

NK 細胞の細胞障害活性に対する T 細胞の感受性は経時的に変化し、抗原刺激 1 日後が最も高かった。また、抗原刺激に使用する樹状細胞の活性化状態によっても感受性が異なっていた。更に NK 細胞に対する感受性を制御する因子について検討を行い、NK 細胞抑制性リガンドである HLA-E の T 細胞上の発現強度と逆相関していることを示した。LPS 刺激樹状細胞で活性化された T 細胞は、刺激 1 日後から HLA-E を高発現しており、NK 細胞の細胞障害活性に対する感受性が低かった。阻害実験の結果、抗原刺激後早期の HLA-E の発現が実際に、NK 細胞の細胞障害からの回避に寄与していることを示した。

以上の研究は、NK 細胞による T 細胞反応の制御機構の解明に貢献し、移植医療、自己免疫疾患の制御、抗腫瘍免疫の発展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 23 年 3 月 7 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。