

氏名(本籍) 菅野明弘
学位の種類 医学博士
学位記番号 医第2325号
学位授与年月日 平成3年2月27日
学位授与の条件 学位規則第5条第2項該当
最終学歴 昭和59年3月31日
山形大学医学部医学科卒業

学位論文題目 Unique Relationships Among Hepatocyte Growth, Class I MHC Antigen Expression on the Hepatocytes and the NK Killing Susceptibility in Mice
(マウス肝細胞の増殖とクラス I MHC抗原表出およびNK感受性の特異的關係)

(主査)
論文審査委員 教授 松野正紀 教授 名倉宏
教授 橋武彦

論文内容要旨

【目 的】

NK細胞は肝細胞の増殖期に肝臓に集積し、増殖停止後、その数は再び急激に減少する。また、NK細胞は腫瘍細胞だけではなく再生肝細胞などの増殖の速い正常細胞をも障害する。従って、NK細胞は肝再生の際に再生肝細胞を障害することにより、肝再生現象の調節系の一つとして作用している可能性がある。しかし、その調節のメカニズムに関しては、未だに不明の点が多い。

最近、標的細胞の持つクラス I MHC抗原量とNK感受性の間の関連が注目されている。そこで肝細胞の増殖とクラス I MHC抗原表出およびNK感受性の三者の関係を解析することにより、NK細胞による肝再生調節機構の解明を試みた。

【方 法】

C3H/HeNマウスの新鮮単離肝細胞、初代培養肝細胞、肝部分切除後の再生肝細胞、MRL-lpr/lprマウスの新鮮単離肝細胞に関して、クラス I MHC抗原表出およびNK感受性を比較した。クラス I MHC抗原表出は、間接膜蛍光抗体法を用い、FACScanにて解析した。NK感受性は、効果細胞としてNK細胞に富んだ肝単核細胞を用い、 $4\text{h-}^{51}\text{Cr}$ release法で測定した。

【結 果】

C3H/HeNマウスの新鮮単離肝細胞のクラス I MHC抗原はFACScanにて解析すると、蛍光強度10付近に鋭いピークを持つ正規分布曲線であった。また、この曲線は二次抗体のみのコントロールが示す曲線との重複はほとんどなかった。つまり、肝細胞には少ないながら、ほぼ全ての細胞にクラス I MHC抗原が表出されていた。その抗原量はMean Fluorescence Intensity Channel (MFI) で表わすと 8.5 ± 0.2 であった。

肝細胞はEGFを加えて培養すると著明に高いトリチウムサイミジンの取り込みを示した。このDNAを合成し盛んに増殖している初代培養肝細胞のクラス I MHC抗原量は 3.2 ± 0.2 (MFI) と低値を示した。さらに、この初代培養肝細胞のNK感受性は、E/T比100 : 1, 50 : 1, 25 : 1 で各々 $35.4 \pm 3.4\%$, $30.1 \pm 2.9\%$, $16.2 \pm 1.1\%$ を示した。これは、新鮮単離肝細胞の示すNK感受性と比べ有意に高い値であった。

肝部分切除後の再生肝細胞のクラス I MHC抗原量は、再生現象が盛んな術後6日目には 4.0 ± 0.1 (MFI) と有意に減少し、再生現象がほぼ終了する術後14日目には 6.4 ± 0.2 (MFI) とほぼ新鮮単離肝細胞のレベルにまで回復した。NK感受性は、術後6日目にE/T比100 : 1, 50 : 1,

25 : 1 で各々 $37.2 \pm 5.5\%$, $26.6 \pm 4.1\%$, $19.4 \pm 23.3\%$ と有意に高く、また、術後14日目にはE/T比100 : 1, 50 : 1, 25 : 1 で各々 $20.8 \pm 1.2\%$, $19.3 \pm 1.1\%$, $12.3 \pm 1.0\%$ と新鮮単離肝細胞のレベルにまで低下した。

MRL-lpr/lprマウスの新鮮単離肝細胞のクラス I MHC抗原量は 3.1 ± 0.1 (MFI) を示し、コントロールとして用いたMRL-+/+マウスの 8.3 ± 0.2 と比較し有意に低値であった。また、NK感受性は、MRL-lpr/lprマウスではE/T比100 : 1, 50 : 1, 25 : 1 で各々 $34.1 \pm 6.8\%$, $23.7 \pm 5.1\%$, $19.0 \pm 3.4\%$ を示し、MRL-+/+マウスの $13.4 \pm 2.4\%$, $18.0 \pm 2.8\%$, $8.1 \pm 1.0\%$ と比較し有意に高値であった。

【考 察】

C3H/HeNマウスを用いた実験から、NK細胞による肝再生調節機構として、増殖期にある肝細胞は、そのクラス I MHC抗原表出量を低下させ、高いNK感受性を獲得するというメカニズムが示唆された。すなわち、クラス I MHC抗原量とNK感受性は逆相関するものと考えられた。

しかし、この逆相関のメカニズム、つまり、再生肝細胞のクラス I MHC抗原量が減少すると何故、NK感受性が増大するのかという点に関しては、現在の時点では不明である。NK細胞はクラス I MHC抗原と反応するCD8抗原を欠いている為、NK細胞がクラス I MHC抗原の減少を直接認識しているというのは否定的である。ただし、クラス I MHC抗原はインスリン、グルカゴン、EGF、IL-2等のレセプターと関連して膜上に存在しているので、間接的に認識されている可能性は否定出来ない。あるいは、逆相関はまったく偶然で、他の増殖や活性化により変化する何らかのシグナルが認識されている可能性もある。

MRL-lpr/lprマウスは自己免疫疾患のモデルマウスで3.5~5ヶ月齢に達した頃に発症することが知られている。このMRL-lpr/lprマウスの肝細胞でも、クラス I MHC抗原量とNK感受性の逆相関が認められた。さらに、このマウスでは発症後、血清ビリルビン値、トランスアミナーゼ値の上昇と肝線維化が観察されている。従って、このマウスでは何らかの原因により肝細胞障害が生じ、盛んな肝再生が起きているものと考えられた。

【結 語】

生理的あるいは病的な原因により、増殖期に入った肝細胞はクラス I MHC抗原量を低下させ、高いNK感受性を獲得する。この現象がNK細胞による肝再生調節のメカニズムの1つである。

審査結果の要旨

NK細胞は肝再生現象の調節系の1つとして作用している可能性があるが、その調節のメカニズムに関しては、未だに不明の点が多い。本論文は、このNK細胞による肝再生調節機構を解明するために、肝細胞の増殖とクラスI MHC抗原表出およびNK感受性の関係を解析したものである。

まず、C3H/HeNマウスの新鮮単離肝細胞のクラスI MHC抗原表出を間接蛍光抗体法で感知しFACSscanで解析し、同時に $4\text{h-}^{51}\text{Cr}$ release法でNK感受性を測定している。さらに、初代培養肝細胞、肝部分切除後の再生肝細胞、MRL-lpr/lprマウスの新鮮単離肝細胞、MRL-+/-マウスの新鮮単離肝細胞でも同様の検討を行ない、以下の結果を得ている。

1) C3H/HeNマウスの新鮮単離肝細胞のクラスI MHC抗原量は 8.5 ± 0.2 (MFI) と少ないながら、ほぼ全ての細胞に表出されている。2) EGFを加えることによりDNAを合成し盛んに増殖している初代培養肝細胞のクラスI MHC抗原量は 3.2 ± 0.2 (MFI) と低い。また、この初代培養肝細胞のNK感受性は新鮮単離細胞に比べ有意に高い。3) 肝部分切除後の再生肝細胞のクラスI MHC抗原量は、再生現象が盛んな術後6日目には 4.0 ± 0.1 (MFI) と有意に減少し、再生現象がほぼ終了する術後14日目には 6.4 ± 0.2 (MFI) とほぼ新鮮単離肝細胞のレベルにまで回復した。NK感受性は術後6日目に有意に高く、術後14日目には新鮮単離細胞のレベルにまで低下する。4) MRL lpr/lprマウスの新鮮単離肝細胞のクラスI MHC抗原量は 3.1 ± 0.1 (MFI) を示し、コントロールとして用いたMRL-+/+マウスの 8.3 ± 0.2 と比較し有意に低値であった。また、MRL-lpr/lprマウスのNK感受性は、MRL-+/+マウスより有意に高かった。

以上の結果から、増殖期にある肝細胞は、そのクラスI MHC抗原表出量を低下させ、高いNK感受性を獲得することが明らかとなった。つまり、肝細胞のクラスI MHC抗原量とNK感受性は逆相関関係にあるということである。さらに、発症後のMRL-lpr/lprマウスの肝細胞でも、クラスI MHC抗原量とNK感受性の逆相関関係が認められることから、病的要因による肝細胞障害とそれに引き続く肝再生が、このマウスで生じている可能性があると思われ、指摘している。

生理的あるいは病的な原因により、増殖期に入った肝細胞はクラスI MHC抗原量を低下させ、高いNK感受性を獲得する。この現象がNK細胞による肝再生調節のメカニズムの1つであると結論づけている。

以上の様に、本論文は肝再生調節機構の1つとしてNK細胞に着目し、肝細胞の増殖、クラスI MHC抗原表出、NK感受性の関係を詳細に検討したoriginalityの高い論文であり、学位論文としてふさわしいものと思われる。