

氏 名（本籍）	い飯 つか 塚 さとる 悟
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 博 第 2 0 4 7 号
学位授与年月日	平 成 16 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学位論文題目	SV 40LT トランスジェニックマウスに由来する NK 細胞株・NK-T 様細胞株の樹立と解析

（主 査）

論文審査委員 教授 高 井 俊 行 教授 帯 刀 益 夫

教授 佐 竹 正 延

## 論文内容要旨

ナチュラル・キラー（NK）細胞は、ウイルス感染やガン化により形質転換した細胞を認識し、それらを早期に排除する細胞である。ナチュラル・キラー T（NK-T）細胞は Th1 型・Th2 型 サイトカイン両者を多量に産生することで、免疫機構を調節している細胞である。いずれの細胞も免疫応答の初発段階に重要な役割を果たしており注目されているが、現在までのところ、その機能を *in vitro* で解析するための有用な細胞株は樹立されておらず、新規の細胞株の樹立が待望されている。

一方、生体から単離され半永久的に培養可能である細胞株は、研究材料として有用である。これまで、初代培養細胞にウイルス由来の細胞不死化遺伝子を導入し、多様な細胞株が樹立されてきたが、近年温度感受性 SV 40 large T 抗原遺伝子をゲノムに組み込んだトランスジェニックマウスが作製され、このマウスから間質系細胞株が容易に樹立可能であることが示された。しかしながら、このマウスから免疫系細胞株の樹立は行われていなかった。

本研究は温度感受性 SV 40 large T 抗原トランスジェニックマウスから NK 細胞・NK-T 細胞の細胞株を樹立することを目的とした。その結果、9 種の NK 細胞株と 2 種の NK-T 様細胞株を樹立した。樹立された NK 細胞株は、1000 IU/mL の recombinant human (rh) IL-2 を含む培地で 2 年以上維持可能で、形態的特徴を保持していたうえ細胞障害活性・サイトカイン産生能を示した。また、外来遺伝子導入実験に用いることが可能であり、従来の NK 細胞株にはない特徴を備えていた。また、1000 IU/mL の rh IL-2 を含む培地で 1 年以上維持可能で、NK 細胞抗原と T 細胞抗原を共発現している NK-T 様の細胞株が 2 種樹立された。

以上の結果より、本研究で樹立された新規細胞株は、NK 細胞・NK-T 細胞研究の有用な材料となると考えられた。

## 審査結果の要旨

本研究は、形質転換細胞の初期排除に重要な役割を果たしている Natural Killer (NK) 細胞と、サイトカイン産生を通じ免疫応答調節に重要な役割を果たしている Natural Killer-T (NK-T) 細胞の不死化細胞株を樹立し、その性質を詳細に解析することを目的とした。現在までにマウス NK 細胞株は少数ながら存在するものの、NK 活性のみを解析したものがほとんどであり、NK 細胞がもつ重要な機能である Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) 活性やサイトカイン産生能が明らかにされていなかった。また、マウス NK-T 細胞においては、いまだに細胞株の樹立報告はなかった。そこで、細胞株樹立の有用なツールとして知られている Simian Virus 40 Large-T (SV 40 LT) トランスジェニックマウスから、NK 細胞および NK-T 細胞を単離し、限界希釈法にて単一細胞由来の株として樹立し、機能を詳細に解析した。

NK 細胞株では、8 種のクローンと 1 種のバルクラインが樹立された。これらの細胞株の性質を C57BL/6 マウスの脾臓から単離し、1000 U/ml の IL-2 を含む培地で活性化した NK 細胞 (B6-LAK) を比較対照として解析したところ、NK 活性を維持した細胞株、ADCC 活性を維持した細胞株、サイトカイン産生を維持した細胞株が樹立されたことが示された。一方、機能が減弱した細胞株も存在することが示された。また、エレクトロポレーション法により、一過性の外来遺伝子導入実験に用いることが可能であることが示された。

NK-T 細胞株では、2 種のクローンが樹立され、これらは NK 細胞マーカーと T 細胞マーカーを共発現していることが示され、表面抗原としては NK-T 細胞であると考えられた。しかしながら、機能解析による NK-T 細胞であることの証明には至らなかったため、NK-T 様細胞株と言及するにとどめた。

上記のとおり、本論文は SV 40 LT トランスジェニックマウスから純化した NK 細胞ならびに NK-T 様細胞株の樹立に成功しており、いくつかの特徴ある性質を持った新規細胞株であることを示した。また遺伝子導入も可能であり、今後の免疫研究において利用可能な細胞株であると考えられ、学位論文に値する内容を持つと判断する。