

氏名	岡村 敦 <sup>おかむら あつし</sup>
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
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	胆道閉鎖症の病態形成におけるナチュラルキラー細胞の関与
論文審査委員	主査 教授 仁尾 正記 特命教授 佐藤 成 教授 海野 倫明

## 論文内容要旨

ナチュラルキラー細胞(CD56(+)CD16(+)NK 細胞)は自然免疫に関わる免疫担当細胞のひとつであるが、近年 NK 活性およびサイトカイン産生が低下したサブタイプ(CD56(-)CD16(+)NK 細胞)が HIV-1 感染者や治療抵抗性の C 型慢性肝炎患者において増加していることが明らかにされ、NK 活性不全の観点から CD56(-)CD16(+)NK 細胞が注目されている。さて、胆道閉鎖症は肝内、肝外を巻き込む全胆管組織の炎症性破壊が特徴で、病因の一つとしてレオウイルス科ウイルスの感染が推測されている。今回、BA の病態形成において、ウイルス感染防御において主要な役割を果たす NK 細胞の関与について検討した。始めに、BA (22 例) と対照群として慢性 C 型肝炎 (CVH-C)、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)、成人の正常肝および胎児剖検例の正常肝の肝組織を用い、CD56、CD16、CD68 について免疫組織科学的に検討を行った。その結果、BA および CVH-C の肝内小型胆管周囲において、他の対照群と比較し、多数の CD56(-)CD16(+)CD68(-)NK 細胞浸潤を認めた。また、大型胆管周囲においても、BA では多数の CD56(-)CD16(+)CD68(-)NK 細胞を認めた。続いて、NK 細胞の傷害胆管周囲への遊走に関して、CX3CL1 (Fractalkine) とその受容体である CX3CR1 の関与について、同様に免疫組織科学的に検討した。CX3CL1 は各種炎症刺激により血管内皮細胞や上皮細胞で発現し、その受容体である CX3CR1 は NK 細胞、単球、リンパ球に発現する。CX3CL1 はケモカインと細胞接着分子の 2 つの活性を併せ持ち、炎症細胞遊走に関与する。今回、肝組織切片を用いた免疫組織科学的染色により、胆管周囲における CX3CR1(+)CD16(+)細胞の評価、胆管上皮細胞における CX3CL1 発現について評価した。CX3CL1 は BA の肝内小型胆管において強発現を示し、正常肝においては、ほとんど発現を認めなかった。大型胆管においても同様に BA で強発現を認めた。BA の小型および大型の傷害胆管周囲には CD56(-)CD16(+)NK 細胞が多数見られ、これら CD16(+)細胞に CX3CR1 の発現が見られた。この結果から、CX3CL1 による化学誘引による NK 細胞の遊走の可能性が考えられた。さらに、ヒト培養胆管上皮細胞 (BEC)を用いて BEC における CX3CL1 産生について検討し、次に CX3CL1 による NK 細胞の遊走について評価した。BEC の培養において、ウイルス dsRNA の合成アナログである poly(I:C)の刺激により CX3CL1 発現の上昇を認めた。また CX3CL1 および poly(I:C)刺激を加え BEC を培養した上清の希釈液により NK 細胞の遊走が亢進した。これらの結果から、NK 活性の低下した CD56(-)CD16(+)NK 細胞の増加は NK 免疫不全をもたらすことで、ウイルス感染による胆管傷害を助長する可能性が考えられ、NK 細胞の胆管周囲への遊走には CX3CL1、CX3CR1 の相互作用が関与している可能性が示唆された。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 .....胆道閉鎖症の病態形成におけるナチュラルキラー細胞の関与.....

所属専攻・分野名 .....医科学専攻 .....小児外科学分野.....

学籍番号 .....氏名 .....岡村 敦.....

胆道閉鎖症(BA)は肝内、肝外を巻き込む全胆管組織の炎症性破壊を特徴とする、乳児の代表的胆汁うっ滞性疾患である。様々な炎症細胞の関与が論じられており、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)による胆管障害についての報告もされている。NK細胞の主なサブタイプはCD56(+)CD16(+)NK細胞であるが、近年HIV感染者や治療抵抗性の慢性C型肝炎患者においてNK活性およびサイトカイン産生能が低下したサブタイプ(CD56(-)CD16(+)NK細胞)が明らかにされ、同細胞の増加が生体としてのNK活性不全につながるとして注目されている。今回、BAの肝組織標本を用い、門脈域におけるCD56(-)CD16(+)NK細胞について免疫組織化学的に評価した。対照群として慢性C型肝炎(CVH-C)、非アルコール性脂肪性肝炎、成人の正常肝および胎児剖検例の正常肝の肝組織を用いた。BAおよびCVH-Cの門脈域において、他の対照群と比較し多数のCD56(-)CD16(+)NK細胞を認めた。また、胆管上皮細胞でCX3CL1(Fractalkine)の強発現を認め、門脈域に浸潤しているCD16(+)細胞の多くにCX3CR1の発現を認めた。さらに、ヒト培養胆管上皮細胞に炎症性刺激を加えることで、CX3CL1産生が増加することを示し、培養NK細胞による遊走アッセイにより、産生されたCX3CL1によりNK細胞の遊走が誘導されることを示した。これらから、ウイルス感染などの炎症性刺激に対する反応として、CX3CL1/CX3CR1の相互作用により、多数のNK細胞が胆管周囲に浸潤するが、CD56(-)CD16(+)NK細胞の増加したNK活性の低下した生体においては、炎症反応の遷延、増長が生じBAの病態形成に関与する可能性が示唆された。

CD56(-)CD16(+)NK細胞は、同細胞の増加が生体のNK活性につながるとして近年注目されているが、本研究はBAにおける同細胞の関与について検討した初めての研究である。今回は、BAの病態形成に関与する可能性を示すにとどまったが、今後、CD56(-)CD16(+)NK細胞と臨床経過との関連について検討を進めることで、BA患児の予後について推測出来る可能性があり、BAの病因・病態の解明、治療に貢献する足がかりとなる重要な研究として評価できる。

よって、本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。