

氏名(本籍) : 佐藤 隆太郎 (宮城県)

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第441号

学位授与年月日 : 平成20年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : ヒスタミンによるヒト単球様細胞のNKG2D リガンド発現の抑制

論文審査委員 : (主査) 教授 越後 成志

教授 高田 春比古 教授 菅原 俊二

論文内容要旨

ナチュラルキラー (NK) 細胞上の主要な活性化受容体の一つである NKG2D は、標的細胞上の NKG2D リガンド (MICA, MICB および ULBP) を認識し標的細胞を傷害するが、多彩な生物活性を示すヒスタミンと NKG2D リガンドとの関連についての報告はない。本研究は、ヒト単球様腫瘍細胞株 (THP-1 細胞) を用いて、ヒスタミンの NKG2D リガンドへの影響について解析した。フローサイトメトリーを用いた解析の結果、THP-1 細胞は恒常的に MICA/B と ULBP-1 を発現しており、インターフェロン- γ によりその発現が増強されることが明らかとなった。一方、ヒスタミンは MICA/B と ULBP-1 の発現を抑制した。この抑制効果はヒスタミン受容体 (H1R と H2R) アゴニストで再現でき、さらに、H1R のセカンドメッセンジャー活性化剤 (A23187) と H2R のセカンドメッセンジャー活性化剤 (forskolin) によってもヒスタミンと同様の抑制効果を得た。また、ヒト非付着性リンパ球をインターロイキン-2 で誘導した活性化 NK 細胞をエフェクター細胞として、 ^{51}Cr 遊離細胞傷害性試験を行ったところ、活性化 NK 細胞は未処理の THP-1 細胞を強く傷害したが、ヒスタミン処理した THP-1 細胞に対する傷害活性は有意に低下した。以上の結果は、1) ヒスタミンは腫瘍細胞上の NKG2D リガンド、MICA/B と ULBP-1、の発現を H1R と H2R の両方を介して抑制すること、2) その結果、ヒスタミンは腫瘍細胞の NK 感受性を低下させる作用を有すること、を示唆した。

審査結果要旨

ヒスタミンは多様なサイトカインの産生を制御し、1型と2型のヘルパーT細胞のバランスを調節するなど、免疫系においても重要な役割を担っている。また、樹状細胞やマクロファージによる活性酸素分子種の産生をH2Rを介して抑制することによりNK細胞やT細胞を保護し、その抗細胞傷害活性を維持することが報告されている。しかしながら、多彩な生物活性を示すヒスタミンとNKG2Dリガンドとの関連についてはこれまで報告がない。そこで本研究では、ヒト腫瘍細胞が発現するNKG2DリガンドであるMICA、MICBおよびULBP-1発現に対するヒスタミンの作用を解析するとともに、腫瘍細胞のNK感受性に対するヒスタミンの効果を検討している。実験は、(1)ヒト単球様腫瘍細胞株であるTHP-1細胞をヒスタミンもしくはIFN- γ 存在下で24時間刺激培養し、その後、細胞をFITC標識抗MICA/Bモノクローナル抗体、抗ヒトULBP-1モノクローナル抗体およびFITC標識抗マウスIgGポリクローナル抗体で染色し、フローサイトメトリーにより細胞表面のMICA/BおよびULBP-1発現を解析した。(2)その後、末梢血単核球を分離し、10%FCS添加RPMI1640培地で37 $^{\circ}$ C、90分培養し、非付着細胞を回収した。非付着細胞をヒト組み換え型IL-2(100ng/ml)存在下で48時間刺激培養し、ヒト活性化NK細胞を誘導した。標的細胞をNa₂[⁵¹Cr]O₄(3.7MBq)により、37 $^{\circ}$ C、90分間標識し。標識後、標的細胞(1 \times 10⁴cells/well)とヒト活性化NK細胞を37 $^{\circ}$ Cで4時間共培養して、培養上清中の⁵¹Crを γ -カウンターにより測定した。その結果、以下の点を明らかにしている。1. THP-1細胞は恒常的にMICA/BおよびULBP-1を発現しており、その発現はIFN- γ により増強され、ヒスタミンにより抑制された。2. ヒスタミンによるNKG2Dリガンドの発現抑制は、H1RおよびH2Rの両方を介している事が示唆された。3. ヒスタミンはNKG2DリガンドであるMICA/BおよびULBP-1の発現を抑制することにより、NK細胞による細胞傷害活性を制御していることが示唆された。以上の結果は、ヒスタミンの生物活性をコントロールすることで、NK細胞やキラーT細胞の標的となる細胞の感受性を制御でき得る可能性を提示しており、悪性腫瘍等の有効な治療法の開発の基盤となり得ることが考えられる。この研究は、ヒスタミンとNKG2Dリガンドとの関連について明らかにしたものであり、本研究成果は、悪性腫瘍等の有効な治療法の開発に寄与する事が大いに期待できる。よって本研究は、博士(歯学)の学位授与に値するものと認める。