

審査の結果の要旨

氏名 植木 紘史

本研究は自然免疫系の活性化に重要である自然免疫受容体の抗腫瘍応答における役割を明らかにするため、マウス悪性黒色腫(B16F1 細胞)をマウスに投与する系や、B16F1 細胞に対する細胞傷害活性を検討する系にて、真菌の細胞壁を認識する自然免疫受容体 Dectin-1 を欠損したマウスを用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型マウスにおいて B16F1 細胞を尾静脈投与すると、NK 細胞を除去したマウスでは B16F1 細胞の肺転移の顕著な増加が認められた。マクロファージまたは樹状細胞と、NK 細胞及び B16F1 細胞を共培養し、B16F1 細胞に対する傷害活性について検討したところ、マクロファージや樹状細胞による細胞数依存的な細胞傷害活性の増強が観察された。これらの結果から B16F1 細胞の排除には NK 細胞が重要であり、マクロファージ及び樹状細胞は NK 細胞の B16F1 細胞に対する細胞傷害活性を増強させることが判明した。
2. 野生型または *Dectin-1* 遺伝子欠損脾細胞を B16F1 細胞と共培養させ、B16F1 細胞に対する傷害活性について解析したところ、*Dectin-1* 遺伝子欠損脾細胞では、この活性が野生型に比べ顕著に減弱することが明らかとなった。NK 細胞と、野生型および *Dectin-1* 遺伝子欠損マウス由来のマクロファージまたは樹状細胞、及び B16F1 細胞を共培養し、B16F1 細胞に対する細胞傷害活性を検討した。その結果、*Dectin-1* 遺伝子欠損マウス由来のマクロファージ及び樹状細胞では、NK 細胞の細胞傷害活性の亢進能が減弱することが判明した。これらの一連の解析から、*Dectin-1* はマクロファージや樹状細胞において機能することで、NK 細胞によるがん細胞に対する細胞傷害活性を促進させることが見出された。
3. 可溶性 *Dectin-1* を作成し、フローサイトメトリー法で *Dectin-1* の B16F1 細胞への結合を検討すると、可溶性 *Dectin-1* は B16F1 細胞表面に結合することが見出された。B16F1 細胞を glycosidase 処理し、可溶性 *Dectin-1* の結合への影響を検討すると、N-glycosidase 処理により可溶性 *Dectin-1* の結合は顕著に減弱した。B16F1 細胞を N-glycosidase 処理し、脾細胞による細胞傷害活性を検討すると、傷害を受ける B16F1 細胞の割合が減弱することも見出された。*Dectin-1* 遺伝子欠損マウスにおいて B16F1 細胞を投与すると、非常に顕著な B16F1 細胞の増殖が認められた。これらの結果から、*Dectin-1* は B16F1 細胞表面の N 型糖鎖構造を認識し、細胞傷害活性に寄与することで抗腫瘍応答に重要であることが明らかとなった。

4. B16F1 細胞以外の様々ながん細胞種に対する可溶性 Dectin-1 の結合を検討すると、可溶性 Dectin-1 は B16F1 細胞以外のがん細胞に対して多様な結合度合を示すことが明らかとなった。可溶性 Dectin-1 が強く結合する細胞株(3LL 細胞)と結合が弱い細胞株(SL4 細胞)に対する細胞傷害活性および肺転移の制御における Dectin-1 の寄与を検討した。Dectin-1 遺伝子欠損脾細胞では、3LL 細胞に対する傷害活性が野生型に比べ著しく減弱し、一方、SL4 細胞に対する細胞傷害活性は野生型と同等であった。3LL 細胞は Dectin-1 遺伝子欠損マウスにおいてがんの肺転移量が顕著に増加する一方、SL4 細胞の肺転移量には変化はなかった。ヒト可溶性 Dectin-1 も数種のがん細胞株に結合することが観察された。これら一連の解析から、Dectin-1 は B16F1 細胞以外のがん細胞の排除にも寄与していることが明らかとなり、ヒトにおいても Dectin-1 はがんを認識する可能性が示唆された。
5. B16F1 細胞とマクロファージまたは樹状細胞を共培養させた培養上清を用いて NK 細胞を刺激し、細胞傷害活性を解析したところ、培養上清は細胞傷害活性を亢進させなかった。B16F1 細胞と Dectin-1 遺伝子欠損樹状細胞を共培養し、マイクロアレイ法で Dectin-1 依存的に誘導される遺伝子を解析すると、NK 細胞の細胞傷害活性を増強することが報告されている INAM を含め複数の膜分子が見出された。これらの膜分子がマクロファージ及び樹状細胞に Dectin-1 依存的に発現し、細胞間相互作用を介して NK 細胞を活性化させ、がんの排除に寄与していることが示唆された。

以上、本論文は真菌を認識しその排除を促す自然免疫受容体 Dectin-1 が、がん細胞をも認識し、NK 細胞による細胞傷害を介して、その排除を促進することを明らかにした。本研究は自然免疫受容体のがん細胞を直接認識し、その排除のために自然免疫系を活性化することを初めて明らかにしたものであり、がん免疫の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。