

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
能見 勇人	主査 教授 勝 岡 洋 治 副査 教授 窪 田 隆 裕 副査 教授 谷 川 允 彦 副査 教授 芝 山 雄 老 副査 教授 森 浩 志
主論文題名 Infiltration of H-2 ^d -Specific Cytotoxic Macrophage with Unique Morphology into Rejection Site of Allografted Meth A (H-2 ^d) Tumor Cells in C57BL/6 (H-2 ^b) Mice (C57BL/6 (H-2 ^b)マウスに同種異系 Meth A(H-2 ^d)腫瘍細胞を移植するとユニークな形態の H-2 ^d 特異的細胞傷害性マクロファージが移植部へ浸潤する)	
学位論文内容の要旨	
<p>《背景および研究目的》</p> <p>1960年代から現在に至るまで、キラーT細胞が、ヘルパーT細胞から分泌されるサイトカインによって増殖、分化、活性化し、アロ移植細胞を傷害すると考えられてきた。しかし、1970年代、抗マクロファージ血清などによって移植片の生着期間が延長することや、1996年には、Kriegerら世界の10数箇所の研究者がノックアウトマウスを用いて、キラーT細胞ではなく、ヘルパーT細胞が移植片拒絶に必須と報告した。また、吉田らは、アロ移植片によって誘導されるマクロファージ(AIM; Allograft-Induced Macrophage)が、移植されたMeth A線維肉腫細胞を特異的レセプターによって認識し、傷害することを報告してきた。</p> <p>《対象および方法》</p> <p>申請者は、C57BL/6マウスの腹腔内にMeth A細胞を移植した。14日で移植細胞は急性拒絶されたが、この拒絶に働く腹腔浸潤細胞(PEC)の機能と形態の特性を明らかにし、従来報告されているマクロファージと比較した。なお、Meth A細胞は、キラーT細胞抵抗性の細胞として知られている。</p> <p>《結果》</p> <p>AIMによる細胞傷害の経時的変化:マウス腹腔内へアロ移植片であるMeth A細胞を移植後、PECの移植細胞に対する細胞傷害活性は、4日目から上昇し、8日目で最大となり、14日目には活性が認められなかった。この移植細胞に対する傷害活性は、移植部(腹腔)に浸潤した細胞のみに認められ、リンパ組織や末梢血中の細胞には認められなかった。顆粒球、リンパ球、大顆粒球やマクロファージが拒絶部に浸潤するが、移植後8日のPECをフローサイトメトリーで分離したところ、マクロファージ分画にのみ細胞傷害活性(62.3±5.7%、18時間 assay)が認められた。</p> <p>種々のマクロファージによる細胞傷害活性:Meth Aにより誘導された8日目のPEC全体から、接着性の高いものを集めたところ細胞傷害活性は42.4%から62.1%に増加した。また、その他の4種類の物質を腹腔内に投与し誘導したマクロファージの中で、牛弱毒結核菌(BCG)によるものが最も高い細胞傷害活性を示したが、その傷害活性は、AIMの約1/2程度であった。また、カゼインで誘導したマクロファージは低い有意なMeth Aに対する傷害活性を認めた。チオグリコール酸で誘導したマクロファージや常在性マクロファージはそれぞれIFN-γとLPSで活性化しても傷害活性をほとんど示さなかった。</p>	

被認識分子: AIM の細胞傷害活性は、ドナー型 (H-2^d) リンパ芽球を加えると完全に阻害され、自己型 (H-2^b) あるいは第三者型 (H-2^k) リンパ芽球では全く阻害されなかった。AIM が Meth A 上の H-2^d 分子を特異的に認識し、Meth A 細胞を傷害している可能性が示唆された。

AIM の形態: 走査電顕像での AIM の特徴は、細胞表面から辺縁に放射状に伸展する樹状突起で、表面には絨毛突起がなく平滑であった。一方、常在性マクロファージは、表面全面が絨毛様の突起で覆われており、BCG 活性化マクロファージでもその基本構造は変わらず、その一部に太い絨毛が認められた。透過電顕像での、AIM の特徴は、BCG マクロファージや常在性マクロファージで認められる顆粒やリソソームが極めて少なく、細胞質は多数の巨大な空胞によって変形しており、一部貪食像が認められた。

AIM と標的細胞の接触による Meth A 細胞の傷害: AIM と Meth A 細胞を共培養し、経時的に顕微鏡下で観察した。その結果、培養数時間後、AIM は Meth A 細胞に付着し、アロ H-2 分子を発現した細胞膜の一部を“噛み切って”、標的細胞から離れた。このユニークな攻撃の繰り返しによって、18 時間で 30-40% の Meth A 細胞が傷害された。

《結論》

AIM は、アロ移植 Meth A 細胞上の H-2 分子をレセプターによって特異的に認識し、移植細胞を“噛み切る”ことによって傷害する、ユニークな形態をもつ活性化マクロファージであることが示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	能見 勇人
論文審査担当者		主 査 教授 勝 岡 洋 治	
		副 査 教授 窪 田 隆 裕	
		副 査 教授 谷 川 允 彦	
		副 査 教授 芝 山 雄 老	
		副 査 教授 森 浩 志	
<p>主論文題名</p> <p>Infiltration of H-2^d-Specific Cytotoxic Macrophage with Unique Morphology into Rejection Site of Allografted Meth A (H-2^d) Tumor Cells in C57BL/6 (H-2^b) Mice (C57BL/6 (H-2^b)マウスに同種異系 Meth A (H-2^d) 腫瘍細胞を移植するとユニークな形態の H-2^d 特異的細胞傷害性マクロファージが移植部へ浸潤する)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>マウス腹腔内に同種異系(アロ)でキラーT 細胞に抵抗性の Meth A 線維肉腫細胞を移植すると、Meth A 細胞は、移植部に浸潤するマクロファージ (allograft- induced macrophage: AIM) によって拒絶されることが最近証明された。</p> <p>マウス腹腔内へアロ移植片である Meth A 細胞を移植すると、8 日目をピークに細胞傷害活性が誘導され、マクロファージ分画にのみ細胞傷害活性が認められた。電顕像での AIM の特徴は、細胞表面から辺縁に放射状に伸展する樹状突起で、他のマクロファージで認められる細胞表面の絨毛突起や細胞内の顆粒およびリソソームが極めて少なかった。また、電顕像で、貪食像が認められたが、その理由の一つとして、AIM が Meth A 細胞に付着し、アロ主要組織適合性抗原を発現した細胞膜の一部を“噛み切って”傷害していることを確認した。</p> <p>これらの結果は、アロ移植後の急性拒絶反応における細胞傷害機構に新たな知見を与えるものであり、移植拒絶反応の新しい制御方法の開発に繋がる可能性がある。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Microbiology and Immunology 51(3): 000-000, 2007 (in press)</p>			