

学 位 論 文 要 旨

氏 名 安岡 稔晃

論 文 名 転写抑制因子 *Gfi1* は NKT1 および NKT2 タイプの
インバリエント NKT 細胞の分化や機能に必要である

【背景・目的】

ナチュラルキラーT細胞 (NKT細胞) は、T細胞抗原レセプター(TCR) とNKレセプターを共発現するリンパ球である。NKT細胞は、T細胞と同様に TCR を介して抗原を認識するが、TCRの多様性は乏しく、マウスにおいては、TCR α 鎖は V α 14、 β 鎖は V β 8.2、V β 7、V β 2、ヒトでは α 鎖は V α 24、 β 鎖は V β 11 から主に構成されている (インバリエント TCR)。インバリエント TCRを持つ NKT細胞 (iNKT細胞) の大部分は、多型のない主要組織適合抗原複合体 (MHC) クラス I 類似分子である CD1d に提示された脂質や糖脂質を認識する。 α -ガラクトシルセラミド(α -GalCer) は、CD1d により提示され、NKT細胞によって認識される代表的な糖脂質として知られている。iNKT細胞は Th1、Th2細胞の両方のタイプのサイトカインを大量に産生することから、感染免疫や腫瘍免疫だけでなく、自己免疫疾患やアレルギーなどの多様な疾患に関与することが報告されており、免疫応答を理解する上で重要なリンパ球であるにも関わらずその分化機構は未だ不明な点が多く残されている。*Gfi1*(growth factor independent 1) は多くの造血細胞にとって重要な役割を持つ SNAGファミリーに属する zinc-finger 型の転写抑制因子である。今回、我々は *Gfi1* の iNKT細胞の分化についてその機構を解析した。

【方法】

Cre/loxP システムを用いて、胸腺内の CD4⁺CD8⁺ダブルポジティブの段階で *Gfi1* をノックアウトした、T細胞特異的 *Gfi1* 欠損 (*Gfi1*^{flox/flox} × CD4-Cre Tg) マウス (*Gfi1*KO) を作成し、iNKT細胞の分化における *Gfi1* の機能を解析した。まず、胸腺や末梢臓器において α -GalCer-loaded CD1d tetramer を用いて、iNKT細胞の胸腺内分化や生態内分布を解析し、定量的 RT-PCR 法や細胞内染色法にて iNKT細胞の分化、機能に関与すると考えられる転写因子やサイトカイン産生について解析した。次に、iNKT細胞のサイトカイン産生能について、定量的 RT-PCR 法と ELISA 法にて検討した。最後に、B16メラノーマ細胞株の肺転移マウスモデルを iNKT細胞依存的な抗腫瘍活性について解析を行った。

【結果】

Gfi1 の発現は胸腺や末梢臓器のほぼ全ての iNKT細胞において検出された。また、*Gfi1* は胸腺内分化が進むにつれて発現が低下し、脾臓においては CD4^{pos} や NK1.1^{pos} の iNKT細胞において高発現していることが分かった。*Gfi1* KO マウスでは脾臓、肝臓、肺などの末梢臓器において iNKT細胞数が著しく減少していた ($p < 0.01$)。末梢の成熟 iNKT細胞は CD4^{pos}CD8^{neg} (CD4陽性) ま

たは CD4^{neg}CD8^{neg} (DN) に分類されるが、*Gfi1* KO マウスにおいては、特に CD4 陽性 iNKT 細胞数が顕著に減少した。一方、胸腺においては NK1.1 陽性の iNKT 細胞が特に減少していることが確認された。さらに詳細に末梢 iNKT 細胞について解析したところ、CD4^{pos}NK1.1^{pos} と CD4^{neg}NK1.1^{pos} の iNKT 細胞が顕著に減少していることを見出した。また、*Gfi1* 欠損 iNKT 細胞では、iNKT 細胞分化への関与が報告されている転写因子のうち、Gata3、Plzf、T-bet の発現低下と、Eomes の発現の増加が各臓器で共通して認められた。一方、RORγt の発現は肺、肝臓では上昇していたが脾臓では低下していた。さらに、*Gfi1* 欠損 iNKT 細胞では、IFN-γ、IL-4、IL-13 産生が顕著に低下した (p<0.01)。その一方で、IL-17A の産生量は保たれていた。α-GalCer 投与によって誘導される iNKT 細胞依存的な抗腫瘍活性について B16 メラノーマ細胞株の肺転移マウスモデルを用いて解析したところ、*Gfi1* KO マウスでは野生型と比べ腫瘍転移が有意に増加し (p<0.01)、生存期間が優位に低下していた。

【考察】

成熟 iNKT 細胞は、ヘルパー T 細胞に類似して、T-bet を発現し IFN-γ を産生する NKT1 (CD4^{pos}/negNK1.1^{pos})、Gata3 を発現し IL-4 や IL-13 を産する NKT2 (CD4^{pos}NK1.1^{neg}) や、RORγt を発現し IL-17、IL-22 を産生する NKT17 (CD4^{neg}NK1.1^{neg}) に分類されることが明らかとなっている。本研究では、*Gfi1* KO マウスにおいて NKT1 および NKT2 タイプの iNKT 細胞の割合や細胞数が選択的に減少しており、*Gfi1* がそれらの分化や機能維持において重要であることが示唆された。*Gfi1* は、IL-2 の除去により誘導される細胞死を防止する proto-oncogene として同定された分子である。IL-2 受容体の γc 鎖は iNKT 細胞の生存に必要なサイトカインである IL-7 や IL-15 の受容体と共有されている。さらに IL-2 受容体 β 鎖は IL-15 のコンポーネントでもある。よって、iNKT 細胞において *Gfi1* は IL-15 の下流に位置し、NKT1 および NKT2 細胞の生存の維持において必須の役割を担っている可能性が考えられる。

臨床においては、がんに対する NKT 細胞療法はすでに先進医療で実施されており、iPS 細胞から NKT 細胞を誘導する方法の研究が進んでいる。また SLE 患者では特異的に Vα24NKT 細胞数が減少することや、喘息など気道過敏症に NKT17 が中心的な役割を担うことなど、アレルギー疾患と NKT 細胞との因果関係も指摘されている。さらに産婦人科領域においては、子宮頸管の粘膜の感染防御反応に重要であることや、流産や早産など、妊娠の維持において NKT 細胞が大きな役割を担っていることが報告されている。本研究の知見を、NKT 細胞の機能調節による免疫応答の制御研究に応用することができれば、新たな免疫療法や免疫疾患の治療法の確立につながることを期待される。

【結語】

転写抑制因子 *Gfi1* は NKT1 および NKT2 タイプのインバリエント NKT 細胞の分化や機能、生存に必要であることが示唆された。

キーワード (3~5)	<i>Gfi1</i> NKT細胞の分化 腫瘍免疫
-------------	---------------------------------