



Title	肝移植後早期においてNK細胞によるアロ認識が好中球浸潤の増幅をもたらす肝虚血再灌流障害を増悪させる [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	木村, 鐘康
Description	配架番号 : 2178
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11931号
Issue Date	2015-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59665
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shoko_Kimura_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 木村 鐘康

審査担当者	主査	教授	坂本 直哉
	副査	教授	清野研一郎
	副査	准教授	北村 秀光
	副査	准教授	本間 明宏

学 位 論 文 題 名

肝移植後早期において NK 細胞によるアロ認識が好中球浸潤の増幅をもたらす肝虚血再灌流障害を増悪させる

(Allorecognition by NK cells contribute to augmented hepatic ischemia/reperfusion injury with higher host neutrophil infiltration during early phase after liver transplantation)

木村氏は、NK 細胞、特に CD11b/c 陽性の活性型 NK 細胞は虚血再灌流障害において重要な役割を持ち、そのアロ細胞認識によって、ALT の上昇、肝壊死組織の増大、ホスト好中球浸潤を伴ってアロジェニックグラフトでシンジェニックグラフトよりも強いダメージを引き起こすことを、GFP トランスジェニックラットを用いたラット同所性肝移植モデルを用いて行った実験で示した。さらに、その後ドナーを AAGM1 で前治療することで活性型 NK 細胞を除去した上で同様の移植実験を行ったところ、AAGM1 ドナー治療後の虚血再灌流障害はアロジェニック群でより顕著に抑制されることが示され、ホスト浸潤細胞の数も減少し、特に好中球浸潤の数が抑制されていることが示された。また、それに伴い炎症性サイトカイン、ケモカイン、細胞障害分子、NKG2D も著明に抑制されていることが判明した。以上の結果より、NK 細胞によるアロ認識と肝虚血再灌流障害の関連性が証明されたという内容で学位審査発表を行った。

審査に当たり、まず副査の本間明宏准教授からは、活性化ドナーNK 細胞の消失がアポトーシスによるものであると結論付けたのは、活性型 NK 細胞の性質として、細胞障害時にアポトーシスするという大前提をもとに推測したものであるのかとの質問があり、それに対し、NK 細胞のアポトーシスについてより詳細に調べることができればより内容の濃い実験となったが、実際は移植後のドナーNK 細胞が移植後早期にアポトーシスしたということは今回の実験では証明できなかったということを回答した。また、AAGM1 治療により活性型 NK 細胞がほぼ特異的に抑制されたという内容に対し、他の細胞にも影響はなかったかとの質問があった。それに対し、我々の実験結果で約 30% の T 細胞抑制効果が認められたことを回答した。次に、副査の北村秀光准教授から、なぜ冷保存時間を 18 時間に設定したのかとの質問があり、18 時間と設定した理由としては、十分な虚血再灌流障害のダメージが得られるモデルとして一般的にラットの肝移植虚血再灌流障害実験では 18 時間で行っていることが多いこと、また、自身でも実験した結果、12 時間では十分なダメージが得られず、24 時間ではダメージが強すぎてサバイバルが 30% 程度まで低下してしまうことを確認したうえで 18 時間を選択したと回答した。また、AAGM1 治療により NK 細胞以外の NKT、T 細胞

への影響はあると考えていいのでしょうかとの質問があった。それに対し、移植後レシピエント、ドナー由来 T 細胞の数は移植後早期では両群でほとんど差がないという結果より、両群で同じように T 細胞が抑制されたとしてもそれがダメージの違いにはつながらない可能性が高いと判断したと回答した。また、次に、移植後早期のドナー NK 細胞の減少が、肝外への流出などによる可能性はないかとの質問があり、それに対しては、移植後のドナー由来 NK 細胞の数を血中、脾臓でも調べたが、ドナー由来の NK 細胞の数があまりにも少なすぎて解析不可能であったことを回答した。次に副査清野研一郎教授からは、臨床では虚血再灌流障害における NK 細胞の役割どのくらい言われているかとの質問があり、それに対し、NK 細胞と拒絶反応に関する臨床実験を行っている施設はあるが、虚血再灌流障害との関連性に関する実験については行われていないと回答した。最後に主査の坂本直哉教授より、NK 細胞のアロ認識と虚血再灌流障害の役割を明確にするため虚血再灌流障害がない場合の実験をやるべきではなかったのかとの質問をし、それに対しては、過去に実験を行ったものの虚血再灌流障害の無い状況では免疫反応がほとんど惹起されずあまり違いが得られなかったと回答した。また、本実験内では AAGM1 治療をドナーのみに行っているが、レシピエントへの治療は行わなかったのかとの質問があり、ドナー治療群以外にも、レシピエント治療群でも実験を行い、ドナー治療群で最も顕著なダメージ抑制効果が得られたとの回答をした。また、論文の結論の中に好中球の浸潤がアロで増える理由がすべて NK 細胞を介しているのかどうかの証明が欠落しているがそれに関しどう考えるかとの質問があり、それに対しては、サイトカインの違いは NK 細胞を特異的に見たわけではないので確かに証明としては不十分で、今後も突き詰める余地のある部分ですと回答した。

この論文は、NK 細胞と虚血再灌流障害の関連性をシンジェニック、アロジェニックの両条件下で比較した初めての実験であり、テーマに即して一貫して実験を積み上げており新規の免疫学的機序についてもしっかりと言及されているという点で高く評価され、今後の臨床における虚血再灌流障害の克服の一助となることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。