

審査の結果の要旨

氏名 小内亜矢  
(小内)

本研究は、細胞傷害性という共通の機能をもつ、ヒト NK 細胞及び CD8<sup>+</sup> T 細胞の機能を分子レベルで明らかにするために、SAGE (Serial Analysis of Gene Expression)法を用いてこれらの細胞が発現する遺伝子を包括的に解析し、下記の結果を得ている。

1. 大部分の遺伝子は NK 細胞及び CD8<sup>+</sup> T 細胞での発現頻度が等しかったが、どちらか一方の細胞で発現している遺伝子も検出された。NK 細胞において発現頻度が高かったのは、Ksp37、cystatin F、actin related protein 2/3 complex, subunit 1A\*、killer cell Ig like receptor、hypothetical protein FLJ10688\*、protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 16B\*、likely ortholog of mouse SH3 gene SLY\*、LIM and SH3 protein 1\*、serine/threonin kinase 10\*及び  $\alpha$ -defensin 1 だった。一方 CD8<sup>+</sup> T 細胞では、v-jun avian sarcoma virus 17 oncogene homologue (c-jun)、interleukin 8、unknown gene\* (EST)、B cell translocation gene 1, anti proliferative\*、hypothetical protein FLJ14058\*、PHD finger protein (contains a zinc finger-like PHD finger)\*、TRAIL、dual specificity phosphatase 1\*、human T cell receptor active alpha-chain mRNA from JM cell line, complete cds\*及び chemokine receptor CCR7 の発現が高かった。それぞれの細胞群において、\*印のついた遺伝子は SAGE の結果発現が明らかとなった。

2. NK 細胞は、granulysin、granzyme B、 $\alpha$ -defensin 1、perforin、DNAX activating protein (DAP) 10 及び NK receptor など、細胞傷害性に関与する遺伝子を発現していた。サイトカイン、ケモカインとそのレセプターに関しては、NK 細胞は IL-2R $\beta$  及び CX<sub>3</sub>C receptor 1、CD8<sup>+</sup> T 細胞は interleukin 8、CCR7、

IL-4R、IL-7R 及び LARC などを発現していた。またアポトーシスに関与する分子では、NK 細胞は apoptosis-associated speck like proteins containing CARD、CD8<sup>+</sup>T 細胞は TRAIL、TNF receptor associated factor; TRAF 4、apoptosis-related cystain protease ; caspase 8 及び TRAF 5 などを選択的に発現していた。シグナル伝達に関与する分子では、CD8<sup>+</sup>T 細胞において STAT 6 の発現が認められた。接着分子では、NK 細胞において、galectin 1、integrin  $\beta$ 2、integrin  $\alpha$ L が発現していた。この結果から NK 細胞において galectin 1 の発現が、CD8<sup>+</sup>T 細胞において LARC の発現が明らかとなった。

3. NK 細胞の CD8<sup>+</sup>T 細胞に対する相関係数は 0.779 であり、高い類似性を示した。一方 CD8<sup>+</sup>T 細胞は、Th2 細胞に対して最も高い相関（相関係数:0.806）があることが示された。

4. 本研究で解析した SAGE の結果において、ドナーによる差がないことを確認するために、両細胞群で発現に差がある遺伝子について RT-PCR を行なった。RT-PCR の結果は SAGE から得られた結果にほぼ一致しており、SAGE の結果が細胞傷害性をもつリンパ球の遺伝子発現プロファイルとして、信頼できることが示された。

5. CD8<sup>+</sup>T 細胞と比較して、NK 細胞で高く発現していた遺伝子について、CD8<sup>+</sup>T 細胞の 3 つのサブセットにおける発現を RT-PCR により検討した。NK 細胞で発現していた perforin、granzyme B 及び CX<sub>3</sub>CR1 はエフェクター CD8<sup>+</sup>T 細胞において強く発現していたが、CD8<sup>+</sup>T 細胞で発現していた CCR7 は、ナイーブ及びメモリー CD8<sup>+</sup>T 細胞において発現していた。また NK 細胞において発現していた新規遺伝子の候補である hypothetical protein FLJ12443 及び MGC915 は、メモリー及びエフェクター CD8<sup>+</sup>T 細胞において発現しており、これらの遺伝子が NK 細胞、メモリー及びエフェクター CD8<sup>+</sup>T 細胞における共通の機能に関与する可能性が示された。

6. NK 細胞で発現していた  $\alpha$ -defensin 1 の、CD8<sup>+</sup>T 細胞サブセットに対する遊走活性を検討した。 $\alpha$ -defensin 1 はナイーブ CD8<sup>+</sup>T 細胞を濃度に依存して遊走させた。また IL-15 存在下で培養した NK 細胞において、 $\alpha$ -defensin 1 の発現が

増強され、IL-15 の NK 細胞に対する新しい機能が示された。また $\alpha$ -defensin 1 がナイーブ CD8<sup>+</sup> T 細胞を特異的に遊走させることで、自然免疫から獲得性免疫へのシグナルを供給する可能性が示された。

以上、本論文はヒト NK 細胞及び CD8<sup>+</sup> T 細胞が発現する遺伝子を包括的に解析し、NK 細胞は活性化する前からある程度その機能に関与する遺伝子が発現しており、一方 CD8<sup>+</sup> T 細胞は、活性化前には細胞傷害性に関与する遺伝子はほとんど発現しておらず、resting の状態を保つのに重要な遺伝子が発現している可能性を示した。これまでの NK 細胞及び CD8<sup>+</sup> T 細胞の研究では、既存の遺伝子に関する限られた情報しか得られていなかったが、本研究では、これらの細胞において定量的かつ包括的に多量の転写産物を解析することで、両細胞の機能を分子レベルで明らかにする上で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。