

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870177

研究課題名(和文) IL-4応答性NK細胞の生理的機能の解明

研究課題名(英文) Analyses of the function of IL-4-induced NK cells

研究代表者

榎本 豊 (Enomoto, Yutaka)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教

研究者番号：20608210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：IL-4の肝臓特異的な過剰発現を行い、定常状態のNK細胞とは性質の異なるNKが肝臓内で顕著に増加する現象を明らかにした。このNKは、サイトカインの産生亢進が見られ、またGranzyme Bの産生も亢進していた。このNKは、In vitroにおいてIL-4のみでは誘導されないことから、他の細胞の関与が考えられた。IL-4過剰発現マウスでは、肝臓中のマクロファージが増加しており、マクロファージをクロドロン酸リポソームにより除去したマウスでは、このようなNKは増えず、マクロファージによる関与が明らかになった。本実験結果は、IL-4によるNK細胞の新たな活性化経路が存在することを示すものである。

研究成果の概要(英文)：We examined the phenotype of NK cells in mice over-expressing IL-4 by hydrodynamic tail vein injection. IL-4 expression induced a unique NK cell population, which was different from conventional mature NK cells. Moreover, these IL-4-induced NK cells produced a large amount of cytokines and exhibited a high cytotoxicity compared to conventional mature NK cells. Additionally, IL-4 over-expression was shown to induce proliferation of macrophage, which might contribute to NK cell proliferation. we depleted macrophages by administration of clodronate liposomes and then we overexpressed IL-4. At 3 days after the injection, we analyzed NK cells in the liver by flow cytometry. Depletion of macrophages suppressed the induction of IL4-NK cells in both the liver. Collectively, these results suggest a novel role of IL-4 in Th2 responses through the induction of the cell population with strong NK activity.

研究分野：免疫学

キーワード：NK細胞 IL-4 IL-15

1. 研究開始当初の背景

肝臓はヒトの体内にある最大の臓器であり、代謝や解毒、胆汁の生成など重要な機能を担っている。また、肝臓は門脈から流入する外来栄養素や腸内細菌由来の菌体成分に常に曝されており、それらを排除するための免疫反応の場としても重要である。しかし、持続的な炎症は肝炎を誘導し、その後、線維化、肝硬変、肝がんへと進行する要因となってしまう。そのため肝臓における免疫反応の制御は非常に重要である。

近年肝疾患の患者が増えており、肝臓に何らかの疾患を抱えている人は1000万人を超えたと推測されている。多くの肝疾患において免疫反応の重要性が示唆されており、肝臓における免疫反応の機序を解明することが求められている。しかしながら、肝臓における免疫反応や、反応の担い手である血球系細胞の詳細な解析はまだ充分に行われていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では重要な免疫反応の一つであるTh2免疫応答の作用機序の解明を目指し、代表的なTh2サイトカインであるIL-4の肝臓特異的な過剰発現を行い、定常状態のNK細胞とは性質の異なるNKが肝臓内で顕著に増加する現象を明らかにした。このIL-4応答性NKは定常状態のNKよりも高い細胞傷害活性を有しており、報告されていたNKに対するIL-4の作用とは大きく異なっている。本研究では、このNKの性状と機能の解明を目的とした。

3. 研究の方法

代表的なTh2サイトカインであるIL-4の作用を調べることを目的に、マウスを用いてIL-4の肝臓特異的な一過性過剰発現による解析を行った。方法として、大量の溶媒とともに発現プラスミドを尾静脈から注入することで肝細胞特異的な遺伝子導入を行う、

Hydrodynamic Tail Vein injection (HTVi)法を用いた。IL-4を過剰発現させて5日後の肝臓中の血球系細胞のFACS解析を行った。

4. 研究成果

IL-4応答性NKは、定常状態のNKよりもIL-12、IL-21、活性化受容体による刺激への応答性が増しており、IFN γ 、IL-10、GM-CSFなどのサイトカインの産生亢進が見られ、またGranzyme Bの産生も亢進していた。このようなNKは、In vitroにおいてIL-4のみでは誘導されないことから、他の細胞の関与が考えられた。そこで、IL-4過剰発現マウスの肝臓を解析した結果、肝臓中のマクロファージが顕著に増加していることが明らかになった。また、マクロファージをクロドロン酸リポソームにより除去したマウスでは、このようなNKは増えず、マクロファージによる関与が明らかになった。さらにIL-4過剰発現マウス由来のマクロファージとの共培養中にIL-15の中和抗体を加えると、NKの生存率が下がることから、マクロファージが産生するIL-15がNKの増殖に関与することが明らかになった。また、in vitroによる培養実験の結果、IL-4に加えてIL-15を添加して培養すると、肝臓で見られたIL-4応答性NK細胞様の細胞へと変化することを見いだした。

本実験結果は、これまで知られていなかったIL-4によるNK細胞の活性化経路が存在することを示すものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

1、Omi A, Enomoto Y, Kuniwa T, Miyata N, Miyajima A. Mature resting Ly6C^{high} natural killer cells can be reactivated by IL-15

European Journal of immunology 査読有

44(9): 2638-2647 (2014)

〔学会発表〕(計 6件)

(1)第44回日本免疫学会学術集会 平成27年11月18日 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)

Kiniwa T, Enomoto Y, Omi A, Miyajima A

「A unique subset of NK cells induced by IL-4 during Th2 responses」(ポスター発表)

(2) IMMUNOLOGY 2015 AAI Annual Meeting 平成27年5月11日 New Orleans (アメリカ)

Kiniwa T, Enomoto Y, Omi A, Miyajima A

「Interleukin 4 induces a unique NK cell population in vivo and in vitro」(ポスター発表)

(3)第43回日本免疫学会学術集会 平成26年12月10日 国立京都国際会館 (京都府京都市)

Kiniwa T, Enomoto Y, Omi A, Miyajima A

「Over-expression of IL-4 augments NK cell activities in vivo.」(口頭発表、ポスター発表)

(4)第42回 日本免疫学会学術集会 平成25年12月 幕張メッセ (千葉県千葉市)

Ai Omi, Tsuyoshi Kiniwa, Yutaka Enomoto, Atsushi Miyajima.

「Expression of Ly6C defines two subsets of mature NK cells」(口頭発表、ポスター発表)

(5) the 15th international congress of immunology 平成25年8月 ミラノ(イタリア)

Ai Omi, Tsuyoshi Kiniwa, Yutaka Enomoto, Atsushi Miyajima.

「Expression of Ly6C defines two subsets of mature NK cells」(ポスター発表)

(6)第78回 日本インターフェロン・サイトカイン学会/ 第21回 マクロファージ分子細胞生物学国際シンポジウム 合同学術集会 平成25年5月 都市センターホテル(東京都千代田区)

Ai Omi, Tsuyoshi Kiniwa, Yutaka Enomoto, Atsushi Miyajima.

「Two subsets of mature mouse NK cells based on the expression of Ly6C」(ポスター発表)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

榎本 豊 (ENOMOTO, Yutaka)

東京大学 分子細胞生物学研究所 助教

研究者番号 : 20608210

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

()

研究者番号 :