

様式(7)

報告番号	甲 保 第 24 号 乙 保
論文内容要旨	
氏 名	大星 航
題 目	Flow Cytometric Evaluation of Surface CD56 Expression on Activated Natural Killer Cells as Functional Marker (機能的マーカーとしての活性化NK細胞表面CD56発現のフローサイトメトリー評価)
<p>Natural Killer (NK) 細胞は末梢血リンパ球の約 10%を占める細胞傷害性リンパ球の 1 つで、腫瘍細胞やウイルス感染細胞を傷害する初期免疫担当細胞である。また、NK 細胞が活性化すると IFN-γ や TNF-α などのサイトカインを産生する。一方、NK 細胞表面に発現している CD56 は、Neural Cell Adhesion Molecule (N-CAM) アイソフォームであり、ナチュラルキラー活性を示す様々な細胞に発現し、特に NK 細胞の表面マーカーとして利用されている。しかしながら、CD56 発現量と NK 細胞活性との関連について詳細な報告は無い。そこで我々は、活性化 NK 細胞における CD56 発現量の変化に注目し、細胞傷害活性およびサイトカイン産生能との比較を行うことで、NK 細胞活性の評価指標としての CD56 発現量測定の有用性を評価した。方法は、まず健常人 13 名の末梢血から末梢血単核細胞 (PBMC) を抽出し、IL-2 および IL-12 (1, 10, 100 U/mL) で 18 時間刺激培養し、フローサイトメトリーにて NK 細胞表面の CD56 発現量を定量した。NK 細胞は CD3⁻CD56⁺細胞分画としてゲーティングし、NK 細胞表面の CD56 発現量は geometric mean fluorescence intensity (GMFI) に基づいて定量した。また、細胞傷害活性およびサイトカイン産生能はそれぞれ 10 名について測定した。細胞傷害活性は Raji 細胞を標的細胞として PBMC と共培養し、標的細胞の傷害率を比色分析に基づく LDH アッセイにて測定した。サイトカイン産生能は、分離した NK 細胞から total RNA を抽出し、RT-PCR による IFN-γ mRNA 定量にて測定した。IL-2 および IL-12 での <i>in vitro</i> 刺激により、NK 細胞表面の CD56 発現量は有意に増加し、特に IL-2 刺激において濃度依存的な発現増加を認めた。さらに、CD56 発現と同様に細胞傷害活性および IFN-γ mRNA 発現量も IL-2 および IL-12 刺激によって有意に上昇した。また、NK 細胞表面 CD56 発現量と細胞傷害活性および IFN-γ mRNA 発現量の間には正の相関を認めたことから、活性化 NK 細胞において CD56 発現量は細胞傷害活性およびサイトカイン産生能の評価に有用であることが示唆された。本研究結果から、NK 細胞表面の CD56 発現量の測定は NK 細胞の活性化の程度を迅速かつ容易に評価でき、さらに免疫療法における NK 細胞活性化のモニターの有効な手段となることが期待される。</p>	