

平成 20 年度 博士前期課程学位論文要旨

学位論文題名 NKT 細胞を用いた抗腫瘍活性評価系の検討

学位の種類： 修士（健康科学）

人間健康科学研究科 人間健康科学専攻

ヘルスプロモーションサイエンス系

学修番号 07899603

氏 名： 小林 咲子

（ 指導教員名： 福家洋子 ）

NKT (Natural killer T) 細胞は、NK 細胞及び T 細胞の両方の細胞表面抗原及び機能を合わせもつリンパ球であり、がん、アレルギー、自己免疫疾患など多くの免疫関連疾患に関与していることが報告されている。また、活性化した NKT 細胞は、マウスモデルにおいて強力な抗腫瘍効果を示すことが報告されている。このため NKT 細胞を活性化する抗腫瘍活性をもつ成分の探索が有用と考えられているが、食品機能研究分野における報告例はない。そこで本研究では、NKT 細胞による食品由来成分の抗腫瘍活性評価系を確立するための諸条件の検討を目的として、臓器からの NKT 細胞の分離方法、抗原提示細胞との共培養条件及び NKT 細胞活性評価法の検討を行った。

実験 1 では、FACS (Fluorescence activated cell sorting) により、がん細胞非接種及び接種時の免疫細胞表面抗原を解析し、がん細胞接種により脾臓中 CD4⁺T 細胞と胸腺中 CD8⁺T 細胞が、わずかであるが増加することを確認した。また、がん細胞非接種時の NKT 細胞は、肝臓より 1×10^5 cells/mouse、脾臓より 1×10^6 cells/mouse 得た。この NKT 細胞を含むリンパ球懸濁液を MACS (磁気細胞分離) で 1 回分離することで、NKT 細胞の精製度は約 30% に高まることを確認した。MACS による複数回の分離で 99.6% まで NKT 細胞の純度を高められることが報告されているが、本研究では、播種細胞数、処理時間、評価系への応用等を考慮し、MACS による 1 回の分離で得られる脾臓 NKT 細胞リッチ画分を評価系に用いて検討を行った。

実験 2 では、NKT 細胞の抗腫瘍活性の評価方法及び共培養条件を検討した。始めに、NKT 細胞の活性促進を目的とした脾臓由来抗原提示細胞の培養条件の検討を行い、得られた脾臓由来抗原提示細胞の活性促進条件を検討した。LPS (Lipopolysaccharide)、 α -GalCer (α -galactosylceramide) による 24 時間及び 48 時間の反応条件で IL-12p40 産生量が増加し、活性が促進された。また、活性化抗原提示細胞と NKT 細胞を共培養し、産生された IFN- γ を指標として、NKT 細胞の活性評価を行った結果、10 μ g/ml LPS 及び 200ng/ml の α -GalCer による 24 時間及び 48 時間という条件における抗原提示細胞への刺激が、NKT 細胞を活性化することを確認した。さらに、NKT 細胞活性化の指標として、V α 14mRNA (マウス T 細胞抗原受容体遺伝子) の発現変化が評価の指標として用いる可能性についても検討を行い、V α 14mRNA を定量的に評価することで NKT 細胞活性化の指標となることを確認した。これらの指標を用いた結果をもとに、NKT 細胞による抗腫瘍活性評価系を提案した。また、提案した評価系を用いて食品由来成分 (ワサビ抗腫瘍活性成分；6-MITC) の評価を行った。6-MITC による 24 時間、48 時間の反応条件で IL-12p40 産生量、IFN- γ 産生量が増加することを確認した。本研究によって、脾臓リンパ球から簡易的分離法 (MACS) によって得られる NKT 細胞を用いた抗腫瘍活性評価系を確立した。