

論文の内容の要旨

1 目的

マウスの肝マクロファージ(M・)である F4/80⁺ Kupffer 細胞はサイトカイン (IL-12、TNF) 産生型の CD11b⁺細胞と貪食/活性酸素産生型の CD68⁺細胞の 2 種類に分類できる。しかし、F4/80⁺ Kupffer 細胞には、CD11b 陰性かつ CD68 陰性の細胞群も少なからず (30%) 存在する。そのため本研究では、CD32 (Fc・RII) 発現の有無を新規に加えることで、マウスだけでなくヒトにおいても、Kupffer 細胞を包括的に分類し①表面抗原的特徴、②生体内機能、③発生・分化について検討した。

2 対象並びに方法

C57BL/6 マウス肝単核球を Percoll 比重遠心法で分離した後、F4/80⁺ Kupffer 細胞の CD11b、CD32、CD68 発現をフローサイトメトリーで評価した。FITC-*E. coli*、FITC-*S. aureus* や pHrodo-*E. coli* で貪食・殺菌能を評価した。貪食能を示しかつ肝特異的な補体受容体である CR1g (complement receptor of the Ig superfamily) mRNA 発現を RT-PCR で測定した。また、Clodronate liposome 投与や放射線照射による F4/80⁺ Kupffer 細胞の各細胞群への影響を評価し、*S. aureus* やマウス由来の EL-4 腫瘍細胞を投与することで抗菌・抗腫瘍能を評価した。EL-4 細胞との共培養によって細胞傷害活性および培養上清中の IL-12、IFN- γ 濃度を測定した。さらに放射線照射後の Ly5.2 マウスに Ly5.1 マウスの骨髄を移植したキメラマウスにおける、肝 F4/80⁺細胞中の CD45.1 (Ly5.1) 発現を調べた。ヒトでも、外科手術検体から肝単核球をマウスと同様に分離し、CD14⁺ Kupffer 細胞の CD11b、CD32、CD68 発現をフローサイトメトリーで評価し、pHrodo-*E. coli* で貪食・殺菌能を評価した。

3 成績

ほとんど全てのマウス F4/80⁺細胞が CD11b⁺細胞、CD32⁺細胞、CD68⁺細胞のいずれかに分類できた。CD68⁺細胞の約 50%は CD32 を共発現していた。CD11b⁺細胞は全く殺菌しなかったのに対し、CD32⁺細胞と CD68⁺細胞は、貪食殺菌能を有し、その活性は CD68⁺細胞の方が強かった。菌投与直後に CD32⁺細胞の CD32 は陰性化する一方で CD68 が発現した。CD32⁺CD68⁻細胞 > CD32⁺CD68⁺細胞 > CD32⁻CD68⁺細胞の順に造血幹細胞分子 c-kit (CD117) を発現していた。6 Gy 放射線照射で CD32/CD68⁺細胞に変化はなかったが、CD11b⁺細胞は肝、脾、骨髄、末梢血で消失した。肝 CD11b⁺細胞は照射後の骨髄移植で再構築された。Clodronate liposome 投与では、放射線照射とは逆に、CD32/CD68⁺細胞が除去され、CD11b⁺細胞は増加した。CR1g は CD32/CD68⁺細胞には発現していたが、CD11b⁺細胞にはなかった。Clodronate liposome 前投与マウスに *S. aureus* を感染させると生存率は著しく低下したが、EL-4 腫瘍細胞の接種では逆に Clodronate liposome 投与群の方が Control 群よりも長く生存した。EL-4

細胞に対する細胞傷害活性および上清中 IL-12、IFN- γ 濃度も、Clodronate liposome 投与群で有意に高かった。

Ly5.1 マウス骨髄を Ly5.2 マウスに移植したキメラマウスの肝 F4/80 $^{+}$ 細胞では、CD11b $^{+}$ 細胞は全て CD45.1 (Ly5.1)陽性であったが、CD32/CD68 $^{+}$ 細胞は CD45.1 陰性であった。故に、CD32/CD68 $^{+}$ 細胞はホスト由来であることが示唆された。さらに興味深いことに、致死量 9 Gy 照射マウスの CD32/CD68 $^{+}$ Kupffer 細胞は、正常マウスと同程度の貪食殺菌能を示した。

ヒト肝 CD14 $^{+}$ 細胞も同様に、CD11b $^{+}$ 細胞、CD32 $^{+}$ 細胞、CD68 $^{+}$ 細胞に分類することができた。マウスと同じく、CD11b $^{+}$ 細胞ではなく、CD32/CD68 $^{+}$ 細胞が貪食殺菌能を示した。

4 考 察

新たに CD32 を用いることでマウスおよびヒト肝 Kupffer 細胞を包括的に分類することができた。CD32 $^{+}$ 細胞は、CD68 $^{+}$ 細胞の前駆体で、肝内で分化する肝固有の細胞群 (Resident Kupffer 細胞) であり、骨髄由来の CD11b $^{+}$ 細胞 (Recruited Kupffer 細胞/M ϕ) とは発生源が完全に異なる。致死量 9 Gy 放射線照射後の骨髄移植キメラマウスにおいても、Resident Kupffer 細胞は骨髄造血幹細胞とは完全に異なる系統の細胞群として存在し、しかもその細胞の機能は保持されることが明らかとなった。

細菌・腫瘍の投与実験から、Resident Kupffer 細胞は貪食殺菌能を担い、Recruited Kupffer 細胞/M ϕ は IL-12 を産生して NK/NKT 細胞を活性化し抗腫瘍能を別々に担うことを初めて明らかにした。

5 結 論

Kupffer 細胞には、肝内で分化する Resident CD32/CD68 $^{+}$ Kupffer 細胞と骨髄から供給される Recruited CD11b $^{+}$ Kupffer 細胞/M ϕ の 2 者があり、それぞれ抗菌と抗腫瘍という生体防御に必須な 2 大機能を明確に分担している。致死量放射線照射後も Resident CD32/CD68 $^{+}$ Kupffer 細胞は残存し、その機能は維持される。