

学位請求論文の内容の要旨

領域	医療生命科学	分野	放射線生命科学
氏名	吉野 浩教		
(論文題目)	単球系細胞の分化誘導および機能に及ぼす放射線の影響		
主査	細川 洋一郎		
副査	若山 佐一		
副査	三浦 富智		
副査	柏倉 幾郎		
【背景】	<p>単球は白血球の一種で、自然免疫を担当する。単球は末梢血中に存在するが、組織で樹状細胞やマクロファージに分化し、より強力な免疫応答能を獲得する。</p> <p>樹状細胞は抗原提示細胞の一つで、単球などの前駆細胞から分化する。樹状細胞の前駆細胞は皮膚や粘膜などの末梢組織に移動し、未熟樹状細胞として存在する。未熟樹状細胞は体内に侵入してきた病原体を貪食すると病原体由来の抗原をプロセッシングする。病原体成分や炎症性サイトカインの刺激を受けると未熟樹状細胞は成熟化し、成熟樹状細胞となる。この成熟化に伴い高い抗原提示能を獲得し、それによりナイーブT細胞に効果的に病原体由来抗原を提示し獲得免疫を誘導する。従って、樹状細胞は自然免疫と獲得免疫を繋ぐ必要不可欠な免疫細胞である。</p>		
	<p style="text-align: center;">細菌</p> <p>皮膚・粘膜</p> <p>菌体成分(リポ多糖, ペプチドグリカンなど)</p> <p>炎症性サイトカイン (TNF-α, IL-1β, IL-6など)</p> <p>リンパ節</p> <p>前駆細胞</p> <p>未熟樹状細胞 (immature DCs: iDCs)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・高抗原捕食能 ・炎症性ケモカインへの高応答性 ・低T細胞活性化能 <p>成熟樹状細胞 (mature DCs: mDCs)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・低抗原捕食能 ・恒常性ケモカインへの高応答性 ・高T細胞活性化能 <p>樹状細胞</p> <p>Naïve T cells</p> <p>CD80/86, MHC II, CD40, CD28, TCR, CD4, CD40L</p>		

(注) 論文題目が外国語の場合は、和訳を付すこと。

【細則様式第 1 - 2 号続き】

樹状細胞の高抗原提示能に着目し、樹状細胞を応用した抗腫瘍免疫誘導療法が期待されている。一方で、化学療法やがん放射線治療の治療後の再発予防などの予後を考える上で治療後の免疫力が非常に重要となるが、樹状細胞及びその前駆細胞に与える放射線の影響に関する報告は少ない。近年の研究により、分化した樹状細胞は放射線による細胞死に対して抵抗性を示すこと、また放射線曝露樹状細胞では機能低下が起こることが明らかとなってきたが、樹状細胞の前駆細胞に及ぼす放射線の影響については以前不明のままである。

本研究では、がん放射線治療後および緊急被ばく後の単球系細胞の免疫システムを評価する目的で、ヒト末梢血単球由来樹状細胞の分化誘導における放射線の影響解明を行うとともに、自然免疫担当細胞が病原体を認識する際に重要となる病原体特有の分子を認識するToll様受容体に及ぼす放射線の影響を単球系細胞株を用いて検討した。

【第一章 X線曝露ヒト単球から樹状細胞への分化誘導】

樹状細胞の前駆細胞であるヒト末梢血由来単球に X線 5 Gy を照射し、サイトカイン存在下で未熟樹状細胞へ分化誘導を行ったところ、未熟樹状細胞に発現する細胞表面発現抗原の発現や未熟樹状細胞の特徴である貪食能が確認された。また、腫瘍壊死因子 α で刺激し、成熟樹状細胞へ誘導したところ、成熟樹状細胞のマーカーである CD83 などの発現が観察された。しかしながら、X線照射によって樹状細胞の細胞移動に関与するマトリックスメタロプロテナーゼ-9 量が減少し、さらに成熟樹状細胞の T細胞刺激能力が低下した。以上の結果より、放射線に曝露された単球からでも樹状細胞へ誘導できるものの、一部の機能低下が起きることが示された。

【第二章 成熟刺激に依存した X線曝露ヒト単球由来成熟樹状細胞の機能障害】

X線曝露ヒト末梢血単球から誘導した未熟樹状細胞をグラム陰性細菌細胞壁構成成分のリポ多糖または炎症性サイトカインミックスで刺激し成熟樹状細胞へ誘導を行った。リポ多糖刺激では、X線照射群において成熟関連抗原の発現、サイトカイン産生及びT細胞刺激能力が著しく低下した一方で、炎症性サイトカインミックス刺激ではT細胞刺激能力の低下のみX線照射群で観察された。以上の結果より、X線曝露ヒト単球由来成熟樹状細胞の機能障害は成熟刺激に依存し、放射線によって外因性因子のリポ多糖に対する応答性は低下するが、内因性因子の炎症性サイトカインミックスに対する応答性は比較的維持されていることが明らかとなった。

【細則様式第 1 - 2 号続き】

【第三章 電離放射線は c-Jun N 末端キナーゼ活性を介してヒト単球系細胞株の Toll 様受容体 2 および 4 の発現を制御する】

病原体関連分子を認識する Toll 様受容体に及ぼす放射線の影響をヒト単球系細胞 THP1 を用いて検討したところ、未分化 THP1 細胞では X 線曝露後に Toll 様受容体 2 及び 4 の発現増強が起きるとともに、それぞれのアゴニスト誘導性の炎症性サイトカイン産生が増加した。一方で、THP1 由来マクロファージ様細胞では X 線照射によって Toll 様受容体 4 の発現が低下するとともに、アゴニスト刺激後の抗ウイルス性サイトカイン発現が X 線照射によって低下した。以上の結果より、放射線がヒト単球系細胞の Toll 様受容体の発現に及ぼす影響は細胞分化に依存することが明らかとなった。さらに、THP1 細胞およびマクロファージ様細胞の恒常的な Toll 様受容体発現に c-Jun N 末端キナーゼ (JNK) が関与し、放射線が JNK の活性化制御を介して Toll 様受容体の発現を制御することが示唆された。

【まとめ】

X 線曝露ヒト末梢血単球は樹状細胞への分化能を維持しているものの、病原体関連分子であるリポ多糖に対する応答性が低下することが明らかとなった。さらに、単球系細胞株を用いた実験より、病原体関連分子を認識する Toll 様受容体に及ぼす放射線の影響は細胞の分化段階に依存し、高分化細胞ではリポ多糖に対する応答性が低下することが明らかとなった。以上の結果より、放射線は樹状細胞の分化誘導および Toll 様受容体を介して免疫機能の低下を引き起こすことが示唆された。今後は、この機能低下の原因を解明し、改善策を見出すことで、がん放射線治療の有効性向上に繋げる。

【細則様式第1－2号続き】

学位論文のもととなる研究成果としての筆頭著者原著

論文題目	Differential induction from X-irradiated human peripheral blood monocytes to dendritic cells
著者名	Yoshino H, Takahashi K, Monzen S, Kashiwakura I.
掲載学術誌名	Journal of Radiation Research
巻, 号, 項	49, 3, 293-303
掲載年月日	2008 May

論文題目	Impairment of mature dendritic cells derived from X-irradiated human monocytes depends on the type of maturation stimulus used
著者名	Yoshino H, Kashiwakura I.
掲載学術誌名	Radiation Research
巻, 号, 項	178, 4, 280-288
掲載年月日	2012 Oct

論文題目	Ionizing radiation affects the expression of Toll-like receptors 2 and 4 in human monocytic cells through c-Jun N-terminal kinase activation
著者名	Yoshino H, Chiba K, Saitoh T, Kashiwakura I.
掲載学術誌名	Journal of Radiation Research
巻, 号, 項	55, 5, 876-884
掲載年月日	2014 Sep