



## Surface Markers of NK Cells in Peripheral Blood of Patients with Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中島, 猛行 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1316">http://hdl.handle.net/10271/1316</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 39号	学位授与年月日	昭和63年 1月22日
氏 名	中 島 猛 行		
論文題目	<p>Surface Markers of NK Cells in Peripheral Blood of Patients with Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma.  (肝硬変、肝癌患者における末梢血 NK 細胞の表面マーカーについて)</p>		

## 論文題目

## Surface Markers of NK Cells in Peripheral Blood of Patients with Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma.

(肝硬変、肝癌患者における末梢血NK細胞の表面マーカーについて)

## 論文の内容の要旨

## 〔目的〕

発癌にたいする免疫監視機構の一つとしてNK細胞が注目され、NK活性の低下が発癌に関与している可能性が示唆されている。肝硬変患者には肝癌が高率に合併するが発癌過程におけるNK細胞の変化についてはいまだ検討されていない。本研究では肝硬変患者、肝癌患者のNK活性およびNK細胞の表面マーカーを測定し、肝癌発生とNK細胞との関連性について検討した。

## 〔対象〕

健常人(Control群)38例、非アルコール性肝硬変(LC群)57例、肝硬変合併肝癌(LC+HCC群)22例である。

## 〔方法〕

NK活性の測定はK-562細胞を使用し、ET比25:1の条件で末梢血リンパ球とともにマイクロプレートにて4時間培養後上清中の $^{51}\text{Cr}$ を測定し% Cytotoxicityを算出した。またモノクローナル抗体(OKT3, OKT4, OKT8, OKM1, OKIa1, Leu7)を使用し、細胞自動解析装置(スペクトラムII)にて各種モノクローナル抗体陽性細胞の解析を行った。

## 〔結果〕

- 1) NK活性(mean  $\pm$  S.E.)はControl群  $49.7 \pm 2.2\%$  に対し、LC群  $35.6 \pm 1.8\%$ 、LC+HCC群  $27.6 \pm 3.5\%$  とLC群、LC+HCC群ともに明らかな低下を認めた( $p < 0.001$ )。またLC群とLC+HCC群の間においてもNK活性に有意差が認められた( $p < 0.05$ )。
- 2) LC群57例中50例についてNK活性の測定を経時的に40ヵ月間施行したが、NK活性は一部の症例を除き経過を通じて比較的一定した値を示した。初診時のNK活性の程度により、LC群をNK活性正常群( $n = 21$ )とNK活性低下群( $n = 29$ )に分けてNK活性の推移および肝癌発生との関連性について検討したところ、観察期間中12名に肝癌が発生し、そのうち10名がNK活性低下群に属していた。(副論文参照)。
- 3) NK細胞を認識するOKM1, Leu7 さらにNK細胞の一部と反応するOKT8の各モノクローナル抗体陽性細胞の変化を、その他のリンパ亜群の変化と比較した。リンパ球総数はLC群さらにLC+HCC群と病態の進行につれて明らかな減少傾向を示した。OKT3, OKT4, OKIa1 陽性細胞数はリンパ球総数の減少とほぼ平行する減少傾向を示したのに対し、NK細胞群での細胞数の変化はリンパ球総数の変化と平行しなかった。すなわちOKM1陽性細胞はLC群で他の亜群に比べ著しく減少し、Leu7陽性細胞の減少はLC群では軽度であったがLC+HCC群で著明に認められ、OKT8陽性細胞はLC+HCC群でリンパ球総数の変化に比べて減少する傾向がみられた。

## 〔結論〕

肝硬変患者では健常人に比べてNK活性の低下が認められ、とくにNK活性低値の肝硬変患者は肝癌発生の高危険群と考えられることから、肝癌の早期発見にはこれらの患者に注目して経過観察する必要がある。

一方、肝硬変患者におけるNK活性の低下は、高いNK活性を有し成熟したNK細胞と推定されているOKM1陽性細胞群の減少によるものであり、肝癌を合併した場合の低下は、Leu7陽性あるいはOKT

8陽性で比較的低値のNK活性を有するNK細胞群の減少が加わったためと考えられた。したがって、肝硬変や肝癌などへの病態変化の過程においては、それらのNK細胞群の分化障害、あるいは流血中への供給機構の障害が存在する可能性が推測された。

## 論文審査の結果の要旨

肝細胞癌の発症にいたる長い経過においては、多くのプロモーターが関与するといわれる。本申請者は肝疾患患者の免疫能の変化に注目し、発癌との関連を明らかにしようとした。とくに、患者の免疫監視機構のうち非特異的抗腫瘍活性を担うnatural killer (NK) 細胞活性に焦点を絞り、末梢血白血球のNK活性ならびにリンパ球亜群の変動と、肝硬変-肝細胞癌発症との関連について研究した。

審査委員会においてまとめられた本論文の特徴と評価すべき点は次のとおりである。

1. 申請者が本研究で用いた材料および方法は、研究目的を解明する上でおおむね適正である。すなわち、被検者として健康人（対照群、38例）、非アルコール性肝硬変患者（LC群、57例）、肝硬変合併肝細胞癌患者（LC+HCC群、22例）の3群を用いているが、検索数、年齢構成、背景因子いずれも適正であると判断された。また、末梢血白血球におけるリンパ球亜群の膜抗原表現型とNK活性は、フローサイトメトリーと<sup>51</sup>Cr標識K-526細胞傷害試験によりそれぞれ測定しているが、精度と再現性において問題はないと判断された。
2. NK活性に関して、LC群とLC+HCC群は健康人と比べ明らかな低値を示し、さらにLC+HCC群はLC群と比べ有意の低値を示したことから、肝疾患の進行とNK活性の低下の相関を示唆した。また、LC群（50例）をNK活性正常群（21例）とNK活性低下群（29例）にわけ、肝癌発症との関連を40ヵ月間追跡し、肝癌発症患者（12名）の大部分（10名）は低下群に属していたことを明らかにし、低NK活性と肝癌発症の関連を主張した。  
これらの所見は、肝癌の発生過程と免疫能、とくにNK活性低下の間に密接な関連性があることを肝疾患患者において実証するものであり、さらに肝癌の早期発見、治療、予後判定を行う上で示唆に富むものであることから、これらの結果に対し高い評価が与えられた。
3. NK活性を示す細胞の膜抗原表現型の解析をおこない、LC群のNK活性の低下は、主にOKM1<sup>+</sup>細胞群の減少により、一方LC+HCC群での低下は、低NK活性を示すLeu7<sup>+</sup>あるいはOKT8<sup>+</sup>細胞群の減少がそれに加味されたためであることを示した。これらの所見から、肝疾患においてはNK活性を示す細胞群の分化過程と循環系への動員機構に障害～失調が起ることを主張した。これらはきわめて示唆に富むものとして今後の発展が期待された。

以上の成果に対し下記のような質問と若干の問題点が提出され、質疑がおこなわれた。

1. 肝疾患時におけるNK細胞の分化障害の機構について、
2. 未成熟NK細胞の同定法について、
3. 肝硬変患者の肝癌への移行を予防する方法について、
4. NK活性を増強する方法について、
5. NK活性以外の免疫学的パラメーターの検索の必要性、
6. 肝疾患患者の血清に出現する免疫抑制因子の変動と、そのNK活性に与える影響について、

以上の点に対して、申請者はおおむね適切な回答をおこない、残された問題については今後さらに追求する旨の回答がなされた。

以上の審査の結果、本審査委員会は本論文が学位授与に値する十分な内容をそなえているものと、全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山	下	昭			
	副査	教授	松	下	寛	副査	教授	吉 見 輝 也
	副査	助教授	金	子	栄 蔵	副査	助教授	小 出 幸 夫