

- uction and inhibition by humoral antibody and nature of effector cells. *Transplant. Rev.*, 13 : 91, 1972.
- 7) 矢野啓介, Lucas, Z.J. : ^{86}Rb を用いた細胞傷害試験, 免疫実験操作法 VI, 1791, 1977.
- 8) Walker, S.M. and Lucas, Z.J. : Role of soluble cytotoxins in cell-mediated cytotoxicity. *Transplant. Proc.*, 5 : 137, 1973.
- 9) Gately, M.K., Mayer, M.M. and Henney, C.S. : Effect of antilymphotoxin on cell mediated cytotoxicity. Evidence for two pathways, one involving lymphotoxin and the other requiring intimate contact between the plasma membranes of killer and target cells. *Cell. Immunol.*, 27; 82, 1976.
- 10) Hiserodt, J.C. and Granger, G.A. : Inhibition of human lymphocytemediated mitogen-induced cytotoxicity of murine L 929 cells by heterologous anti-human lymphotoxin antisera in vitro. *J. Immunol.*, 119 : 374, 1977.

2. NK 細胞, K 細胞の作用機序

小出 幸夫*・吉田 孝人**

I. はじめに

ヒトそしてマウスにおいて発見された natural killer (NK) 細胞は同系, 同種そして異種の腫瘍細胞を明らかな感作なくして障害する¹⁻³⁾. そこでこれが免疫学的監視機構の役割を担っているのではないかとの期待のもとに多くの研究が積み重ねられてきた. また, 最近では移植された造血幹細胞を障害または制御する細胞が NK 細胞と類似した性格をもつことも報告され, 腫瘍免疫以外の領域でも NK 細胞は注目を集めている⁴⁾.

さらに, Roder ら⁵⁾はページ・マウスにおいて T 細胞, マクロファージの機能が正常であるにもかかわらず NK 活性のみを欠如していること, そしてヒトにおいて

も Chediak-Higashi 症候群がページ・マウスに相当して NK 活性が低下していることを発見し⁶⁾, NK 細胞の experiment of nature としての立場も出てきた.

ヒトにおいては, このような NK 細胞の性格は antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) の担当細胞である K 細胞のそれとほとんど共通しており, 現在までの方法では両者を明確に分離することは困難である. それゆえ, NK 細胞と K 細胞の比較分析を行うことは NK 細胞の作用機序を知るうえで重要である.

II. NK 細胞と K 細胞の性格

ヒト NK 細胞と K 細胞の性格をまとめ表 1 に示した. NK, K 細胞とも, 用いた標的細胞, 実験方法によりその

表 1 ヒト NK 細胞と K 細胞の性格

	NK 細胞	K 細胞
T-cell markers	± (Low affinity E-RFC)	±
Complement receptors	± (A few NK or K cells might possess the receptors)	±
IgG-Fc receptors	+++	+++
Surface membrane immunoglobuline	-	-
Phagocytosis	-	-
Adherence capacity	-	-
Aggregated Ig	Inhibition	Inhibition
Effect of aging	-	-

*浜松医科大学輸血免疫部, **同 微生物学教室

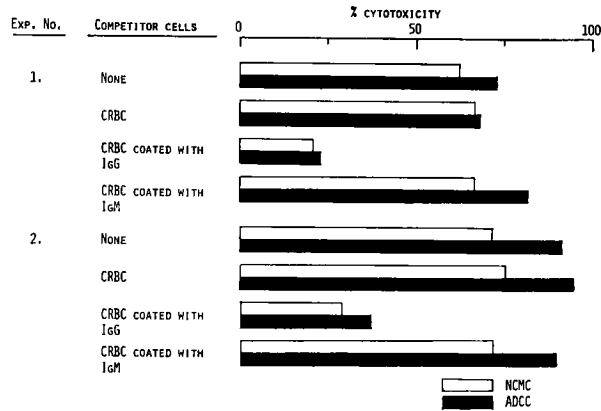


図1 ADCCのcold標的細胞がNK細胞に及ぼす影響

性格が若干異なることは周知のことである。ここでは、NK細胞活性はK562またはリンパ系培養細胞株を標的細胞として4時間⁵¹Cr遊離法を用い、K細胞活性は抗リンパ球抗体(ALS)を感作したRaji、または末梢リンパ球を標的細胞として、やはり4時間⁵¹Cr遊離法を用いた。Rajiを使用した場合はこれに対するNK活性をbackgroundとしてADCC活性より減じた。

Westら⁷⁾が報告したごとく、NK細胞、K細胞は両者とも、低温でneuraminidase処理ヒツジ赤血球とロゼットを形成する(low affinity E-RFC)。Pross, Jondal⁸⁾は最初NK細胞はC3レセプターを保有していると報告したが、われわれも含め他の研究者らはこれを確認しなかった。しかしながら、Pross⁹⁾らそしてPerlmann¹⁰⁾は少数のNKそしてK細胞(~30%)はC3レセプターを保有していることを証明している。IgG・Fcレセプターは、NK、K細胞とも、もっとも容易に観察される。しかし、monolayerを標的細胞にした場合、またはマウスにおいてNK細胞にFcレセプターを検出するのは容易ではない^{11,12)}。NKそしてK細胞は表面免疫グロブリンを保有せず、粘着能も示さない。Aggregated IgGを添加することによりNK、K活性はともに抑制される。マウスにおいてはNK活性は生後5-9週にpeakに達し、その後低下することはよく知られているが^{2,3)}、ヒトにおいては加齢の影響は認められなかった。これはK細胞においても同じであった。

III. KN細胞とK細胞はすくなくともoverlapする細胞集団に属する

前項で述べたように、NK細胞とK細胞は共通した性格を示す。そこで機能的に両者を検討するため、competition assayを用いた。すなわち、⁵¹Crを標識し

たK562を標的細胞としたシステムにADCCの標的細胞であるIgGまたはIgMを感作したニワトリ赤血球(CRBC)をcold競合細胞として加えた(hot:cold=1:30)。なお、この際用いたeffector cellは貪食細胞があらかじめ除去してある。

図1に示すように、IgGを感作したcold CRBCのみがNK活性を著明に抑制しえた。しかしながら、ここに結果は示さないがADCCのシステムにcold K562を過剰に加えてもほとんどK細胞活性に影響を与えなかった。これらの事実はすくなくとも3つの可能性を示唆している。すなわち、(1)K細胞集団の一部がNK細胞集団である。(2)NK細胞とN細胞は、ほぼ同一の細胞集団に属するが、FcレセプターのFc部分(ADCC標的細胞に付着した抗体の)に対するavidityがNKレセプター(もし存在するなら)のそれよりも強い。(3)NK細胞とK細胞はまったく異なる細胞集団に属するが、NK細胞にcoldのADCC標的細胞を加えることによりFcレセプターを介し、steric hindranceをおこしその活性をあらわせなくなる。

これらの疑問を解決するため、NK細胞がK562に付着するという性質¹⁵⁾を利用して、末血リンパ球よりK562に付着したNK細胞をdiscontinuous FCS gradientにかけ除去し、NK活性とK活性を検討した。図2に見るごとく、標的細胞付着細胞(TBC)を除去した末梢リンパ球はNK活性のみならずK活性をも減ずる。しかしながら、NK細胞をrichにした場合(標的細胞を機械的にはずし、ふたたびdiscontinuous FCS gradientにかけた)は、強いNK活性を示した。これらのことは前記した可能性のうち(2)の可能性が強いことを示唆している。すなわち、NK細胞とK細胞はすくなくともoverlapする細胞集団に属しているといえる。

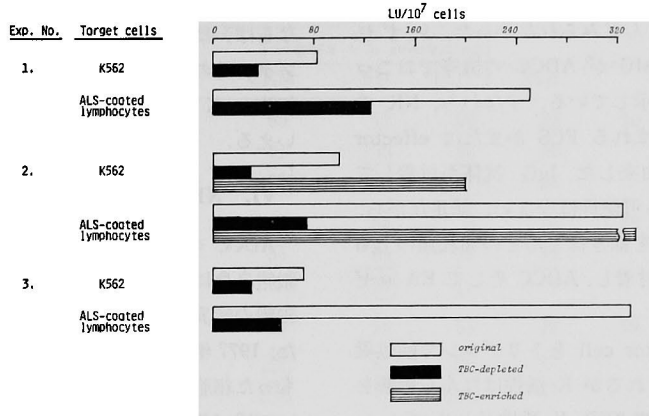


図 2 末梢リンパ球から NK 細胞を除去した際の NK, K 細胞活性

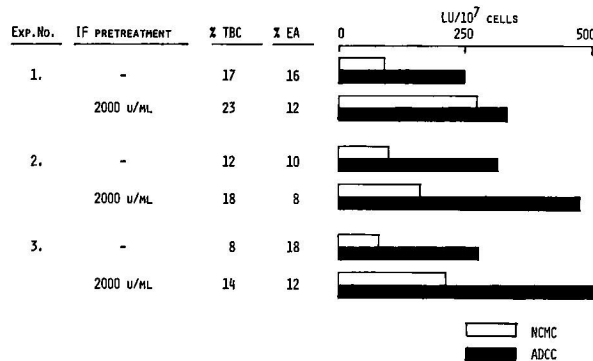


図 3 インターフェロン前処置の NK, K 細胞活性への影響

IV. インターフェロンによる NK 細胞活性と K 細胞活性の増強

われわれは末梢リンパ球をマイトマイシン C 処理したリンパ系腫瘍細胞株とともに培養するとその上清中に NK 活性をたかめる NAF が放出されることを認めた¹⁴⁾。そしてまた、この NAF は NK のみならず K 活性をもたかめた。NK 活性はまた、インターフェロンによって増強されることは周知の事実である¹⁵⁾。そこでインターフェロンが K 活性をもたかめるかどうかを検討したところ図 3 のように、インターフェロン (Type 1) 2,000 u/ml の前処置により NK 活性のみならず K 活性もたかめられた。このことは前項で述べた結論、すなわち、NK 細胞と K 細胞はほぼ同じ細胞であることをさらに示唆するものである。

V. NK 細胞と K 細胞の作用機序は異なる

NK 細胞と K 細胞は類似した性格を示し、ほぼ同じ細

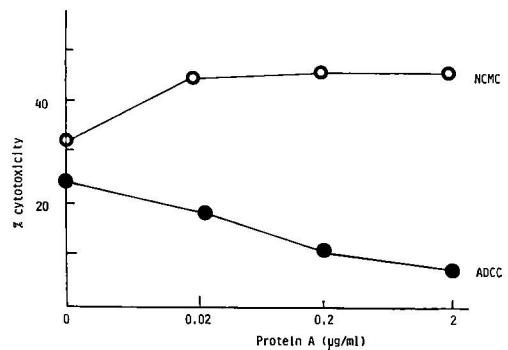


図 4 Protein A の NK, K 細胞活性への影響

胞集団に属するが、それらの作用機序に関わる点ではいくつかの相異点が認められる。図 4 にみられるように、Protein A を natural cell-mediated cytotoxicity (NCMC) と ADCC の培養液中に添加すると ADCC 活性は著明に抑制されるが、NCMC 活性は抑制されず、むしろ増強される。ADCC, NCMC の標的細胞を Protein A

で前処置しても同様の結果が得られたが、この場合は NCMC 活性の増強はほとんどみられなかった。いずれにしても、このことは NCMC が ADCC の機序でおこっているのではないことを示している。すなわち、NK の標的細胞に培養液中に含まれる FCS かまたは effector cell 中の B 細胞より由来した IgG 抗体が付着して ADCC 様活性が出現する可能性は少ない。蛇足ながら、Protein A はヒト IgG 3 を除きほとんどの哺乳類の IgG サブクラスの Fc 部分に付着し、ADCC そして EA ロゼット形成を阻止する¹⁶⁾。

われわれは以前、effector cell をトリプシンで前処置すると NK 活性は障害されるが K 活性はなんら影響を受けないことを認めた (表 2)¹⁷⁾。K 活性がトリプシン処置により影響を受けないことは Fc レセプターがトリプシンに抵抗性である¹⁸⁾ことから容易に理解される

表 2 トリプシン処理の NK, K 細胞活性に及ぼす影響

EXP No.	Concentration of trypsin	% cytotoxicity	
		Molt 4	ADCC
1.	—	60	36
	0.10%	50	35
	0.25%	34	41
2.	—	86	45
	0.10%	71	45
	0.25%	58	44
3.	—	28	63
	0.10%	28	69
	0.25%	22	77

が、この結果はむしろ、NK レセプター (もし存在するならば) はトリプシンに感受性のものであり、Fc レセプターそのものではないことを示している。つまり、NK 細胞と K 細胞は異なった作用機序をあらわしているといえる。

VI. NK 細胞の選択性 (selectivity) について

ADCC の特異性は標的細胞に付着した抗体にあり、K 細胞自身にはないことはよく知られている。しかし、NK 細胞の特異性については詳細な検討はなされていなかった。1977 年にわれわれは NK 細胞がおのおの選択性をもった細胞の集団であると報告した¹⁹⁾。以下、これについて述べる。

表 3 Cross-competition assay (CCA) を用いた NK 細胞の選択性の検討

Competitor cells	% cytotoxicity on targets			
	CEM	SB	HSB-2	Raji
None	63	42	80	31
CEM	6	35	32	21
SB	60	15	78	23
HSB-2	19	38	38	24
Raji	46	15	66	5
Molt4F	6	38	40	7
8402	25	39	70	11
NC37	35	38	62	5
K562	10	23	38	13
8382	62	40	52	28

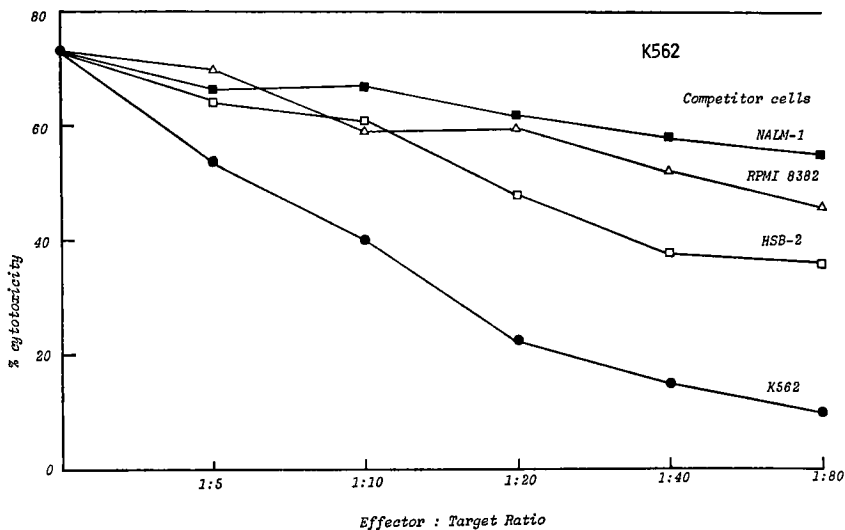


図 5 NK 細胞に対する競合試験

表 4 CCA の結果に対する Interaction Analysis の適用

Competitor cells	Inhibition	Targets (% Inhibition)				Average
		CEM	SB	HSB-2	Raji	
CEM	Observed	90	17	60	32	50
	Expected	61	35	43	60	
	Selective	29	-18	17	-28	
SB	Observed	5	64	3	26	25
	Expected	36	10	18	35	
	Selective	-31	54	-15	-9	
HSB-2	Observed	70	10	53	23	39
	Expected	50	24	32	49	
	Selective	20	-14	21	-26	
Raji	Observed	27	64	18	84	48
	Expected	59	33	41	58	
	Selective	-32	31	-23	26	
Molt 4F	Observed	90	10	50	77	57
	Expected	68	42	50	67	
	Selective	22	-32	0	10	
8402	Observed	60	7	13	65	36
	Expected	47	21	29	46	
	Selective	13	-14	-16	19	
NC37	Observed	44	10	23	84	40
	Expected	51	25	33	50	
	Selective	-7	-15	-10	34	
K562	Observed	84	45	53	58	60
	Expected	71	45	53	70	
	Selective	13	0	0	-12	
8382	Observed	2	5	35	10	13
	Expected	24	2	6	23	
	Selective	-22	7	29	-13	
Average		52	26	34	51	41

K 562 を標的細胞とした NCMC のシステムに cold の K 562 と数種のリンパ系培養細胞株をさまざまな割合で加えた場合、図 5 にみるように、K 562 がもっともよくこの NK 活性を抑制し、NALM-1 がもっとも弱かった。しかしながら、このことはただだんに標的細胞である K 562 に共通する “target structure²⁰⁾” が K 562 から NALM-1 に至るまで徐々に少なくなっていくことを示すにすぎず、NK 細胞自身の特異性または選択性は検討できない。そこでわれわれは、すくなくとも 4 種の標的細胞に対して、これを含む cold 競合細胞を添加する cross-competition assay というシステムを考案した (表 3)。これに Interaction Analysis²¹⁾ を適応し、競合細胞の大きさの差などによる機械的な nonselective な影響を除

外すると表 4 に示すように、標的細胞に使用した細胞を競合細胞に使用したときにもっともよく NK 活性の抑制がかかることがわかる。さらにこれらの細胞間には cross-reaction が認められる。この結果を理解するために図 6 のようなモデルを考えた。(1) NK 細胞がまったく選択性をもたず、すべての標的細胞を均等に attack するならば、どの競合細胞もこれらの標的細胞に対する NK 活性を均等に抑制する。(2) 1 個の NK 細胞が数種の target structure に対するレセプターを保有している場合も同じく、どの競合細胞でも抑制がかかる。(3) おおのの NK 細胞が異なった target structure に対するレセプターを保有している場合は、その細胞集団は A, B, C すべての標的細胞を障害しうるが、cross-competition

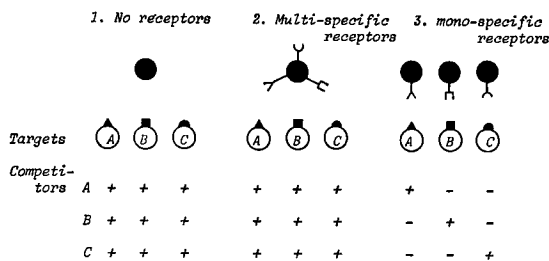


図 6 Interpretations of the cross-competition Assay

assay においては、標的細胞と同じ細胞を競合細胞に使用したときにもっともよく抑制がかかる。これらのモデルより、前記した実際結果は(3)の可能性をもっとも強く支持していることがわかる。つまり、NK 細胞集団はおのおの異なった target structure に対するレセプターを保有しているらしい。

文

- 1) Takasugi, M., Mickey, M.R. & Terasaki, P.I. : Cancer Res., 33 : 2898, 1973.
- 2) Kiessling, R., Klein, E. & Wigzell, H. : Eur. J. Immunol., 5 : 112, 1975.
- 3) Herberman, R.B., Nunn, M.E. & Larvin, D.H. : Int. J. Cancer, 16 : 216, 1975.
- 4) Cudkowicz, G. & Hochman, P.S. : Immunological Rev., 44 : 13, 1979.
- 5) Roder, J.C. & Duwe, A.K. : Nature, 278 : 451, 1979.
- 6) Roder, J.C., Haliotis, Y., Klein, M. et al. : Nature, 284 : 553, 1980.
- 7) West, W.H., Cannon, G.B., Kay, H.D. et al. : J. Immunol., 118 : 355, 1977.
- 8) Pross, H.F. & Jondal, M. : Clin. Exp. Immunol., 21 : 226, 1975.
- 9) Pross, H.F., Baines, M.G. & Jondal, M. : Int. J. Cancer, 20 : 353, 1977.
- 10) Perlmann, P., 私信
- 11) Eremin, O., Coombs, R.R.A., Plumb, D. & Ash-

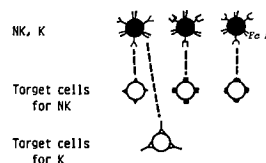


図 7 A speculative model of NK and K cell killing

VII. ま と め (図7)

NK 細胞と K 細胞はほぼ同じか、すくなくとも overlap する細胞集団に属している。そしてこれらの overlap する細胞集団は IgG·Fc レセプターとおのおの異なった標的細胞に選択的に作用する NK レセプターの両者を保有し、IgG·Fc レセプターが ADCC 活性をあらわし、NK レセプターが NCMC 活性をあらわすと考えられる。

献

- by, J. : Int. J. Cancer, 21 : 42, 1978.
- 12) Kiessling, R., Petrányi, G., Kaire, K. et al. : J. Exp. Med., 143 : 772, 1976.
- 13) Roder, J.C. & Kiessling, R. : Scand. J. Immunol., 8 : 135, 1978.
- 14) Koide, Y. & Takasugi, M. : J. Immunol., 121 : 872, 1978.
- 15) Trinchieri, G. & Santoli, D. : J. Exp. Med., 147 : 1314, 1978.
- 16) Kronvall, G. & Williams, R.C. : J. Immunol., 103 : 828, 1969.
- 17) Koide, Y. & Takasugi, M. : J. Natl. Cancer Inst., 59 : 1099, 1977.
- 18) Dickler, H.B. : J. Exp. Med., 140 : 508, 1974.
- 19) Takasugi, M., Koide, Y., Akira, D. & Ramseyer, A. : Int. J. Cancer, 19 : 291, 1977.
- 20) Roder, J.C., Ahrlund-Richter, L. & Jondal, M. : J. Exp. Med., 150 : 471, 1979.
- 21) Takasugi, M. & Mickey, M.R. : J. Natl. Cancer Inst., 57 : 255, 1979.