

**【目的】** 1型自然リンパ球 (ILC1) は肝臓に豊富に存在し、インターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生能を有し、組織修復・保護に働く。近年、ILC1が酸素ストレス応答を介してIFN- $\gamma$ を産生することが示唆されている。これらのことから、ILC1は酸素ストレス応答を有し、IFN- $\gamma$ を産生することで肝保護に働くと推論される。そこで、ILC1で高発現するグルタミン酸受容体に着目し、免疫細胞遺伝子発現データベース ImmGenにて発現解析を実施したところ、代謝型グルタミン酸受容体 mGluR4をエンコードする *Grm4*が高発現することを見出した。しかし、詳細な分子制御機構と ILC1の虚血性障害における役割は明らかとなっていない。そこで本研究では、肝虚血再灌流障害 (IRI) モデルマウスを用いて ILC1の酸素ストレス応答と病態増悪機構を解明した。

**【方法】** 1. 肝 IRI 後の血中グルタミン酸濃度及び ILC1 の mGluR4、IFN- $\gamma$  発現解析：ナイーブ肝、虚血中及び肝 IRI 1 時間後のマウスから血漿を採取し、血中グルタミン酸濃度を解析する。また、ナイーブ肝 ILC1、虚血中及び肝 IRI 1 時間後の肝 ILC1 の細胞数、mGluR4 及び IFN- $\gamma$  の発現を FACS 及び qPCR で解析した。2. mGluR4 の二量体形成の解析：代謝型グルタミン酸受容体の大部分は、二量体を形成することで下流のシグナルが活性化される。そこで、ナイーブ肝 ILC1、虚血終了直後及び肝 IRI 1 時間後の ILC1 を純化し、二量体形成をウェスタンブロット法により解析した。3. IFN- $\gamma$  依存的炎症性細胞動員数及び肝障害の評価：野生型及び *Ifng*<sup>-/-</sup>マウスに肝 IRI を惹起し、5 時間後の肝臓における好中球、炎症性単球、クッパー細胞、樹状細胞数を評価した。また、血中 ALT、肝壊死領域を評価した。4. IFN- $\gamma$  依存的肝保護因子の同定：抗炎症性サイトカインに着目し、肝 IRI 5 時間後の好中球、炎症性単球、クッパー細胞、樹状細胞の IL-10 の発現を qPCR で解析した。5. IFN- $\gamma$  を介した IL-10 依存的肝障害の評価：野生型及び *Ifng*<sup>-/-</sup>マウスに肝 IRI を惹起し、虚血終了直後に IL-10 中和抗体を投与する。肝 IRI 6 時間後の血中 ALT 及び肝壊死領域を評価した。

**【結果】** 肝 IRI 後の血中グルタミン酸濃度及び ILC1 の mGluR4、IFN- $\gamma$  発現解析：ナイーブ肝と比較して、虚血終了直後のグルタミン酸濃度に変化はなかったが、肝 IRI 1 時間後のグルタミン酸濃度は有意に増加した。虚血直後、肝 IRI 1 時間後に mGluR4 陽性 ILC1 は確認されたが、陽性細胞数の割合に変化はなかった。一方、肝 IRI 1 時間後の肝 ILC1 の *Ifng* mRNA 発現量は有意に増加した。肝 IRI 5 時間後の炎症性細胞数を比較したところ、IFN- $\gamma$  欠損マウスでは、野生型マウスと比較して好中球及び炎症性単球の細胞数が有意に減少した。また、肝 IRI 5 時間後の炎症性細胞における *Il10* mRNA 発現量を解析したところ、好中球で *Il10* 発現量が有意に増加した。最後に野生型及び IFN- $\gamma$  欠損マウスに肝 IRI を惹起し、虚血終了直後に IL-10 中和抗体を投与し肝障害を評価したところ、野生型マウスではコントロール抗体を投与したマウスと比較して、肝障害が増悪した。一方 IFN- $\gamma$  欠損マウスでは肝障害に差異はなかった。

肝 IRI における酸素ストレス応答を介した ILC1 の肝保護機構

