



Title	Transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ) -mediated immunosuppression in the tumor-bearing state : Enhanced production of TGF- $\beta$ and a progressive increase in TGF- $\beta$ susceptibility of anti-tumor CD4+T cell function
Author(s)	李, 曉斐
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38112">https://hdl.handle.net/11094/38112</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	李 曉 斐
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 6 2 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 5 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ )-mediated immuno-suppression in the tumor-bearing state: Enhanced production of TGF- $\beta$ and a progressive increase in TGF- $\beta$ susceptibility of anti-tumor CD4 <sup>+</sup> T cell function (担癌宿主のTGF- $\beta$ 免疫抑制機構：担癌状態の進行に伴ったTGF- $\beta$ 産生の増強と抗腫瘍CD4 <sup>+</sup> T細胞のTGF- $\beta$ 感受性の漸増)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 濱岡 利之 (副査) 教 授 平野 俊夫 教 授 森 武貞

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

担癌宿主における免疫抑制は衆知の事実であるが、この免疫抑制の機序についてはまだ解明されていない点が多い。近年、腫瘍細胞より産生されるTGF- $\beta$ が担癌状態における免疫抑制に関与することが注目されるようになった。TGF- $\beta$ が一般抗原に対するCD4<sup>+</sup>細胞の抗原応答性を抑制することはわかっているが、担癌宿主における抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Th細胞の機能低下とTGF- $\beta$ との関連についてはまだ明らかでない。そこで本研究はTGF- $\beta$ による担癌宿主の免疫抑制機構を詳細に解析するために、各時期の担癌マウスを用いて、その抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Th細胞によるリンホカインの産生能の変化、さらにTGF- $\beta$ の影響について検討した。

#### (方法ならびに成績)

##### 1) 担癌宿主における抗腫瘍CD4<sup>+</sup>ヘルパー(Th)細胞の機能

BALB/cマウス由来RSV誘発線維肉腫細胞(CSA 1 M)を同系マウスの背部皮内に移植し、種々のステージの担癌マウスを作製した。抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Th細胞の機能解析は担癌宿主脾細胞をin vitroで培養し、その培養上清(2日間)中のIL-2とmacrophage-activating factor(MAF)活性を測定することにより行った。IL-2はCTLL-2細胞の増殖を指標として、MAF(INF- $\gamma$ )は腹腔マクロファージのX5563腫瘍に対するcytostasis誘導能で検出した。担癌2-3wkマウス由来の脾細胞の培養上清中には高いIL-2とMAF活性が検出され、このステージのCD4<sup>+</sup>Th細胞はin vitroで高レベルのリンホカインを産生しうることを示した。このリンホカイン産生は抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Th細胞と腫瘍抗原を保持、提示しているAPCの協同作用によることも確認された。

##### 2) 担癌各時期におけるTh1 CD4<sup>+</sup>Th細胞の機能変化

次に抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Th細胞によるリンホカイン産生能の推移を見たところ、IL-2の産生は担癌2-3wkにピークを示し、その後、担癌ステージの進行と共に減弱した。一方MAFの産生は担癌ステージの進行に関わりなく、後期に至るまで高レベルに維持された。即ち、抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Th細胞によるIL-2とMAF産生能は担癌ステージの進行に伴って、それぞれ異なるパターンを示した。以上のように担癌ステージの進行に伴って、IL-2産生を担うTh1細胞の機能は次第に低下し、そのメカニズムについては、担癌宿主の免疫調節機構或は腫瘍由来の抑制因子を介するものと考えられる。その成因を追究するため、以下の実験を行った。

### 3) Th1-Th2 cross-regulation による IL-2 産生能低下の可能性

CD4<sup>+</sup> Th 細胞のうち、IL-4 を産生する Th2 細胞は Th1 細胞の機能を抑制すると考えられている。そこで上記の Th1 細胞の機能低下は Th2 細胞の機能亢進に基づくものか否かを検討した。IL-4 活性は CT.4S 細胞の増殖 Assay により測定した。その結果、担癌早期における高レベルの IL-4 の産生は IL-2 と同様に担癌ステージの進行と共に抑制された。即ち、担癌状態において、Th1 と Th2 両タイプの CD4<sup>+</sup> Th 細胞は平行してその機能が低下することから、担癌宿主における IL-2 産生の低下は Th-2 の機能亢進によるものではないことが明らかになった。

### 4) 担癌各時期の CD4<sup>+</sup> Th 細胞の機能に対する TGF- $\beta$ の影響

腫瘍細胞が産生する免疫抑制因子の一つである TGF- $\beta$  の CD4<sup>+</sup> Th 細胞機能低下との関連を検討するために、担癌マウス由来の脾細胞培養中に TGF- $\beta$  を添加し、担癌各時期における CD4<sup>+</sup> Th 細胞による IL-2 と MAF 産生能への影響を調べた。担癌早期において、高レベルの IL-2 産生は TGF- $\beta$  の添加によって、約30-40%の抑制が見られた。担癌ステージが進行すると、すでに著明に低下した IL-2 の産生は TGF- $\beta$  の添加により、さらに抑制された。一方、MAF の産生能は担癌全期にわたって、高いレベルを示したが、担癌早期においての in vitro MAF 産生は TGF- $\beta$  の添加により、抑制されなかった。しかし、担癌ステージの進行に伴って、MAF 産生に対する TGF- $\beta$  の抑制効果は進行的に増強し、担癌後期になると、MAF 産生は強く抑えられた。このことより担癌後期の CD4<sup>+</sup> Th 細胞は TGF- $\beta$  に対する感受性が高いことが示唆された。

### 5) 担癌宿主血中 TGF- $\beta$ の濃度変化

ほとんどの腫瘍細胞が多量の TGF- $\beta$  を産生するという事実に基づいて、各時期の担癌宿主の血中の TGF- $\beta$  活性 (Mv1Lu 細胞の増殖抑制による検出) を調べた。その結果、担癌ステージ進行に伴い、血中の TGF- $\beta$  活性が次第に高くなっていることが認められた。また、この TGF- $\beta$  活性は抗 TGF- $\beta$  抗体の添加により、ほぼ完全に中和されたことより、この Assay で検出された TGF- $\beta$  活性は TGF- $\beta$  分子によることが確認された。

#### (総括)

担癌時期の進行に伴い、CD4<sup>+</sup> Th 細胞の機能は進行的に低下した。その成因は Th1-Th2 cross-regulation による抑制現象に基づくものではなく、腫瘍由来の抑制因子が働いていることが示唆された。担癌時期の進行に伴い、担癌宿主血中の TGF- $\beta$  は次第に増加し、これに並行して、TGF- $\beta$  に対する CD4<sup>+</sup> Th 細胞感受性も漸増した。以上のことから、担癌宿主において、腫瘍細胞由来の TGF- $\beta$  は重要な抑制因子として、CD4<sup>+</sup> Th 細胞の機能抑制に関与していると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、担癌宿主における免疫抑制機構を解析するために、腫瘍細胞由来免疫抑制因子としての TGF- $\beta$  と担癌マウスの抗腫瘍 CD4<sup>+</sup> Th 細胞機能の低下との関連を検討したものである。即ち、担癌時期の進行に伴い、CD4<sup>+</sup> Th 細胞の機能は進行的に低下した。その成因は Th1-Th2 cross-regulation による抑制現象に基づくものではなく、腫瘍由来の抑制因子が働いていることが示唆された。また、担癌時期の進行に伴い、担癌宿主血中の TGF- $\beta$  は次第に増加し、これに並行して、TGF- $\beta$  に対する CD4<sup>+</sup> Th 細胞感受性も漸増した。以上のことから、担癌宿主において、腫瘍細胞由来の TGF- $\beta$  は重要な抑制因子として、CD4<sup>+</sup> Th 細胞の機能抑制に関与していると考えられる。

このような TGF- $\beta$  による担癌宿主の抗腫瘍 CD4<sup>+</sup> Th 細胞機能抑制に関する知見は、今後の担癌状態における免疫抑制機構及びその免疫抑制解除の研究にとって、重要な基盤を築くものと考えられ、本論文は学位に値するものと認められる。