The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tumor-bearing mice exhibit a progressive increase in tumor antigen-presenting cell function and a reciprocal decrease in tumor antigen-responsive CD4+T cell activity
Author(s)	左, 建平
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38947
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【14】

氏　　名	左　建　平（さ　けん　べい）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　11252　号
学位授与年月日	平成6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	Tumor-bearing mice exhibit a progressive increase in tumor antigen-presenting cell function and a reciprocal decrease in tumor antigen-responsive CD4$^+$ T cell activity : **（担癌マウスにおける腫瘍抗原提示細胞機能の漸増と抗腫瘍 CD4$^+$ T 細胞応答能の漸減の逆相関）**
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）

担癌宿主においては種々の免疫抑制機構が報告されている。又この抑制はほとんどの場合，主にT細胞機能の低下によることが知られている。我々はこれまでの研究により，一般抗原に対するキラーT細胞（CTL）誘導系において，担癌宿主のCD4$^+$ T細胞サブセット（CTL生成に関与するヘルパーT細胞が含まれる）の機能はCD8$^+$ T細胞サブセット（CTL前駆細胞を含む）に比し著明に抑制されていること，又CD4$^+$ ヘルパーT細胞（Th）の機能低下は腫瘍細胞により産生されるTGF-β によることを明らかにしてきた。CD4$^+$ Thは抗原提示細胞（APC）表面に発現されたclass II major histocompatibility complex（MHC）と結合した抗原を認識することにより活性化される。その為，CD4$^+$ Th機能の抑制はCD4$^+$ Th細胞自身又はAPC機能の抑制のいずれかに依るものと考えられる。そこで本研究は，担癌各ステージにおける抗腫瘍CD4$^+$ Th機能（IL-2等のリンホカイン産生能を指標とした）とAPCの腫瘍抗原提示活性を別個に測定することにより担癌状態のCD4$^+$ Th機能抑制の詳細な細胞性機構を解析することを目的とした。

（方法ならびに成績）

1．抗腫瘍リンホカイン産生応答細胞のフェノタイプの解析

正常BALB／cマウス又はCSA1M線維肉腫担癌マウス（CSA1M腫瘍移植後2-3週目のマウス）の脾細胞全画分を48時間培養した。この培養にはexogenous腫瘍抗原が加えられなかったが，担癌マウス脾細胞の培養上清に強いIL-2とmacrophage activating factor（MAF）活性が検出された。一方正常マウスの脾細胞培養上清にはこれらリンホカイン活性が検出されなかった。これらリンホカイン産生を担うT細胞のフェノタイプ決定する為，担癌マウス由来脾細胞を抗CD4又はCD8抗体＋補体で処理することにより，それぞれCD4$^+$ 又はCD8$^+$ T細胞分画を除去した後同様の培養を行った。その結果，IL-2とMAFの産生はCD4$^+$ Thによることが明らかになった。

2．担癌マウスCD4$^+$ T細胞とAPCの相互作用による抗腫瘍IL-2／MAF産生

担癌マウスの脾細胞をナイロンウールカラムに通過させることによりAPC集団を除去し，T細胞集団を得た。これを応答細胞として培養した場合，即ちT細胞集団のみではIL-2／MAF産生は認められなかった。このT細胞集団を正常或いは担癌マウス由来APC（APC集団は脾細胞をBSA密度勾配遠心することによって得た）と混合培養したところ，後者との培養によってのみIL-2とMAF産生が認められた。この結果は担癌マウス脾細胞中のCD4$^+$ Th

は共存するAPCとの相互作用によってのみリンホカイン産生応答を惹起できることを示す。次にMeth A担癌BALB／cマウスのAPC集団を作成し（Meth AはBALB／c由来の別の腫瘍細胞である），これをCSA1M担癌マウスT細胞と混合培養したところ，$CD4^+$ Thによるリンホカイン産生はみられなかった。これらの結果より，担癌マウス脾細胞によるリンホカイン産生は腫瘍特異的$CD4^+$ Thと該当腫瘍抗原を保持・提示しているAPCとの腫瘍抗原特異的な相互作用に依ることが証明された。

3．種々のステージの担癌マウス脾細胞による抗腫瘍リンホカイン産生応答

各ステージの担癌マウス脾細胞のIL-2産生能を調べたところ，抗腫瘍$CD4^+$ ThのIL-2産生能は担癌2-3週頃をピークとしてその後次第に減弱してゆき，担癌8-10週頃にはその機能は著明に低下していることが明らかとなった。この結果より担癌後期（8-10週）の$CD4^+$ Th応答の抑制は$CD4^+$ Th自身又はAPCの機能不全のいずれに依るものかという問題が生じてきた。この点についての解析を次項の実験で行った。

4．種々のステージ担癌マウス脾細胞の抗腫瘍$CD4^+$ Th及びAPC機能

各ステージの担癌マウス脾細胞よりT細胞とAPCを分別単離した。まずCSA1M免疫マウス（免疫マウスはCSA 1M担癌マウスの腫瘍塊を外科的に切除し，その後CSA1M生細胞の攻撃接種に耐えたマウスを用いた）よりT細胞集団を単離し，これを一定の応答細胞として種々の担癌ステージマウス由来のAPCで刺激した。この実験系で一定の応答細胞を用いている為，担癌各ステージにおけるAPCの腫瘍抗原刺激能を測定できる。その結果，担癌ステージの進行したマウス由来のAPCほど抗腫瘍$CD4^+$ Th刺激能が高いことがわかった。次に担癌早期（2-3週目頃）又は担癌後期（8-10週目頃）のT細胞集団を担癌8週APCで刺激した。担癌早期の抗CSA1M $CD4^+$ Th細胞は強いIL-2産生を惹起できるのに対し，担癌後期のTh細胞の応答は著明に減弱していた。これらの結果より担癌後期における$CD4^+$ Th応答の低下はAPCよりはむしろ$CD4^+$ Th自身の機能不全によることが明らかとなった。

（総括）

以上，本研究は(1)担癌状態においては抗腫瘍$CD4^+$ Th応答の抑制が起こるが，この応答は担癌早期に一旦高いレベルに誘導されており，担癌ステージの進行と共に抑制されてゆくこと；(2)担癌後期における抗腫瘍$CD4^+$ Th応答の抑制は$CD4^+$ Th自身の機能不全によるものであること；(3)その際腫瘍抗原を生体内で保持・提示しているAPCの機能は担癌後期には早期に比し強くなっていることを証明した。

論文審査の結果の要旨

担癌状態では$CD4^+$ ヘルパーT細胞（Th）機能を中心とした免疫抑制がみられるが，その抑制機構は必ずしも明らかにされていない。すなわち，抗腫瘍$CD4^+$ Thは担癌初期より活性化されることなく抑制されているのか，或いはいったん活性化された後抑制されるのか，後者の場合はいかなる機構によるのかなどである。

この疑問に答える為，本研究は担癌各時期の脾細胞中の$CD4^+$ ThとAPCを分別単離し各々の機能を別個に測定した。その結果，（ｉ）担癌ステージの進行したマウス由来APCほど抗腫瘍$CD4^+$ Th刺激能が高いこと；（ii）また担癌早期の抗腫瘍$CD4^+$ Th細胞は強いIL-2産生を惹起できるのに対し，担癌後期のTh細胞の応答は著明に減弱していることが明らかにされた。即ち，担癌後期における$CD4^+$ Th応答の低下はAPCよりはむしろ$CD4^+$ Th自身の機能不全によること，およびその際腫瘍抗原を生体内で保持・提示しているAPCの機能は，担癌後期には早期に比し強くなっていることが証明されたことになる。したがって，本研究は担癌宿主における$CD4^+$ Th自身の機能抑制の分子機構を今後詳細に検討してゆく上で重要な知見を提供するものと考えられる。

以上のことから本論文は学位に値するものと思われる。