

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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	左 建 平
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 CSA1M 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。