

Title	Regulatory Mechanisms for Production of IFN- $\gamma$ and TNF by Antitumor T cells or Macrophages in the Tumor-bearing State
Author(s)	山本, 紀彦
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39863">https://hdl.handle.net/11094/39863</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">〈a href="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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	山本紀彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第12365号
学位授与年月日	平成8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	Regulatory Mechanisms for Production of IFN- $\gamma$ and TNF by Antitumor T cells or Macrophages in the Tumor-bearing State (担癌状態における抗腫瘍T細胞或はマクロファージによるIFN- $\gamma$ とTNF産生制御機構の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之  (副査) 教授 平野 俊夫    教授 宮坂 昌之

## 論文内容の要旨

## [目的]

一般に担癌状態では宿主免疫能、とりわけT細胞の応答能は全般的に低下しており、それには様々な免疫抑制機構が関与している事が知られている。当研究室では、CD4<sup>+</sup>T細胞のうち腫瘍抗原に反応する抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Tヘルパー細胞(Th)は、担癌早期において一旦は活性化され、IL-2やIFN- $\gamma$ などのサイトカインを産生するが、その応答能は担癌状態の進行と共に低下すること、それとは逆にCD4<sup>+</sup>Thを活性化させうる抗原提示細胞(APC)の腫瘍抗原提示は担癌状態の進行と共に増強することが観察されてきた。本研究では、これらの知見をふまえ、抗腫瘍サイトカインとして知られるIFN- $\gamma$ やTNFの産生応答が担癌状態の進行と共に、どのような機構によって抑制されてゆくかについて検討した。

## [方法]

腫瘍にはBALB/cマウス由来CSA1M線維肉腫を用いた。腫瘍細胞をBALB/cマウスの背部皮内に移植し、担癌マウスを作成した。腫瘍移植後2-3週又は8-10週のマウスをそれぞれ担癌早期又は担癌後期マウスとして用いた。担癌マウス脾細胞全画分或いは抗CD4抗体、抗CD8抗体で処理して得た細胞集団を、外来腫瘍抗原刺激非存在下で培養し、その上清を回収した。培養上清中のサイトカイン活性の測定は、IL-2はCTL2、IL-4はCT.4S、IL-6は7TD1のそれぞれの増殖を指標として測定した。IFN- $\gamma$ はLO細胞のvesicular stomatitis virusに対する抗ウイルス活性を指標として測定した。TNFはアクチノマイシンD存在下でのL.P3の細胞傷害活性を指標として測定した。mRNAの発現は、RNase protection assayにて検出した。

## [成績]

(1)TNFのCSA1M腫瘍に対する細胞傷害性を調べた。TNFは単独では弱い増殖抑制を示すにすぎなかったが、IFN- $\gamma$ の存在下では強い抗腫瘍効果を惹起した。(2)担癌早期マウスの全脾細胞をin vitroで培養し、その上清における種々のサイトカイン活性を測定した結果、IL-2、IL-4と共にIFN- $\gamma$ 、TNFの産生を認めた。(3)in vitro培養系でのIFN- $\gamma$ 、TNFの産生は、既にIL-2産生について報告している細胞性機構と同様に、主に抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Thが腫瘍抗原を捕捉・提示している抗原提示細胞により刺激されることに基づくことがわかった。また、TNFの産生はIFN- $\gamma$ 依存性にT細胞以外の細胞集団(M $\phi$ )により担われていた。(4)担癌早期マウス全脾細胞in vitro培養系に認められるこれらのサイトカイン活性は担癌ステージの進行と共に著しく抑制された。一方、

IL-6産生は担癌ステージの進行と共に漸増した。この担癌後期マウス脾細胞による高いレベルのIL-6産生は主に非T細胞集団(M $\phi$ )によることが示された。IL-6はin vitro培養系のみならず担癌宿主血清中にて増加すること、又、担癌状態の進行に伴い、血漿中にTGF- $\beta$ も増加してゆくことも認められている。(5)そこで担癌後期血中で増加するこれらの2つのサイトカインとIFN- $\gamma$ 、TNF産生抑制機構について検討した。担癌マウス脾細胞培養系にTGF- $\beta$ を加えるとIL-2同様にIFN- $\gamma$ とTNFの産生が抑制された。また、IL-6の添加はIL-2産生に影響しないのに比しIFN- $\gamma$ 、TNF産生を抑制した。逆に抗IL-6抗体を加えると、IL-2産生が抑制されるのに対しIFN- $\gamma$ 、TNF産生は著明に増強された。(7)TGF- $\beta$ は種々のサイトカイン産生を抑制する一方、担癌後期マウス非T細胞(M $\phi$ )によるIL-6産生を抑制しなかった。

#### [総括]

担癌モデルとして使用したCSA1M線維肉腫は、IFN- $\gamma$ 存在下でTNFに感受性であるにもかかわらず、担癌ステージが進行するにつれ、IL-2、IL-4と共にTNF IFN- $\gamma$ 産生能が低下していくため、細胞障害性を徐々に受けにくくなっていくことが示された。即ち、担癌宿主では腫瘍由来TGF- $\beta$ によるCD4<sup>+</sup>Thのサイトカイン産生抑制に加え、担癌宿主が産生するIL-6によってもIFN- $\gamma$ 産生が抑制され更に非T細胞(M $\phi$ )によるTNF産生が二次的に抑制され、相乗的に抗腫瘍免疫能の低下が惹起されることが明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

[題名] Regulatory Mechanisms for Production of IFN- $\gamma$  and TNF by Anti-tumor T cells or Macrophages in the Tumor-bearing State. (担癌状態における抗腫瘍T細胞或はマクロファージによるIFN- $\gamma$ とTNF産生制御機構の解析)

担癌状態では、CD4<sup>+</sup>Th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、その抑制機構はかならずしも明らかにされていない。これまでの研究により担癌宿主では抗腫瘍CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞が担癌初期に一旦は活性化されIL-2などのサイトカインを産生するが、その応答能は担癌状態の進行と共に低下すること、それとは逆にCD4<sup>+</sup>Thを活性化させる抗原提示細胞(APC)の腫瘍抗原提示は担癌状態の進行と共に増強することが観察されてきた。つまり、この抑制機構の原因として担癌宿主では、サイトカインネットワークの異常が惹起されている可能性が考えられる。

この可能性を検討するために、本研究では抗腫瘍サイトカインとして知られるIFN- $\gamma$ やTNFの産生を中心に種々のサイトカイン産生応答が担癌状態の進行と共に、どのような機構によって抑制されてゆくかについて測定した。その結果、(1)in vitro培養系でのIFN- $\gamma$ 、TNFの産生は、既にIL-2産生について報告している細胞性機構と同様に、主に抗腫瘍CD4<sup>+</sup>Thが腫瘍抗原を捕捉・提示している抗原提示細胞により刺激されることに基づくことがわかった。また、TNFの産生はIFN- $\gamma$ 依存性にT細胞以外の細胞集団(M $\phi$ )により担われていた。(2)これらのサイトカイン活性は担癌ステージの進行と共に著しく抑制された一方、IL-6産生は担癌ステージの進行と共に漸増した。この担癌後期マウス脾細胞による高いレベルのIL-6産生は主に非T細胞集団(M $\phi$ )によることが示された。IL-6はin vitro培養系のみならず担癌宿主血清中にて増加すること、又、担癌状態の進行に伴い、血漿中にTGF- $\beta$ が増加してゆくことも認められた。(3)担癌後期血中で増加するこれらの二つのサイトカインによって担癌宿主では腫瘍由来TGF- $\beta$ によるCD4<sup>+</sup>Thのサイトカイン産生抑制に加え、担癌宿主が産生するIL-6によってもIFN- $\gamma$ 産生が抑制され更に非T細胞(M $\phi$ )によるTNF産生が二次的に抑制され、相乗的に抗腫瘍免疫能の低下が惹起されることが明らかとなった。したがって、本研究は担癌宿主における抗腫瘍免疫の抑制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。