

Title	Administration of Recombinant Interleukin 12 Prevents Outgrowth of Tumor Cells Metastasizing Spontaneously to Lung and Lymph Nodes
Author(s)	慕, 杰
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40004">https://hdl.handle.net/11094/40004</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>〉</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	慕 杰
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 12987 号
学位授与年月日	平成9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	Administration of Recombinant Interleukin 12 Prevents Outgrowth of Tumor Cells Metastasizing Spontaneously to Lung and Lymph Nodes (マウス卵巣癌モデルにおける IL-12 の原発腫瘍増殖及び転移巣形成への抑制効果)
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之  (副査) 教授 門田 守人    教授 宮坂 昌之

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

Interleukin 12は最初、EBウイルスにより不死化されたB細胞株の培養上清中より単離精製され、その生物活性より当初 natural killer (NK) cell stimulatory factor (NKSF) と命名された。その後の研究により、この IL-12 は単に NK 細胞や T 細胞を活性化するのみでなく、生体の細胞性免疫を促進する根源的な役割を持つサイトカインであることが判明し、又 *in vivo* で強力な抗腫瘍効果を示すことも報告されてきた。本研究では、これらの知見をふまえ、原発腫瘍巣より高頻度に肺、リンパ節への自然転移をきたすマウス卵巣癌を用いた腫瘍系で、rIL-12 の原発腫瘍の増殖抑制と共に肺、リンパ節転移を抑制する効果を検討した。

#### 【方法】

腫瘍には (C57BL/6 × C3H/He) F1 (B6C3F1) マウス由来卵巣癌細胞 OV-HM を用いた。腫瘍細胞を B6C3F1 マウスの背部皮内に移植し、担癌マウスを作成した。rIL-12 はマウス腹腔内に隔日で投与した。抗 CD4 抗体及び抗 CD8 抗体は rIL-12 投与の前日及び当日にマウス腹腔内に投与した。腫瘍塊への T 細胞及び Mac-1<sup>+</sup> 細胞の浸潤は HE 染色及び免疫組織染色で調べた。

#### 【成績】

(1) OV-HM 担癌早期又は担癌後期マウスに rIL-12 を投与したところ、いずれの担癌ステージにおいても腫瘍塊の完全な退縮が観察された。(2) rIL-12 投与により、腫瘍塊を拒絶したマウスは同一腫瘍 (OV-HM) の再接種には完全な抵抗性を示した。一方、抗原性を異にする MCH-1-A1 腫瘍の接種に対しては、control と同程度の増殖を容認し、腫瘍が完全に退縮したマウスに腫瘍特異免疫が獲得されていることがわかった。(3) 腫瘍退縮の細胞性機構について組織学的に検討した。まず rIL-12 投与により退縮中の腫瘍塊に対して HE 染色を行った。その結果、rIL-12 を投与していない腫瘍組織には T 細胞の浸潤がほとんど見られないのに対して、rIL-12 投与したマウスの腫瘍塊には著明なリンパ系細胞浸潤が確認された。更に、免疫組織染色により、浸潤したリンパ系細胞は主に CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> T 細胞及び Mac-1<sup>+</sup> 細胞であった。(4) rIL-12 投与により誘導される腫瘍退縮は抗 CD4 抗体と抗 CD8 抗体の同時投与により完全に block された。一方、いずれかの抗体投与のみでは腫瘍は拒絶され、CD4<sup>+</sup> 又は CD8<sup>+</sup> T 細胞

胞サブセットのいずれか一方で腫瘍拒絶が起こることがわかった。(5)OV-HM 担癌マウスを担癌1ヶ月で原発巣を切除すると、2ヶ月後にリンパ節転移(100%)と肺転移(80%)が生じる。つまり、原発巣を切除するときマウスはすでに micrometastasis が起っていることがわかった。そこで、rIL-12を原発巣切除後より約10回投与したところ、リンパ節転移の著明な抑制とほぼ完全な肺転移抑制を認めた。(6)前述の転移抑制効果は rIL-12に specific かどうかを検討するために、IL-12の効果を調べたところ、rIL-12投与により、リンパ節転移及び肺転移が著明に抑制されたのに対して、IL-2の投与では転移の抑制は全く観察されなかった。(7)OV-HM 担癌1ヶ月で原発巣から腹壁への浸潤がある、或いは臨床的リンパ節転移が認められたマウスについて原発巣を切除し、rIL-12を投与した。その結果、このようなステージのマウスにおいてさえrIL-12投与によりリンパ節転移の増殖が抑制され、特に肺転移は完全に抑制された。

#### 【総括】

rIL-12の投与により、活性化された抗腫瘍T細胞 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T細胞が腫瘍局所へ浸潤すること、その結果、原発巣の完全退縮をもたらすのみでなく、その後の腫瘍特異免疫を保持させつつ、リンパ節、肺等への自然転移への著明な抑制効果を誘導しうることが示された。

#### 論文審査の結果の要旨

Interleukin 12は当初 natural killer (NK) cell stimulatory factor (NKSF) と同定された。その後の研究により、IL-12は単に NK 細胞やT細胞を活性化するのみでなく、生体の細胞性免疫を促進する役割を持つサイトカインであることが判明した。又強力な抗腫瘍効果を示すことも報告された。ところが、生体での自然転移への抑制効果については十分な解析がない状況にある。

原発腫瘍巣より高頻度に肺、リンパ節への自然転移をきたすマウス卵巣癌モデルOV-HMが樹立されていることより、慕杰君はこの腫瘍系で、rIL-12の原発腫瘍の増殖抑制と共に肺、リンパ節転移を抑制する効果を検討した。その結果、(1)OV-HM 担癌早期または担癌後期マウスにrIL-12を投与したところ、いずれの担癌ステージにおいても原発腫瘍塊の完全な退縮が観察された。又腫瘍が完全に退縮したマウスには腫瘍特異免疫が獲得されていた。(2)腫瘍退縮の細胞性機構について組織学的に検討し、rIL-12投与したマウスの腫瘍塊には著明なリンパ系細胞(主にCD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>T細胞及びMac-1<sup>+</sup>細胞)浸潤を確認した。(3)OV-HM 担癌マウスを担癌1ヶ月で原発巣を切除すると、2ヶ月後にリンパ節転移(100%)と肺転移(80%)が生じる。そこで、rIL-12を原発巣切除後より投与したところ、リンパ節転移の著明な抑制とほぼ完全な肺転移抑制を認めた。(4)OV-HM 担癌1ヶ月で原発巣から腹壁への浸潤、或いはリンパ節転移が認められたマウスについて、原発巣を切除しrIL-12を投与したところ、rIL-12投与によりリンパ節転移の増殖が抑制され、特に肺転移は完全に抑制された。以上の結果から、rIL-12の投与により、活性化された抗腫瘍T細胞(CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T細胞)が腫瘍局所へ浸潤すること、その結果、原発巣の完全退縮のみではなく、腫瘍特異免疫を保持させつつ、リンパ節、肺等への自然転移への著明な抑制効果を誘導しうることが示された。以上、本研究はrIL-12の抗腫瘍効果、特に自然転移への抑制効果について重要な知見を提供し、学位に値するものと考えられる。