

Title	Molecular mechanisms underlying IFN- γ -mediated tumor growth inhibition induced during tumor immunotherapy with rIL-12
Author(s)	于, 文功
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40015
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 >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

氏 名	于 文 功
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 9 8 3 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	Molecular mechanisms underlying IFN- γ -mediated tumor growth inhibition induced during tumor immunotherapy with rIL-12 (IL-12投与により誘導されたIFN- γ を介した腫瘍細胞増殖抑制の分子機構)
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】

IL-12は感染抵抗性の増強、免疫不全症の改善のみならず、強力な抗腫瘍作用を示すことが認められつつある。担癌状態では宿主免疫能、とりわけ抗腫瘍T細胞の応答能が全般的に低下しており、IL-12の投与により担癌状態で抑制された抗腫瘍T細胞の機能、特にIFN- γ の産生能は著明に改善され、腫瘍拒絶が惹起される。IL-12の抗腫瘍効果は抗IFN- γ 抗体投与によりほぼ完全にブロックされることより、我々はIL-12の抗腫瘍効果がT細胞によるIFN- γ 産生の著明な増強に基づくことを示してきた。しかし、IL-12により誘導されたIFN- γ が如何にして腫瘍拒絶を惹起するかについてはまだ充分わかっていない。本研究では、IL-12治療により誘導されたIFN- γ を介して惹起される腫瘍拒絶の分子機構について検討した。

【方法】

BALB/cマウス由来線維肉腫細胞CSA1M、(C57BL/6xC3H/He)F1マウス由来卵巣癌細胞OV-HM及びC3H/Heマウス由来線維肉腫細胞MCH-1-A1を用いた。細胞培養上清のnitric oxide (NO)の測定はGriess法により測定した。mRNAの発現はRNase protection assayにより検出した。腫瘍局所へのリンパ系細胞浸潤はHE染色及び免疫組織化学染色法にて観察した。

【成績】

(1)担癌マウスにIL-12を一用量0.5 μ gを一日おきに3回腹腔内に投与すると、CSA1M及びOV-HM腫瘍系では皮下で増殖中の腫瘍が完全退縮をきたす一方、MCH-1-A1腫瘍系では退縮が誘導されない。CSA1MとOV-HM腫瘍系におけるIL-12の抗腫瘍効果は抗IFN- γ 抗体投与によりほぼ完全にブロックされた。これより、IL-12により誘導されるIFN- γ 産生が腫瘍拒絶の必須条件であることが分かる。(2)IL-12投与により産生されたIFN- γ の抗腫瘍メカニズムを検討するため、まず、上記三種類の腫瘍細胞をIFN- γ でin vitro刺激したところ、CSA1Mでは誘導型NO synthase (iNOS) mRNA、OV-HMではindolamine 2, 3-dioxygenase (IDO) mRNAの発現が誘導された。(3)更にCSA1MではIFN- γ によりCSA1M自身がiNOS遺伝子を活性化し、NOを産生して自爆する。(4)OV-HMではiNOSはほとんど誘導されない一方、IDOの発現を認めた。IDOによって細胞内トリプトファ

ン利用が阻止され、腫瘍細胞は増殖抑制に陥ると考えられる。(5)MCH-1-A1では、IFN- γ により増殖抑制が認められたが、iNOS、IDOともほとんど誘導されなかった。(6)IL-12治療を受けたCSA1M、OV-HM、MCH-1-A1担癌マウス腫瘍局所のリンパ系細胞浸潤及びiNOSとIDO mRNAの発現をみたところ、CSA1M及びOV-HM腫瘍においてのみ著明なリンパ系細胞の浸潤を認めた。(7)又、CSA1M腫瘍塊では、iNOSの強い発現を認め、OV-HMではIDOの発現を認めると共に、T細胞と共に浸潤したMac-1陽性細胞によるiNOSの発現も認められた。以上、IL-12奏効性腫瘍系は、IL-12によって誘導されたIFN- γ が腫瘍細胞自身のiNOSあるいはIDOを発現させ、直接的な腫瘍細胞傷害性を示すこと及びT細胞とMac-1陽性細胞の著明な浸潤を誘導させ、これらのリンパ系細胞を介して間接的な抗腫瘍効果を惹起することが示された。

【総括】

IL-12奏効性腫瘍系では、IL-12投与により腫瘍局所にT細胞及びMac-1陽性細胞の浸潤が誘導されること、この浸潤したT細胞から産生されたIFN- γ が、活性化されたMac-1陽性細胞のiNOS遺伝子を誘導すること、さらに直接的に腫瘍細胞自身にiNOS (CSA1M) 或いはIDO (OV-HM) 遺伝子を活性化して抗腫瘍効果を誘導することが示された。

論文審査の結果の要旨

担癌状態では宿主免疫能、とりわけ抗腫瘍T細胞の応答能が全般的に低下している、IL-12の投与は担癌状態で抑制された抗腫瘍T細胞の機能、特にIFN- γ の産生能を著明に改善し、腫瘍拒絶を惹起する。于文功君は、IL-12治療により誘導されたIFN- γ を介して惹起される腫瘍拒絶の分子機構について検討し、以下の成果を得た。

(1)担癌マウスにIL-12を投与すると、CSA1M及びOV-HM腫瘍系では腫瘍の完全退縮がみられる。一方、MCH-1-A1腫瘍系では退縮が誘導されない。IL-12の抗腫瘍効果は抗IFN- γ 抗体投与により完全にブロックされることより、IL-12により誘導されるIFN- γ が腫瘍拒絶の必須条件であることが分かる。(2)上記三種類の腫瘍細胞をIFN- γ でin vitro刺激すると、CSA1Mでは自身の誘導型nitric oxide synthase (iNOS) 遺伝子が活性化され、nitric oxide (NO) 産生により増殖抑制に陥る。(3)OV-HMではiNOSはほとんど誘導されない一方、indolamine 2, 3-dioxygenase (IDO) の発現を認めた。IDOによって細胞内トリプトファン利用が阻止され、腫瘍細胞増殖を抑制する。(4)IL-12治療を受けたCSA1M、OV-HM、MCH-1-A1担癌マウス腫瘍局所では、CSA1M及びOV-HM腫瘍のみ著明なリンパ系細胞の浸潤を認めた。(5)又、CSA1M腫瘍塊ではiNOSの強い発現を認め、OV-HMではIDOの発現を認めると共に、浸潤したMac-1陽性細胞によるiNOSの発現も認められた。以上、IL-12奏効性腫瘍系は、IL-12によって誘導されたIFN- γ が腫瘍細胞自身のiNOSあるいはIDOを発現させ直接的な腫瘍細胞増殖抑制を示すこと、及びT細胞とMac-1陽性細胞の著明な浸潤を誘導させ、これらのリンパ系細胞を介して間接的な抗腫瘍効果を惹起することが示された。従って、本研究は現在注目されているIL-12による腫瘍治療効果に関して、IFN- γ を介したIL-12の抗腫瘍効果のメカニズムの理解に役立ち、学位に値するものと考えられる。