



Title	Molecular mechanisms underlying IFN- $\gamma$ -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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40015">https://hdl.handle.net/11094/40015</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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12983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- $\gamma$ -mediated tumor growth inhibition induced during tumor immunotherapy with rIL-12 (IL-12投与により誘導されたIFN- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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CSA 1 M、(C57BL/6 x C3H/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を一回量0.5 $\mu$ gを一日おきに3回腹腔内に投与すると、CSA 1 M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。CSA 1 MとOV-HM腫瘍系におけるIL-12の抗腫瘍効果は抗IFN- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ でin vitro刺激したところ、CSA 1 M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CSA 1 MではIFN- $\gamma$ によりCSA 1 M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-A 1 では、IFN- $\gamma$ 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 CSA 1 M、OV-HM、MCH-1-A 1 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、CSA 1 M 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、CSA 1 M 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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 (CSA 1 M) 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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、CSA 1 M 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-A 1 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ で *in vitro* 刺激すると、CSA 1 M 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 CSA 1 M、OV-HM、MCH-1-A 1 担癌マウス腫瘍局所では、CSA 1 M 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、CSA 1 M 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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。