



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Administration of IL-12 Induces a CD3+CD4-CD8-B220+ Lymphoid Population Capable of Eliciting Cytolysis Against Fas-positive Tumor Cells  |
| Author(s)    | 筒井, 建紀   |
| Citation     | 大阪大学, 1998, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/41063">https://hdl.handle.net/11094/41063</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          | 筒 井 建 紀   |
| 博士の専攻分野の名称   | 博 士 (医 学)   |
| 学 位 記 番 号    | 第 1 3 5 0 5 号   |
| 学位 授 与 年 月 日 | 平 成 10 年 1 月 7 日  |
| 学位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第2項該当  |
| 学 位 論 文 名    | Administration of IL-12 Induces a CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup> B220 <sup>+</sup> Lymphoid Population Capable of Eliciting Cytolysis Against Fas-positive Tumor Cells<br>(Fas陽性腫瘍細胞傷害活性をもつ CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup> B220 <sup>+</sup> T細胞サブセットの IL-12 による誘導) |
| 論 文 審 査 委 員  | (主査)<br>教 授 村田 雄二<br>(副査)<br>教 授 濱岡 利之 教 授 門田 守人  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目的)

インターロイキン12 (IL-12) は、主にマクロファージ・dendritic cell 等により産生され、T 細胞・ナチュラルキラー (NK) 細胞に作用して、強力な細胞性免疫を誘導することが知られている。すなわち、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 及び NK 細胞の細胞傷害活性の増強、インターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生誘導、T 細胞の増殖促進、T helper 1 (Th1) 細胞の分化促進などである。その結果、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 in vivo 抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。一般に CTL が標的細胞を破壊する機構として、パーフォリンによる機構及び Fas-Fas ligand (FasL) による機構の 2 つが存在することが報告されている。しかし、IL-12により誘導される抗腫瘍効果のメカニズムについては、不明な点も多い。本研究では、IL-12により誘導される抗腫瘍効果のメカニズムに、Fas-Fas L による機構が存在するか検討した。

#### (方法)

腫瘍細胞として、BALB/c マウス由来 CSA1M 繊維肉腫細胞及び (C57BL/6×C3H/He) F1 (B6C3F1) マウス由来 OV-HM 卵巣腫瘍細胞を用いた。それぞれ担癌マウスを作成し、リコンビナント IL-12 (rIL-12) を腹腔内投与し、その脾細胞及び腫瘍細胞を用いて解析した。細胞表面抗原は、flow cytometry を用いて解析した。FasL の発現は、<sup>51</sup>Cr release assay による Fas transfectant に対する細胞傷害性を用いて示した。mRNA の発現は、RNase protection assay を用いて検出した。

#### (成績)

(1)二つの腫瘍 (CSA1M, OV-HM) において、担癌マウスを作成し rIL-12を投与すると、両者とも完全な腫瘍の退縮が認められた。(2)CSA1M は、Fas 抗原陽性であり、IFN- $\gamma$  刺激によりその発現は増強した。また、抗 Fas 抗体及び FasL 陽性細胞による細胞傷害性も認めらることより、CSA1M に存在する Fas 抗原は機能的なものであることが確認された。一方、OV-HM は、Fas 抗原陰性であり、IFN- $\gamma$  刺激によてもその発現は認められなかった。(3)rIL-12投与により両腫瘍担癌マウス共に、spleen に CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>B220<sup>+</sup> の phenotype をもつ T cell population が誘導

された。この phenotype をもつ T 細胞は, in vitro で CSA1M に対して, Fas-FasL を介する細胞傷害性を持つことが示された。(4)両腫瘍担癌マウスの腫瘍塊から調製された RNA を用いて, FasL の発現を RNase protection assay にて検出した。その結果, rIL-12を投与することにより退縮しつつある両担癌マウスの腫瘍塊には, rIL-12未投与のマウスの腫瘍塊には認められなかった FasL の mRNA の発現が認められた。

#### (総括)

IL-12の奏効する二つのマウス腫瘍系において, IL-12の投与により, spleen に CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>B220<sup>+</sup>FasL<sup>+</sup> の phenotype をもつ T cell population が誘導された。また IL-12を投与することにより退縮しつつある両腫瘍塊には, IFN- $\gamma$  を産生する T cell や FasL<sup>+</sup> T cell の浸潤が認められることより, IL-12は, IFN- $\gamma$  を介して Fas<sup>+</sup> CSA1M の Fas 抗原の発現をさらに上昇させるとともに, Fas-FasL を介するメカニズムにより Fas 陽性腫瘍に対し細胞傷害性を持ちうることが認められた。即ち, IL-12により誘導される抗腫瘍効果のメカニズムに, Fas-FasL による機構が存在することが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は, IL-12により腫瘍の完全退縮が認められる担癌マウスモデルを用いて, IL-12の抗腫瘍サイトカインとしてのメカニズムを明らかにするために, 主に細胞生物学的手法を用いて解析が行なわれた。

その結果, IL-12を投与されたマウスの spleen に CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>B220<sup>+</sup>FasL<sup>+</sup> の phenotype をもつ T cell population が誘導され, Fas 陽性腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を持ちうることが示された。また, この FasL 陽性細胞は IL-12を投与された担癌マウス腫瘍塊においても検出され, Fas 陽性腫瘍に対して腫瘍の拒絶に関与している可能性が示された。すなわち, IL-12により誘導される抗腫瘍効果のメカニズムに, Fas-FasL による機構が存在することがはじめて示唆された。

現在, ヒトに対する癌治療は, 手術療法・化学療法・放射線療法を中心とした集学的治療により行われている。今後, この研究をもとに IL-12をはじめとしたサイトカインによる癌の免疫療法が展開されることが予想される。よって, 本研究は学位に値するものと考えられる。