



Title	B cell-mediated down-regulation of IFN- $\gamma$ and IL-12 production induced during anti-tumor immune responses in the tumor-bearing state
Author(s)	Rishani, Manuja Wijesuriya
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41782">https://hdl.handle.net/11094/41782</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〉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	リシャニ マヌジャ ウジェースリア Rishani Manuja Wijesuriya
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15234 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学位論文名	B cell-mediated down-regulation of IFN- $\gamma$ and IL-12 production induced during anti-tumor immune responses in the tumor-bearing state (B細胞による担癌宿主抗腫瘍免疫応答の制御; IFN- $\gamma$ 及びIL-12産生の抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之  (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 門田 守人

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

担癌マウス脾細胞全画分の培養においては、in vivo で既に腫瘍抗原に感作されているT細胞と腫瘍抗原を保持・提示している抗原提示細胞 (APC) の相互作用によって、抗腫瘍サイトカイン (IFN- $\gamma$ 、IL-2等) が産生される。我々はこれまで、担癌ステージの進行と共に、抗腫瘍CD4<sup>+</sup>T細胞の機能が抑制されていくことを明らかにしてきた。この抗腫瘍T細胞の機能抑制の原因には不明な点が多い。本研究は、担癌宿主B細胞が抗腫瘍T細胞の機能発現を修飾するという新たな免疫抑制機構の存在を明らかにすると共に、そのメカニズムを解析することを目的とした。

#### 【方法】

腫瘍には、BALB/cマウス由来線維肉腫 CSA 1M 及び BAMC-1、B6C3F1マウス由来卵巣癌 OV-HM を用いた。IFN- $\gamma$  産生は ELISA 法で、IL-2 産生は CTLL-2 を使用した bioassay で、又 IL-12 活性は 2D6 細胞を用いた antibody capture assay で測定した。CD40リガンド (CD40L) の発現は Flow cytometry にて検出した。

#### 【成績及び考察】

担癌マウス脾細胞全画分からB細胞を除去すると、抗腫瘍サイトカイン IFN- $\gamma$  の産生が増強される。T細胞の抗腫瘍サイトカイン産生能は、担癌早期 (2~3週) をピークとし、その後次第に減少し、担癌後期 (8~10週) には、著明に低下している。この抗腫瘍サイトカイン産生の抑制は、担癌状態における免疫抑制異常の典型的な例となり、その原因を明らかにすることは、抗腫瘍免疫応答改善の第一ステップとなる。今回の研究で、担癌後期でその数が増加する宿主B細胞の T-APC 相互作用による抗腫瘍サイトカイン産生への影響を調べた。その結果、担癌マウス脾細胞全画分から磁器ビーズによりB細胞を除去すると、担癌後期で抑制されていた IFN- $\gamma$  産生が著明に回復されることが分かった。この結果は、今回用いた全ての腫瘍系において確認された。この IFN- $\gamma$  産生増強は、単に脾細胞全画分からB細胞を除去することによる T/APC 比率の増加によって説明できるものではなかった。そこで次に、B細胞除去による IFN- $\gamma$  産生の回復をもたらすメカニズムを検討した。

B細胞除去によって、IFN- $\gamma$  産生が特異的に増強される。抗腫瘍 T細胞と APC の相互作用により、IFN- $\gamma$  と共に IL-2 も産生される。そこで、B細胞除去によって、IL-2 産生も増強されるか否かを検討した。しかし、IFN- $\gamma$  産生がB細胞除去によって増強される状況下で、IL-2 産生はむしろ抑制された。つまり、B細胞除去による抗腫瘍サイトカイン産生増強は、IFN- $\gamma$  特異的であることが判明した。

B細胞を除去すると、担癌マウス脾細胞によるIL-12産生が増強する。当研究室では、T細胞-APC相互作用によるIL-12産生の誘導を明らかにしてきた。即ち、T細胞レセプター（TCR）刺激を与えられたT細胞とAPCがinteractすると、APCからIL-12が産生される。この時、B細胞の存在は、T細胞-APC相互作用によるIL-12産生を抑制することも明らかになっている。そこで、担癌マウス脾細胞由来の抗腫瘍感作T細胞とAPCの相互作用においても、IL-12が産生されるか否か、又その産生が、担癌宿主B細胞の存在によって修飾されるか否かを検討した。担癌マウス脾細胞全画分の培養では、IL-12は極く微量しか産生されなかった。しかし、B細胞を除去するとIL-12産生の著明な増強がみられた。即ち、担癌宿主における抗腫瘍T細胞-APC相互作用によるIL-12産生は共存するB細胞によって抑制されることが明らかになった。

B細胞はCD40L-CD40 interactionをブロックすることにより、抗腫瘍T細胞-APC相互作用によるIL-12産生を抑制する。IL-12は、活性化されたT細胞上に発現されるCD40LとAPC上のCD40の相互作用の結果、APCによって産生されることが明らかになっている。今回のシステムで、抗CD40L抗体が抗腫瘍T細胞とinteractするAPCのIL-12産生を抑制するか否かを検討した。担癌マウス脾細胞のB細胞除去画分の培養に抗CD40L抗体を添加した結果、IL-12産生が著明に減少した。つまり、担癌マウスのT-APC相互作用において、T細胞上のCD40LがAPCのCD40を刺激することにより、APCからのIL-12産生が誘導されること、CD40陽性のB細胞がこれを拮抗的に制御することが示唆された。

IL-12産生の誘導によってIFN- $\gamma$ 産生が増加される。次にB細胞除去によるIFN- $\gamma$ 産生増強は、IL-12産生の誘導によるものか否かを検討した。B細胞除去によってIFN- $\gamma$ 産生が増強する担癌マウス脾細胞培養に抗IL-12抗体、または抗CD40L抗体を添加し、IFN- $\gamma$ 産生を見たところ、どちらもIFN- $\gamma$ 産生をほぼ完全に抑制することが分かった。これらの結果より、B細胞除去による担癌マウス脾細胞のIFN- $\gamma$ 産生増強において、IL-12が不可欠な働きをしていることが明らかになった。又、脾細胞全画分の培養では極く微量のIL-12が検出されたが、抗IL-12抗体存在下ではIFN- $\gamma$ 産生が完全に抑制された。即ち、ほんのわずかに産生されるIL-12が、脾細胞全画分の培養においてIFN- $\gamma$ 産生を誘導していることが示唆された。

#### 【総括】

以上、担癌宿主脾細胞培養系において、CD40<sup>+</sup>B細胞が、抗腫瘍T細胞-APCのCD40L-CD40相互作用を阻止する結果、IL-12産生を抑制し、IFN- $\gamma$ 産生が二次的に抑制されることが分かった。本研究結果は、担癌マウスにおける、抗腫瘍T細胞機能抑制（IFN- $\gamma$ 産生の抑制）の一つの新しいメカニズムを提供するものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

担癌状態における免疫抑制異常の代表的な例として、抗腫瘍T細胞によるサイトカイン産生の抑制が挙げられる。この抗腫瘍T細胞機能不全の原因には不明な点が多い。担癌マウス脾細胞は腫瘍に感作されたT細胞と腫瘍抗原を提示している抗原提示細胞（APC）を含み、脾細胞全画分を培養すると、抗腫瘍T細胞によりIFN- $\gamma$ やIL-2の産生が誘導される。この培養システムを用い、本研究は担癌状態の抗腫瘍T細胞の機能抑制機構に関する解析を行い、次のような諸点を明らかにした。(i) 担癌マウス脾細胞全画分からB細胞を除去すると、抗腫瘍サイトカインIFN- $\gamma$ の産生が増強すること、(ii) IL-2産生は増強されないことより、サイトカイン産生の増強はIFN- $\gamma$ 特異的であること、(iii) B細胞の除去によって、APCのIL-12産生が増強すること、(iv) B細胞除去の結果、誘導されるIL-12によってIFN- $\gamma$ 産生が増強されること、(v) CD40陽性B細胞は、抗腫瘍T細胞とAPCのCD40L-CD40相互作用を阻止することにより、IL-12産生を抑制し、IFN- $\gamma$ 産生が二次的に抑制されること。以上、本研究により、担癌宿主B細胞が抗腫瘍T細胞の機能発現を修飾することに基づいた新たな免疫抑制機構の存在が明らかになったのである。

免疫抑制機構の究明とその是正は癌治療の上で大変重要である。本研究は、担癌状態における新たな免疫抑制機構の存在を明らかにし、そのメカニズムを解明したことにおいて、大変貴重な情報を提供する。従って、博士（医学）の学位授与に価値するものと認める。