

Title	Enhanced induction of antitumor T-cell responses by cytotoxic T lymphocyte associated molecule-4 blockade : The effect is manifested only at the restricted tumor-bearing stages
Author(s)	楊, 以阜
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41822">https://hdl.handle.net/11094/41822</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	楊 以 卓
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 2 3 3 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	Enhanced induction of antitumor T-cell responses by cytotoxic T lymphocyte associated molecule-4 blockade : The effect is manifested only at the restricted tumor-bearing stages (CTLA-4分子のシグナル伝達遮断による抗腫瘍T細胞応答の誘導増強 : 抗腫瘍効果発現と担癌ステージの関係)
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】

腫瘍抗原を細胞表面に発現し、宿主のT細胞免疫応答を引き起こし得る実験動物腫瘍系に於ても、殆どの場合腫瘍細胞は増殖し宿主を死に至らしめる。その原因として、腫瘍抗原の免疫原性が弱く十分な免疫応答を誘導できないことのみならず、担癌状態に於ては抗腫瘍免疫応答を抑制する何らかの機構が作動している事が示唆されている。

T細胞の活性化には、T細胞抗原受容体からの刺激に加えて抗原提示細胞（APC）から提供される co-stimulatory シグナルが必要である。Co-stimulatory シグナルのなかでも B-7 分子は特に重要で、T細胞上の CD28 受容体を介して活性化シグナルを伝達する。一方、静止期のT細胞に構成的に発現される CD28 とは異なり、T細胞活性化後に誘導される CTLA-4 分子（cytotoxic T lymphocyte associated molecule-4 ; CD28 分子よりも B-7 分子に対して高い親和性を有する）は負のシグナルを伝達しT細胞の活性化をフィードバック的に調節している事が報告されている。

本研究では、抗 CTLA-4 抗体でT細胞表面の CTLA-4 分子をマスクすることにより負のシグナル伝達を遮断した場合、担癌初期及び後期に於ける宿主の抗腫瘍T細胞応答が増強されるか否かを解析した。

#### 【方法】

腫瘍系として、BALB/c マウス由来線維肉腫細胞株 CSA 1 M、及び (C57BL / 6 x C3 H / He) F 1 マウス由来卵巣癌細胞株 OV-HM を用いた。それぞれの腫瘍細胞を、同系マウスの背部皮下に接種して担癌マウスを作成した。IL-2 産生は IL-2 依存性T細胞株 CTLL-2 の増殖誘導能により、一方 IFN- $\gamma$  産生は ELISA 法にて測定した。調製した抗 CTLA-4 抗体の活性は、BALB/c マウスから調製した応答性T細胞の、主要組織適合性抗原が異なる C57BL / 6 マウスの刺激細胞に対する増殖反応（mixed lymphocyte reaction）の増強効果により確認した。

#### 【成績】

1) 我々の研究室のこれまでの解析で、CSA 1 M 担癌マウスの脾臓には腫瘍抗原を提示している APC と、in vivo で既に感作されている抗 CSA 1 M 特異的 T細胞が存在している事、そして担癌マウスの脾細胞全画分を外来性腫瘍抗原を添加することなく in vitro で48時間培養すると T-APC 細胞間相互作用の結果として、種々のリンホカイン／サイトカインが産生される事を明らかにしている。そこで先ず初めに、CSA 1 M 或いは OV-HM 腫瘍細胞接種後種々の時期の担癌マウスの脾細胞の IL-2 及び IFN- $\gamma$  産生能を調べた。その結果、CSA 1 M 或いは OV-

HM 接種後 2～3 週間の担癌初期の脾細胞全画分を培養した場合、正常マウス脾細胞と比べて有意な IL-2 及び IFN- $\gamma$  産生が誘導された。しかし、担癌の進行に伴って IL-2 及び IFN- $\gamma$  産生能は減少し、7～10 週目の担癌後期に於ては全く認められなくなった。

2) 抗 CTLA-4 抗体の IL-2 及び IFN- $\gamma$  産生に及ぼす効果を調べる目的で、抗 CTLA-4 抗体存在下に CSA 1 M 或いは OV-HM 担癌マウスの脾細胞全画分を培養した。担癌初期の脾細胞を用いた場合、何れの腫瘍系に於ても IL-2 及び IFN- $\gamma$  産生は抗 CTLA-4 抗体の培養系への添加により著明に増強された。しかし、担癌後期の脾細胞を用いた場合には、抗 CTLA-4 抗体の増強効果は観察されなかった。

3) CSA 1 M 及び OV-HM 担癌マウスで腫瘍細胞は増殖し続け宿主を死に至らしめる。そこで、担癌マウスに抗 CTLA-4 抗体を投与した場合、果して治療効果がもたらされるか否かを検討した。CSA 1 M 担癌 10 日目から抗 CTLA-4 抗体 1 mg を 1 週間隔で合計 3 回腹腔内投与した場合、全例に於て CSA 1 M 固形腫瘍の完全な退縮が誘導された。また、CSA 1 M 担癌 14 日目に抗体投与を開始した場合にも、担癌マウスの 60% に於て腫瘍は完全に退縮した。しかし、担癌 28 日目から抗 CTLA-4 抗体を投与しても、有意な腫瘍増殖抑制効果はもたらされなかった。尚、対照抗体を何れの時期に投与しても抑制効果は全く認められなかった。一方、CSA 1 M 腫瘍より増殖速度の速い OV-HM 卵巣癌細胞系に於て、腫瘍接種と同時に抗 CTLA-4 抗体投与を開始した場合には腫瘍退縮が誘導されたが、担癌 14 日目から抗体を投与したのでは腫瘍増殖は抑制されなかった。

4) 抗 CTLA-4 抗体投与により CSA 1 M 腫瘍を拒絶したマウスに CSA 1 M 腫瘍細胞を再接種したところ、全てのマウスで腫瘍細胞は拒絶された。即ち、抗 CTLA-4 抗体投与による腫瘍の退縮は、抗腫瘍免疫応答の獲得と関連している事が示された。

#### 【総括】

担癌早期の宿主に抗 CTLA-4 抗体を投与し、負のシグナル伝達分子である CTLA-4 分子の作用を阻害した場合、腫瘍特異的 T 細胞の活性化が増強され、それに伴い増殖中の腫瘍の拒絶が誘導される事が示された。しかし、癌が進行した担癌後期においては他の免疫抑制機構も同時に作動するために、CTLA-4 分子の機能制御のみでは抗腫瘍免疫応答の増強を惹起できないものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

T 細胞活性化後に発現が誘導される CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte associated molecule-4) 分子は、負のシグナルを伝達し T 細胞機能をフィードバック的に調節している事が報告されている。

本論文で、T 細胞表面 CTLA-4 分子を特異抗体でマスクすることにより負のシグナル伝達を遮断した場合、担癌初期においては宿主の腫瘍特異的 T 細胞の活性化が増強され、それに伴い増殖中の腫瘍の拒絶が誘導される事が明らかにされた。また、担癌後期においては他の免疫抑制機構も同時に作動するために、CTLA-4 分子の機能制御のみでは抗腫瘍免疫応答の増強を惹起できない事も明らかにされた。

これらの知見は、担癌状態で作動する抗腫瘍免疫応答抑制の分子機構の理解のみならず、腫瘍特異的な免疫療法を考える上で非常に有用な情報を提供するという点において、博士 (医学) の学位論文に値するものと認める。