

Title	The Direct Effect of IL-12 on Tumor Cells : IL-12 Acts Directly on Tumor Cells to Activate NF- κ B and Enhance IFN- γ -Mediated STAT1 Phosphorylation
Author(s)	蘇, 偉
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43717
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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	蘇 偉
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 8 8 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	The Direct Effect of IL-12 on Tumor Cells: IL-12 Acts Directly on Tumor Cells to Activate NF- κ B and Enhance IFN- γ -Mediated STAT1 Phosphorylation (腫瘍細胞に対する IL-12 の直接効果: IL-12 は腫瘍細胞に直接作用して NF- κ B を活性化し、IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化を促進する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 門 田 守 人 教 授 濱 岡 利 之

論 文 内 容 の 要 旨

【背景ならびに目的】 IL-12 は T 細胞や NK 細胞に直接作用して IFN- γ の産生を誘導する。この IFN- γ は IL-12 の抗腫瘍効果において重要な役割を担う。免疫担当細胞に対する IL-12 の様々な機能が既に報告されているにもかかわらず、IL-12 の腫瘍細胞に対する直接効果は殆ど報告されていない。本研究は 8 種類のマウス腫瘍細胞株を用いて in vitro での検討を行い、IL-12 の腫瘍細胞に対する直接効果を解明することを目的とした。

【対象と方法】 マウス由来の腫瘍細胞として線維肉腫細胞株 (MCA102、MCA205、MCA207)、黒色腫細胞株 (B16-BL6)、大腸癌細胞株 (MC38、Colon 26-NL 17)、膵癌細胞株 (Panc 02)、膵腺房細胞腫瘍 (266-6) の 8 種類を用いた。方法としては、それぞれの腫瘍細胞株に関して、下記の要領で検討を行った。

- (1) 腫瘍細胞表面の MHC Class I の発現を、IL-12 (0.3ng/ml) あるいは IFN- γ (100 U/ml) と共に 37°C で 72 時間培養後、FACS を用いて解析した。
- (2) 腫瘍細胞核内の STAT1 を、IL-12 (0.3ng/ml) と共に 24 時間、さらに IFN- γ (200 U/ml) と共に 7 分間培養後、EMSA を用いて解析した。
- (3) 腫瘍細胞内における IL-12 receptor β 1 の mRNA の発現を RT-PCR を用いて解析した。
- (4) 腫瘍細胞核内の NF- κ B を、IL-12 (1.0ng/ml) と共に 7 分間培養後、EMSA を用いて解析した。

【結果】

- (1) MHC Class I に関しては、IL-12 単独では、いずれの腫瘍細胞株においてもその発現は増強されなかった。しかし、MCA102、MCA205、MCA207、MC38 においては、IFN- γ による MHC Class I の発現増強が、IL-12 を加えることによりさらに促進された。
- (2) STAT1 に関しても、IL-12 単独では、いずれの腫瘍細胞株においてもそのリン酸化は促進されなかった。しかし、MCA102、MCA205、MCA207、MC38、Colon 26-NL 17 においては、IFN- γ により生じる STAT1 のリン酸化が、IL-12 を加えることによりさらに促進された。この IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化の IL-12 による促進は、抗 IL-12 抗体により阻害された (MC38)。
- (3) 上述の MCA102、MCA205、MCA207、MC38、Colon 26-NL 17 の 5 種類の腫瘍細胞株においては、IL-12 receptor β 1 の mRNA の発現が認められた。一方、それ以外の B16-BL6、Panc 02、266-6 においては IL-12 receptor β 1 の mRNA の発現が認められなかった。

tor $\beta 1$ の mRNA の発現は認められず、IL-12を加えても IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化に変化は認められなかった。

(4) NF- κ B の活性化が IL-12を加えることにより認められた (MC38、colon 26-NL 17)。

【総括】今回検討した 8 種類の腫瘍細胞株の内、MCA102、MCA205、MCA207、MC38、Colon 26-NL 17 の 5 種類において IL-12 receptor $\beta 1$ が発現しており、IL-12により核内の NF- κ B の活性化を認め、IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化が IL-12によりさらに促進された。さらに、MCA102、MCA205、MCA207、MC38 の 4 種類の腫瘍細胞株においては、IFN- γ による腫瘍細胞の MHC Class I の発現増強が、IL-12によりさらに促進された。

【結語】 IL-12は腫瘍細胞に対しても直接効果を有しており、NF- κ B を活性化し、IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化を促進する。

論文審査の結果の要旨

IL-12はT細胞やNK細胞に直接作用して IFN- γ の産生を誘導する。この IFN- γ は IL-12の抗腫瘍効果において重要な役割を担う。免疫担当細胞に対する IL-12の様々な機能が既に報告されているにもかかわらず、IL-12の腫瘍細胞に対する直接効果は殆ど報告されていない。本研究は、IL-12の腫瘍細胞に対する直接効果を解明することを目的とした。

8 種類のマウス腫瘍細胞株を用いて in vitro での検討の結果、IL-12単独では、MHC Class I はいずれの腫瘍細胞株においても発現増強が認められなかった。しかし、MCA102、MCA205、MCA207、MC38においては、IFN- γ による MHC Class I の発現増強が、IL-12を加えることによりさらに促進された。これら 4 種類の腫瘍細胞株および Colon 26-NL 17においては、IL-12 receptor $\beta 1$ の mRNA の発現が認められ、IL-12により NF- κ B の活性化ならびに IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化の促進が認められた。B16-BL6、Panc 02、266-6においては、IL-12 receptor $\beta 1$ の mRNA の発現は認められず、IL-12により NF- κ B、STAT1ならびに MHC Class I の変化も認められなかった。

以上の結果は、IL-12が腫瘍細胞に対しても直接効果を有しており、NF- κ B を活性化し、IFN- γ を介した STAT1 のリン酸化を促進する可能性を示している。IL-12を用いた癌に対する遺伝子治療、免疫治療のストラテジーを考える上で、IL-12の腫瘍細胞に対する直接効果は重要な要因のひとつであり、学位の授与に値すると思われる。