

Title	The Direct Effect of IL-12 on Tumor Cells : IL-12 Acts Directly on Tumor Cells to Activate NF- $\kappa$ B and Enhance IFN- $\gamma$ -Mediated STAT1 Phosphorylation
Author(s)	蘇, 偉
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43717">https://hdl.handle.net/11094/43717</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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	蘇 偉
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16886 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- $\kappa$ B and Enhance IFN- $\gamma$ -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- $\kappa$ Bを活性化し、IFN- $\gamma$ 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- $\gamma$ の産生を誘導する。このIFN- $\gamma$ 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- $\gamma$  (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- $\gamma$  (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  $\beta$ 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- $\kappa$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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- $\gamma$ 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  $\beta$ 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 recep

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

(4)NF- $\kappa$ 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- $\kappa$ B の活性化を認め、IFN- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\kappa$ B を活性化し、IFN- $\gamma$  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- $\gamma$ の産生を誘導する。このIFN- $\gamma$ 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- $\gamma$  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- $\kappa$ B の活性化ならびに IFN- $\gamma$  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- $\kappa$ 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- $\kappa$ B を活性化し、IFN- $\gamma$  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考えられる。