



Title	B7キメラ蛋白によるT細胞副刺激シグナル賦活化によって惹起される腫瘍拒絶の誘導：タイプ2CD8陽性T細胞の関与とインターロイキン-4産生の必要性
Author(s)	山口, 暢也
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45198
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"〉 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	やまぐちのぶや 山 口 暢 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学位記番号	第 18583 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学位論文名	B7 キメラ蛋白による T 細胞副刺激シグナル賦活化によって惹起される腫瘍拒絶の誘導; タイプ 2CD8 陽性 T 細胞の関与とインターロイキン-4 産生の必要性
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 由良 義明 助教授 島袋 善夫 講師 中川 一路

論 文 内 容 の 要 旨

[緒言] 抗腫瘍免疫療法は生体内に存在する免疫機構を利用し、それを賦活させることにより生体に対して侵襲が少なく抗腫瘍効果が期待できるという点で大きな意義を有する。

現在までにインターロイキン 12 (以下 IL-12) によるタイプ 1T 細胞の腫瘍局所浸潤による腫瘍拒絶機構が解明されてきたが、IL-12 治療は腫瘍周辺部にリンパ球の浸潤できるスペース (腫瘍周辺部ストローマ) のない腫瘍には奏効しないことが報告されている。しかし、T 細胞上の CD28 副刺激受容体のリガンドである B7-Ig キメラ蛋白を担癌マウスに投与したところ IL-12 非奏功系の腫瘍に対しても腫瘍拒絶が誘導された。この結果より B7-Ig 治療においては IL-12 治療とは違ったメカニズムの抗腫瘍免疫誘導機構が働いていると考えられる。そこで本研究では B7-Ig 治療による腫瘍拒絶における免疫担当細胞について検討した。

[方法] 腫瘍細胞は BALB/c 系の細胞は IL-12 治療応答性の CSA1M 線維肉腫親株 (以下 CSA1M-p) および IL-12 治療非応答性の variant (CSA1M-v) 株、また B6C3F1 系の細胞は IL-12 治療応答性の OV-HM 卵巣癌細胞を用い、BALB/c 雄マウスおよび B6C3F1 雌マウスに接種した。T 細胞活性化の人為的増強剤としては B7-Ig キメラ蛋白および rIL-12 を用いた。CD4 陽性あるいは CD8 陽性 T 細胞の生体内除去は抗 CD4 抗体または CD8 抗体の腹腔内投与にて行った。また、タイプ 1T 細胞またはタイプ 2T 細胞の関与を調べるために BALB/c 雄の各種遺伝子欠損マウスを用いた。用いた遺伝子欠損マウスの種類はインターフェロン γ (以下 IFN- γ) 欠損マウス、インターロイキン 4 (以下 IL-4) 欠損マウス、T 細胞上のインターロイキン 12 (以下 IL-12) レセプターの下流にある転写因子である STAT (signal transducers and activators of transcription) 4 欠損マウス、IL-4 レセプターの下流の転写因子である STAT6 欠損マウスである。また、血中サイトカイン濃度は ELISA 法を用いて測定した。

[結果及び考察]

(1) CSA1M-p 皮下担癌マウスおよび OV-HM 皮下担癌マウスに B7-Ig を腹腔内に 3 回投与したところ、全例において腫瘍の拒絶が誘導された。この結果より腫瘍抗原に感作された T 細胞が賦活されることによって腫瘍拒絶機構が働いていることが示唆された。

(2) B7-Ig 治療においてどのサブセットの T 細胞がどのステージで関与しているのかを調べるため、担癌前ステージ(感

作ステージ) 又は B7-Ig 治療ステージで CD4 陽性および CD8 陽性各サブセット T 細胞の抗体による中和 (生体内除去) を試みた結果、治療ステージでは CD8 陽性 T 細胞の除去によって、また感作ステージではいずれのサブセットの除去によっても治療効果が消失した。すなわちエフェクター T 細胞は CD8 陽性 T 細胞であるがその誘導には CD4 陽性 T 細胞が必要であることが示唆された。

(3) B7-Ig 治療は IL-12 非応答性の腫瘍である CSA1M-v 腫瘍系においても有効であった。これは IL-12 による抗腫瘍効果は腫瘍周囲にリンパ球浸潤を起こすことによって得られるが、腫瘍周囲にリンパ球の浸潤するスペース (腫瘍周辺部ストローマ) のない CSA1M-v に対しても B7-Ig 治療は有効であったことから B7-Ig による治療効果は IL-12 治療による腫瘍退縮機構とは異なることが示唆された。

(4) B7-Ig による腫瘍拒絶機構はタイプ 1、タイプ 2 のいずれの T 細胞によるものであるかを検討するため以下の実験を行った結果、タイプ 2 サイトカインである IL-4 欠損マウスまたは T 細胞上の IL-4 レセプターの下流のシグナル伝達分子である STAT6 欠損マウスでは B7-Ig 治療が奏功しないものの IL-12 が奏功した。また、タイプ 1 サイトカインである IFN- γ 欠損マウスまたは IL-12 レセプターの下流のシグナル伝達分子である STAT4 欠損マウスにおいては B7-Ig の治療効果が認められるものの、IL-12 治療効果は認められなかった。これらの結果は B7-Ig による腫瘍拒絶機構はタイプ 2 T 細胞による効果であることが示唆された。

(5) 担癌マウスに B7-Ig を投与することによる血中のサイトカイン濃度を測定したところ IL-4 の濃度上昇が認められた。さらに治療ステージ前に抗 CD4 抗体、または抗 CD8 抗体を用いてどちらかのサブセットを中和した状態で B7-Ig を投与しても血中 IL-4 濃度の上昇がみられた。

(6) B7-Ig 治療に平行して治療ステージ前に抗 CD4 抗体にて中和しても腫瘍拒絶は誘導されるが、抗 CD4 抗体に抗 IL-4 抗体を加えて中和した後に B7-Ig 投与したところ腫瘍拒絶は誘導されなかった。

以上の結果より、担癌マウスにおける B7-Ig による腫瘍拒絶機構には IL-4 産生型、つまりタイプ 2 CD8 陽性 T 細胞 (Tc2) が不可欠であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は T 細胞上の副刺激分子である CD28 ファミリーのリガンドの B7 可溶性蛋白のもつ抗腫瘍効果について、その免疫担当細胞の関与メカニズムを検討したものである。その結果、担癌マウスにおける B7-Ig による腫瘍拒絶機構には IL-4 産生型、つまりタイプ 2 CD8 陽性 T 細胞 (Tc2) が不可欠であることが示唆された。

本研究では、様々な腫瘍系において腫瘍拒絶を誘導し得る B7-Ig の腫瘍免疫における役割について重要な知見を示しており、本研究は博士 (歯学) の学位授与に値するものであることを認める。