Osaka University Knowledge Archive

Title	Quick Generation of Fully Mature Dendritic Cells From Monocytes with OK432, Low-Dose Prostanoid, and Interferon-α as PotentImmune Enhancers
Author(s)	榊原, 充
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46267
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　榊（さかき）　原（ばら）　充（みつる）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学　位　記　番　号　第　２０１６６　号

学位授与年月日　平成 18 年３月 24 日

学位授与の要件　学位規則第４条第１項該当

医学系研究科未来医療開発専攻

学　位　論　文　名　Quick Generation of Fully Mature Dendritic Cells From Monocytes With OK432, Low-Dose Prostanoid, and Interferon－α as Potent Immune Enhancers
（OK432、低容量プロスタノイド、インターフェロンαを用いた、強力な免疫刺激能を有する単球由来成熟樹状細胞の短期誘導）

論　文　審　査　委　員　（主査）
教　授　林　　紀夫

（副査）
教　授　宮坂　昌之　　教　授　門田　守人

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

樹状細胞（DC）は生体内で免疫応答を司る最も重要な抗原提示細胞である。この DC を用いた DC ワクチンは、担癌患者で抗腫瘍免疫応答を起こすのに有用な手段であり、新たな癌治療戦略として期待されている。従来はヒト末梢血単球を in vitro 環境下に GM-CSF、IL-4 で５-７日間培養し未成熟 DC を誘導し、さらに１-２日間かけて Monocyte Conditioned Medium (MCM)-mimic｛TNF-α、IL-1β、IL-6、Prostaglandin E2（PGE2）｝といったサイトカインカクテルで刺激して成熟 DC を得ていた。しかし、これらを用いた従来の臨床報告では満足な結果は得られておらず、さらに強力な抗腫瘍免疫誘導能を有する DC の誘導成熟法が求められている。

DC ワクチンが効果的であるためには、生体に投与された DC がリンパ節へと効率的に遊走し、そこで helper T type 1（Th1）細胞を誘導し、この Th1 細胞より産生される IFN-γの補助をうけて DC が Natural Killer（NK）細胞や抗原特異的 Cytotoxic T Lymphocyte（CTL）といったエフェクター細胞を活性化する必要がある。そこで本研究では、従来の DC よりリンパ節遊走能が高く、Th1 誘導能、NK 活性化能、抗原特異的 CTL 誘導能に優れる新たな DC の誘導成熟法の開発を目的とした。

〔　方法ならびに成績　〕

1）フェノタイプおよび遊走能

OK432 は *Streptococcus pyogenes* のペニシリン処理乾燥菌体成分であり、近年 DC を活性、成熟化させる薬剤として注目されている。さらに、PGE2 が DC のリンパ節遊走に必要な CCL21 に対する遊走能を亢進させることが知られている。そこで、ヒト単球から従来同様７日間で誘導した DC と短期間（３日間）で誘導した DC をそれぞれ OK432 と PGE2 で刺激して成熟 DC を誘導した。それらのフェノタイプを FACS にて解析したところ、OK432 と PGE2 の刺激により短期間誘導でも CD86、CD83、CD40、CD80 といった成熟マーカーが良好に発現していた。また CCL21 に対する遊走能についてトランスウェルを用いて解析したところ、OK432 と PGE2 により従来誘導でも短

期誘導でも遊走能は亢進したが、有意に短期誘導の方で高い遊走能が得られた。また、CCL21 のレセプターであるCCR7 の発現も短期誘導で強く発現していた。

2) Th1 誘導能

DC の Th1 誘導能を評価するために、DC と allogeneic naïve CD4 T 細胞を 7 日間共培養した後、CD4 T 細胞からの IFN-γ 産生を ELISA 法により解析した。その結果、従来法でも短期誘導法でも OK432 と PGE2 の刺激で同等な Th1 誘導能を有する成熟 DC が得られることが分かった。しかし、OK432 単独に比して、OK432・PGE2 併用群で Th1 誘導能が低下する傾向が認められた。この PGE2 による Th1 抑制作用を打ち消す目的で IFN-α を添加し、PGE2 の減量を試みた。その結果、短期誘導型 DC の Th1 誘導能は、OK432 (0.1 KE/ml)・低容量 PGE2 (50 ng/ml)・IFN-α (500 IU/ml) の組み合わせ (OPA) で最も高くなることが分かった。

3) OPA 刺激と MCM-mimic 刺激の比較

短期誘導型 DC における OPA と MCM-mimic の刺激性を比較するために各 DC の遊走能、Th1 誘導能を比較すると両者とも有意に OPA 刺激 DC の方が優れていた。また、各 DC から分泌される Th1 誘導性サイトカインである IL12p70、IL23、IL27 の産生量を ELISA 法および Real Time RT-PCR 法で比較するとすべてにおいて OPA 刺激 DC が勝っていた。さらに、各 DC の NK 活性化能、CEA ペプチド特異的 CTL 誘導能を Cr release assay を用いて検討すると、両者とも OPA 刺激 DC で優れていた。

〔 総　　括 〕

本研究において、短期誘導型 OPA 刺激 DC が従来型成熟 DC より遊走能、Th1 誘導能、NK 活性化能、抗原特異的 CTL 誘導能に優れていることを明らかにした。この短期誘導型 OPA 刺激 DC を用いた DC ワクチン療法によって従来よりも高い治療効果が期待できる。

論文審査の結果の要旨

樹状細胞ワクチン療法は癌に対する免疫治療としてその有効性を期待されているが、従来の方法では充分な治療効果が得られていない。

本研究では、従来よりもリンパ節への遊走能、Th1 細胞誘導能、NK 細胞活性化能、抗原特異的 CTL 誘導能に優れた成熟樹状細胞をヒト単球から誘導する方法として、連鎖球菌類のペニシリン処理乾燥成分である OK432、インターフェロンα、低容量プロスタグランディンの 3 剤による混合刺激 (OPA 刺激) を用いた短期誘導法を新たに開発した。また、OPA 刺激によって樹状細胞からのインターロイキン (IL)-12 関連サイトカインである IL-27、IL-12p70、IL-23 の調和のとれた産生が行われ、DC による Th1 細胞誘導が最大限に引き出されている可能性を示した。

OPA 刺激短期誘導樹状細胞は担癌患者由来の単球からも誘導することが可能であり、これを用いた新たな樹状細胞ワクチンの臨床結果が期待される研究成果である。

以上によって、本研究は学位論文に値するものと認める。