Osaka University Knowledge Archive

Title	B7.2-Igキメラ蛋白は腫瘍感作CD8+細胞障害性Tリンパ球前駆細胞をIL-4依存症に誘導増強する
Author(s)	平岡, 慎一郎
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46410
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

【5】

氏　　名	平　岡　慎一郎（ひら おか しん いち ろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　２０２０６　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 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学　位　論　文　名	**B7.2-Ig キメラ蛋白は腫瘍抗原に感作された CD8$^+$ CTL 前駆細胞を IL-4 依存性に CTL に誘導増強する**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　古郷　幹彦 （副査） 教　授　古川　惣平　　助教授　岡橋　暢夫　　講　師　山田　　聡

論　文　内　容　の　要　旨

［目的］T 細胞の活性化には、T 細胞抗原受容体（TCR）に抗原が結合することによって伝達される第一シグナルと共刺激シグナルが必要である。B7.2 は T 細胞に恒常的に発現している CD28 と結合し、共刺激シグナルを発現させる蛋白である。これらの二つの刺激によって、種々のサイトカイン産生や細胞障害活性などの T 細胞の様々な effecter 機能が増強されることが知られている。我々は以前に B7.2-免疫グロブリン融合タンパク（以下 B7.2-Ig）を *in vivo* で担癌マウスへ投与することにより、IL-4-依存性かつ CD8$^+$ T 細胞媒介性の腫瘍拒絶が誘導されることを報告しているが、細胞レベルでの CTL 誘導増強機構については不明であった。本研究では、*in vivo* ですでに腫瘍抗原に感作させた CD8$^+$ 細胞障害性 T 細胞（以下 CTL）前駆細胞を、B7.2-Ig によって刺激すると、*in vitro* でも CD8$^+$ CTL を誘導増強できるのか、また誘導できるのであれば、その過程で IL-4 はどのように作用しているのかについて検討した。

［方法］マウス：雄 BALB/c マウスは日本 SLC（浜松、日本）より購入し、IL-4 欠損（IL-4$^{-/-}$）マウスは Jackson Laboratory（Bar Harbor, ME, USA）より入手し、大阪大学医学部附属動物実験施設において繁殖させ、それらの雄を実験に使用した。腫瘍細胞：BALB/c 由来であるマウス線維肉腫細胞 CSA1M、マウス白血病細胞 LSTRA を用いた。腫瘍細胞感作マウスの作製：ｉ）CSA1M 細胞をマウス背部皮下に接種（2×10^6 個/マウス）して担癌マウスを作製し、接種後 10～15 日で実験に使用した。ii）マイトマイシン C 処理を行った LSTRA 細胞を腹腔内投与（2×10^7/マウス）し、腫瘍細胞免疫マウスを作製し、投与後 7～10 日で実験に使用した。脾細胞培養系：腫瘍細胞感作マウスの脾細胞全画分と、脾細胞より T 細胞画分および抗原提示細胞（APC）画分を調製し、B7.2-Ig 存在下で 5 日間培養した。細胞傷害テスト：エフェクターの腫瘍細胞傷害能は、[^{3}H]thymidine でラベルした標的腫瘍細胞の DNA fragmentation を指標として検出した。IFN-γ、IL-4 の測定：脾細胞培養中に産生される IFN-γ と IL-4 は、ELISA 法およびフローサイトメトリーを用いた細胞内染色法にて測定した。

［結果］1）*in vivo* で腫瘍に感作されたマウス脾細胞を *in vitro* で培養したところ、抗腫瘍 CTL はほとんど誘導されなかったが、この培養中に B7-Ig を添加すると著明な CTL 活性が誘導された。2）B7.2-Ig 存在下であっても、非腫瘍感作脾細胞からは CTL の誘導がみられなかった。3）抗 CD40 リガンド抗体を腫瘍感作前に投与すると、その脾細胞からの CTL 誘導が抑制された。しかしながら in vitro での培養時に抗 CD40 リガンド抗体を添加しても CTL 誘導

に影響を与えなかった。4）抗 CD4 抗体は腫瘍感作前の投与または in vitro での培養時の添加、いずれの場合においても CTL の誘導は著明に抑制された。5）抗 IL-4 抗体を腫瘍感作前のマウスに投与すると、その脾細胞から CTL の誘導は抑制されなかったが、CTL 誘導の培養時に添加すると CTL 誘導は著明に抑制された。一方、培養時に抗 IL-12 抗体または抗 IFN-γ 抗体を添加したいずれの場合も、CTL 誘導に影響を与えなかった。6）腫瘍感作 IL-$4^{-/-}$ マウス脾細胞からの CTL の誘導は野生型と比較して減弱していた。7）抗 CD4 抗体、抗 IL-4 抗体の添加による CTL 誘導の抑制効果は、培養直後に添加した場合のみに認められ、培養開始 24 時間以降に添加した場合は認められなかった。8）B7-Ig 刺激により、培養 24 時間以内での CD^{4+} T 細胞から IL-4 産生の増大を認めた。

［考察］本研究により、in vitro の系においても B7.2-Ig 刺激によって CD^{8+} CTL が誘導できることが示された。そのメカニズムとして、in vitro での B7.2-Ig による成熟 CTL 誘導増強効果の発現には、*in vivo* で CD40 リガンドを介した CD^{4+} T 細胞の作用によって、腫瘍抗原に感作された CD^{8+} CTL 前駆細胞と、in vitro での培養初期に CD^{4+} T 細胞より産生される IL-4 の作用が必要であることが明らかとなった。これらの研究成果は、B7.2-Ig を利用した癌ワクチン療法をはじめ、抗腫瘍免疫療法を開発する上で本質的かつ不可欠なものであると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、腫瘍感作マウス由来脾細胞を用いて、T 細胞共刺激因子 B7.2-Ig による、抗腫瘍細胞障害性 T 細胞の誘導増強機構を解析したものである。その結果、B7.2-Ig 刺激によって CD^{8+} CTL が誘導増強され、それには CD^{4+} T 細胞より産生される IL-4 の作用が重要であることが明らかとなった。以上のことは、抗腫瘍免疫応答の誘導メカニズムの解明、ひいては口腔癌を含めた抗腫瘍免疫療法の臨床応用に重要な指針を提示するものである。よって博士（歯学）を授与するに値するものと認める。