



Title	Natural killer cell is a major producer of interferon γ that is critical for the IL-12-induced anti-tumor effect in mice
Author(s)	植村, 彰夫
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54162
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	植村彰夫
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第23647号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Natural killer cell is a major producer of interferon γ that is critical for the IL-12-induced anti-tumor effect in mice (IL-12による抗腫瘍効果における、NK細胞から主要に産生されるIFN γ の重要性)
論文審査委員	(主査) 教授 林 紀夫 (副査) 教授 川瀬 一郎 教授 森 正樹

論文内容の要旨

【目的】IL-12は抗腫瘍免疫に関わるサイトカインとして知られている。一方、IFN γ はIL-12刺激によりT細胞、NK細胞、NKT細胞などから産生される抗腫瘍免疫の中枢的サイトカインである。しかし、それぞれのサブセットから産生されるIFN γ 、特にNK細胞より産生されるIFN γ の抗腫瘍免疫における重要性はまだ明らかではない。今回、IFN γ ノックアウト(GKO)マウスを使用することによりIL-12による肝臓NK細胞の活性化および抗腫瘍効果におけるNK細胞の産生するIFN γ の関与を検討した。

【方法ならびに成績】実験には6から10週齢の野生型マウス、IFN γ ノックアウト(GKO)マウス、Rag2ノックアウトマウスの雌を使用した。遺伝子導入にはIL-12発現プラスミドをhydrodynamic-based transfectionにより尾静脈より急速静注した。投与翌日を最高に血清中にIL-12産生を認め、それに伴い投与3日後を最高に血清中にIFN γ の産生を認めた。プラスミド投与4日後に肝臓リンパ球を抽出し、yac-1をターゲットとしたCr release assayを施行した。プラスミド投与2日前にマウス大腸癌細胞CT26を脾注し、マウス肝転移モデルを作製し、2週間後に抗腫瘍効果を検討した。野生型マウスの肝臓リンパ球ではIL-12発現プラスミド投与後のyac-1に対する細胞傷害活性を認め、肝転移も完全に抑制された。しかし、GKOマウスではいずれの作用も抑制された。FACSの解析では肝臓におけるIFN γ の主要な産生細胞はNK細胞であった。Western blottingの解析ではrIL-12刺激下において野生型マウス由来の脾細胞では

STAT1のリン酸化を認めるのに対し、GKOマウス由来の脾細胞ではSTAT1のリン酸化は認めなかった。DX5陽性細胞と陰性細胞の比較ではDX5陰性細胞に比しDX5陽性細胞でSTAT4及びリン酸化STAT4は強発現していた。Rag2ノックアウトマウスではyac-1に対する細胞傷害活性、抗腫瘍効果いずれも保たれており、NK細胞のみで十分な抗腫瘍効果を認めた。リンパ球移入実験では野生型マウス脾臓リンパ球はCT26脾注翌日にGKOマウスの尾静脈より投与した。IFN γ 産生能を有する野生型マウスの脾臓リンパ球及びIL-12発現プラスミドをGKOマウスに投与するとyac-1に対する細胞傷害活性は回復し、肝転移巣も抑制され、IL-12による抗腫瘍効果が回復した。DX5陽性細胞とDX5陰性細胞の移入実験では、DX5陽性細胞移入時のみyac-1に対する細胞傷害活性、抗腫瘍効果が回復し、NK細胞の産生するIFN γ の重要性が明らかとなった。

【総括】IFN γ 産生能を有するNK細胞をGKOマウスに移入することによりIL-12の肝転移腫瘍に対する抗腫瘍効果は回復した。IL-12による抗腫瘍効果において、NK細胞は先天免疫のエフェクターとしてのみならずIFN γ 産生誘導のメディエーターとしても重要であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

IL-12は強力な抗腫瘍免疫能を有するサイトカインとして知られており、その臨床応用が期待されている。IL-12の中心的な作用の一つに免疫賦活の中枢的サイトカインであるIFN γ の産生を誘導することが知られているが各々の細胞群から産生されるIFN γ の重要性はまだ明らかとなっていない。

今回の研究ではIL-12によるIFN γ の産生は肝臓ではNK細胞が中心であり、IFN γ ノックアウトマウスで消失した肝転移腫瘍の抗腫瘍効果はIFN γ 産生能を有するNK細胞を移入することにより改善を認め、NK細胞の産生するIFN γ が抗腫瘍効果に重要であることが明らかとなった。

本研究ではIL-12遺伝子治療においてNK細胞は従来からの先天免疫として直接細胞障害活性を示すエフェクターとしての役割のみならず、IFN γ の産生を介して抗腫瘍効果を発現する仲介細胞としても重要であることを明らかとしており、学位の授与に値すると考えられる。