



Title	MLL白血病マウスモデルにおける腫瘍免疫監視の解析
Author(s)	長谷川, 加奈
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55822
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

氏名 (長谷川 加奈)

論文題名 MLL白血病マウスモデルにおける腫瘍免疫監視の解析

論文内容の要旨

白血病は、造血細胞ががん化した白血病細胞が骨髄内にとどまらず血液中にも流れ出る血液疾患である。腫瘍細胞が全身を循環している白血病に対する免疫監視機構は固形腫瘍とは異なるとされ、明らかとなっていない。皮下腫瘍のモデルにおいては、腫瘍局所でアポトーシスを起こした腫瘍細胞が出す“danger signals”によって腫瘍抗原特異的CTLが自然に誘導され、腫瘍の消失あるいは進行の抑制がもたらされるという報告がある。しかしながら、これは血液腫瘍である白血病にはあてはまらない。白血病に対する免疫監視によって、固形腫瘍と同じように腫瘍の自然退縮が見られるのかは明らかでない。それを明らかにするためには、まず免疫反応を解析するためのマウス白血病モデルが必要であった。これまでのマウスモデルは、放射線照射マウスへの移植モデルが広く使われており、放射線照射により免疫細胞が傷害されてしまうという限界があった。本研究において、我々はMLL/AF9マウス白血病モデルを用いて、放射線照射などの前処置をせずに野生型マウスの骨髄に白血病細胞を生着させ、白血病を発症させることができるモデルを樹立した。そして、疑似的腫瘍抗原としてovalbuminを発現させたMLL/AF9白血病細胞を移植し、抗原特異的な細胞傷害性T細胞(CTL)反応を解析した。白血病細胞が骨髄に生着するのに必要な最小の細胞数である 3×10^4 個を移植したとき、野生型レシピエントマウスではほとんどが白血病を発症しなかったのに対し、リンパ球を欠損するRag2^{-/-}レシピエントマウスでは全てのマウスが白血病を発症した。したがって、白血病細胞はリンパ球によって排除されたと考えられる。一方で、野生型マウスに 3×10^6 個の白血病細胞を移植したときは、全てのマウスが白血病を発症した。白血病を発症したマウスにおいても、抗原特異的CTLの増幅は見られたが、そのCTLは抗原刺激に対して無反応であり、またexhaustionマーカーであるPD-1やLAG-3を高発現していた。我々は、白血病に対しても自然に誘導された腫瘍抗原特異的CTLによって白血病が拒絶されうること示した。一方で、一度白血病を発症してしまうと、CTLは疲弊していることを明らかにした。免疫監視において癌の発症を抑制する主たる要因は獲得免疫によるものだが、naturel killer (NK)細胞やNK細胞を活性化するレセプターを欠損したマウスで腫瘍の増大が促進するという報告があり、NK細胞も免疫監視に関与していることが示唆される。NK細胞が白血病の発症を制御しているのかを明らかにするために、MLL/ENL白血病細胞を前処理なしに野生型マウスと免疫不全マウスに移植したところ、野生型マウスでは白血病を発症せず、獲得免疫細胞とNK細胞を両方とも欠損するRag2^{-/-}γc^{-/-}マウスでは、全てのマウスが白血病を発症した。さらに興味深いことには、獲得免疫細胞を欠損しているがNK細胞は存在するRag2^{-/-}マウスでは60%のマウスで白血病の拒絶が起こった。これらの結果は、NK細胞が*in vivo*において白血病排除に働いていることを示している。我々はMLLマウス白血病モデルを用いて白血病細胞に対する免疫監視を解析し、MLL白血病に対する免疫システムの制御を明らかにした。このMLL白血病マウスモデルは、白血病に対する抗腫瘍免疫のさらなる基盤的研究、あるいは免疫療法の開発のために有用だと言える。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (長谷川 加奈)		
	(職)	氏 名
論文審査担 当者	主 査 寄附講座教授	尾路 祐介
	副 査 教授	岩谷 良則
	副 査 教授	稲垣 忍

論文審査の結果の要旨

本研究は、白血病に対する免疫監視機構を解析するためのマウスモデルを免疫コンピテントマウスを用いて樹立した腫瘍免疫分野の基礎的研究である。論文の概要は下記の通りである。

まず、白血病は、造血細胞ががん化した白血病細胞が骨髄内にとどまらず血液中にも流れ出る血液疾患である。腫瘍細胞が全身を循環している白血病に対する免疫監視機構は固形腫瘍とは異なるとされ、明らかとなっていない。皮下腫瘍のモデルにおいては、腫瘍局所でアポトーシスを起こした腫瘍細胞が出す“danger signals”によって腫瘍抗原特異的CTLが自然に誘導され、腫瘍の消失あるいは進行の抑制がもたらされるという報告がある。しかしながら、これは血液腫瘍である白血病にはあてはまらない。白血病に対する免疫監視によって、固形腫瘍と同じように腫瘍の自然退縮が見られるのかは明らかでない。それを明らかにするためには、まず免疫反応を解析するためのマウス白血病モデルが必要であった。これまでのマウスモデルは、放射線照射マウスへの移植モデルが広く使われており、放射線照射により免疫細胞が傷害されてしまうという限界があった。本研究において、我々はMLL/AF9マウス白血病モデルを用いて、放射線照射などの前処置をせずに野生型マウスの骨髄に白血病細胞を生着させ、白血病を発症させることができるモデルを樹立した。そして、疑似的腫瘍抗原としてovalbuminを発現させたMLL/AF9白血病細胞を移植し、抗原特異的な細胞傷害性T細胞(CTL)反応を解析した。白血病細胞が骨髄に生着するのに必要な最小の細胞数である 3×10^4 個を移植したとき、野生型レシピエントマウスではほとんどが白血病を発症しなかったのに対し、リンパ球を欠損するRag2^{-/-}レシピエントマウスでは全てのマウスが白血病を発症した。したがって、白血病細胞はリンパ球によって排除されたと考えられる。一方で、野生型マウスに 3×10^6 個の白血病細胞を移植したときは、全てのマウスが白血病を発症した。白血病を発症したマウスにおいても、抗原特異的CTLの増幅は見られたが、そのCTLは抗原刺激に対して無反応であり、またexhaustionマーカーであるPD-1やLAG-3を高発現していた。我々は、白血病に対しても自然に誘導された腫瘍抗原特異的CTLによって白血病が拒絶されうことを示した。一方で、一度白血病を発症してしまうと、CTLは疲弊していることを明らかにした。

次に、免疫監視において癌の発症を抑制する主たる要因は獲得免疫によるものだが、nature killer (NK)細胞やNK細胞を活性化するレセプターを欠損したマウスで腫瘍の増大が促進するという報告があり、NK細胞も免疫監視に関与していることが示唆される。NK細胞が白血病の発症を制御しているのかを明らかにするために、MLL/ENL白血病細胞を前処理なしに野生型マウスと免疫不全マウスに移植したところ、野生型マウスでは白血病を発症せず、獲得免疫細胞とNK細胞を両方とも欠損するRag2^{-/-}γc^{-/-}マウスでは、全てのマウスが白血病を発症した。さらに興味深いことには、獲得免疫細胞を欠損しているがNK細胞は存在するRag2^{-/-}マウスでは60%のマウスで白血病の拒絶が起こった。これらの結果は、NK細胞が*in vivo*において白血病排除に働いていることを示している。我々はMLLマウス白血病モデルを用いて白血病細胞に対する免疫監視を解析し、MLL白血病に対する免疫システムの制御を明らかにした。このMLL白血病マウスモデルは、白血病に対する抗腫瘍免疫のさらなる基礎的研究、あるいは免疫療法の開発のために有用だと言える。

これらの研究により、長谷川氏はMLL白血病細胞を標的とした、CD8陽性T細胞およびNK細胞による腫瘍免疫監視機構の免疫コンピテントマウスを用いたマウスモデルを樹立した。

これらの研究は、白血病の腫瘍免疫監視の研究を進めるうえで大変意義深い研究であり、今後これらのマウスモデルを用いた研究の発展が期待される。以上のように本研究の科学的価値は高く、学位授与に値する内容であると認める。