

Title	Functional human Th17 clones with WT1-specific helper activity
Author(s)	立野, 翔
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59689
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【87】

氏名	立野 翔 <small>たちのしょう</small>
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25913 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 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	Functional human Th17 clones with WT1-specific helper activity (抗原特異的ヘルパー活性を有する WT1 特異的ヒト Th17 クローンの樹立)
論文審査委員	(主査) 教授 熊ノ郷 淳 (副査) 教授 荒瀬 尚 教授 竹田 潔

論文内容の要旨

〔目的(Purpose)〕

近年新たに同定された CD4 陽性 T 細胞サブセットである Th17 は、種々の自己炎症性疾患や感染防御において重要な役割を担っている。腫瘍免疫においても Th17 が重要な役割を担っている可能性を示唆する臨床報告があるが、詳細は依然として不明である。本研究では、腫瘍免疫における Th17 の役割を解明する上で有用なツールとなる、腫瘍抗原特異的 Th17 クローンを樹立する手法を確立し、これを用いて抗原特異的な Th17 の機能解析を行うことを目的とする。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

健康人末梢血より単核球を分離し、Th17 誘導条件下で抗原 (WT1₃₃₂ ペプチド : 腫瘍抗原 WT1 由来ヘルパーエピトープ) 刺激することで WT1 特異的 Th17 を *in vitro* で誘導した。10 日後に再刺激し、活性化マーカーである CD154 の発現を指標として抗原特異的 T 細胞を Single cell sorting することにより WT1 特異的 Th17 クローンを 4 クローン樹立した。

クローンにおける転写因子 (ROR γ)、表面マーカー (CD161、CCR6、CCR4) の発現およびサイトカイン産生 (IL-17、IFN- γ 、GM-CSF、TNF- α 、IL-2) をフローサイトメトリーで確認

したところ、いずれのクローンも典型的なTh17の形質を有しており、その形質はin vitroでの複数回の刺激を伴う長期培養後にも維持されていた。この結果は、本手法により樹立されたTh17クローンが典型的なTh17の形質を有しており、腫瘍免疫におけるTh17の役割解明に有用なツールとなる事を示すものである。

さらに、樹立したTh17クローンがT細胞増殖に与える影響について検討した。スーパー抗原であるTSSST-1でconventional CD4⁺T cell (Tresp)を増殖させ、共培養したTh17クローンのWT1332刺激による活性化がTrespの増殖に与える影響を検討した。その結果、Th17クローンは抗原刺激による活性化依存性に増殖を促進させるヘルパー活性を有することが示された。

[総括(Conclusion)]

本研究により、ヒト末梢血より腫瘍抗原特異的Th17クローンを樹立する手法が確立され、この手法で樹立されたTh17クローンが典型的なTh17の形質を維持していたことから、腫瘍抗原特異的ヒトTh17の機能解析を行う上で有用なツールを得たといえる。また、Th17クローンの抗原特異性を活かし、Th17が抗原刺激による活性化依存性のヘルパー活性を有することを示した。今後より多くのクローンを樹立し、さらなる機能解析を行うことで、腫瘍免疫におけるTh17の役割を明らかにしていく。

論文審査の結果の要旨

CD4陽性T細胞サブセットの1つであるTh17が腫瘍局所に集積している症例が多数存在し、Th17集積が予後と関連することが様々な癌腫で報告されている。興味深い事に、Th17集積群で予後が良好な癌腫と、逆に集積群で予後不良な癌腫が存在する。これらの報告は、腫瘍免疫においてTh17が重要な役割を担っている可能性を示唆するとともに、Th17の適切な制御が予後改善につながる事を示唆するものである。そこで本研究では、ヒトTh17の腫瘍免疫における役割を解明する上で有用なツールとなる腫瘍抗原WT1特異的Th17クローンを効率的に樹立する手法を確立した。本手法により樹立されたTh17クローンは、典型的なTh17の形質を維持しており、WT1タンパクをプロセッシングしHLA上にエピトープを提示した抗原提示細胞を認識・活性化能力を有していた。さらに、樹立されたTh17クローンの機能解析により、ヒトTh17が活性化依存的なヘルパー活性を有することを示唆する結果を得た。これらの結果から、本手法はヒトTh17の機能を明らかにする上で有用であると考えられる。

本研究で確立された手法は、腫瘍抗原特異的ヒトTh17の機能解析を促進することが期待される重要なものであり、その研究成果は博士(医学)の学位授与に値すると考えられる。