

氏 名	かね こ ひと み 金 子 仁 臣
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2870 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Introduction of OX40 Ligand Into Lymphoma Cells Elicits Anti- lymphoma Immunity In Vivo (マウス OX40L 遺伝子導入 T 細胞リンパ腫による in vivo 抗腫瘍免疫の誘 導)
論文調査委員	(主 査) 教 授 松 岡 雅 雄 教 授 淀 井 淳 司 教 授 湊 長 博

論 文 内 容 の 要 旨

T 細胞の活性化には少なくとも 2 つのシグナルすなわち抗原による T 細胞受容体の刺激と抗原提示細胞からの共刺激が必要である。前者のみでは T 細胞はアポトーシスまたはアナジーを来して免疫応答が抑制され、その抗原に対する免疫学的寛容が誘導される。担癌個体では腫瘍特異的 T 細胞がレパトワ中に存在するにもかかわらず、有効な免疫応答を起こすことができず免疫学的寛容に陥っていると考えられる。この免疫寛容状態を打破するために、共刺激分子やサイトカインの人為的な導入が試みられ、CD28 や CD40 の有効性が報告されている。OX40 は TNF 受容体ファミリーに属する共刺激分子の一つであり、T 細胞の持続的な活性化およびエフェクター/メモリー T 細胞の生成に重要な役割を果たすことが知られているが、抗腫瘍免疫における有効性についてはまだ十分検討されていない。本研究ではマウス悪性リンパ腫モデルにおいて OX40L を遺伝子導入した腫瘍細胞を接種して in vivo での抗腫瘍免疫が誘導されるかどうかを検討した。

C57BL/6 マウス T 細胞リンパ腫細胞株である EL4 に OX40L を遺伝子導入した発現量の異なる安定発現株 EL4-OX40L high, int, low, およびそのコントロール遺伝子導入株, EL4-mock を作成した。EL4 またはこれらの遺伝子導入株 1×10^2 個を C57BL/6 マウスの背部に皮内注射し、それぞれの腫瘍の大きさ、生存日数、免疫組織染色による腫瘍巣に浸潤する CD8+T 細胞を比較した。腫瘍の大きさと生存日数はいずれも EL4-mock と EL4 とで差異を認めなかったが、EL4-OX40L は腫瘍の増大が抑制され、生存日数もコントロール群と比較して延長を認め、その程度は OX40L の発現強度に関連していた。また、EL4-OX40L 腫瘍中にはコントロールと比べ、CD8+細胞の浸潤を多く認めた。

各上記細胞株を接種したマウスの脾細胞の EL4 に対する CTL 活性を測定したところ、EL4-OX40L の接種後にそれを拒絶したマウスの脾細胞は EL4, EL4-mock, EL4-OX40L のいずれに対しても CTL 活性を認めた。In vitro においても、マウス脾細胞を EL4-OX40L で反復刺激すると、EL4 に対する CTL 活性が認められた。また、in vivo での抗腫瘍免疫の effector 細胞を調べるため、抗 CD4 抗体または抗 CD8 抗体を前投与し当該細胞を除去した群に EL4-OX40L を接種したところ、無処置の EL4-OX40L 接種群と比較していずれの抗体接種群においても腫瘍の生着が促進された。また、放射線照射した EL4-OX40L を 28 日, 21 日, 14 日, 7 日前に接種した後 EL4 を接種する実験を行い、抗腫瘍免疫が誘導されるのに要する期間を検討したところ、21 日以上前に放射線照射した EL4-OX40L を投与した群において腫瘍の増殖抑制を認めた。

以上より OX40L を発現させた腫瘍細胞の投与は in vivo において抗腫瘍免疫を誘導すること、その抗腫瘍作用は OX40L 発現量と正の相関を示し、CD4+および CD8+T 細胞のいずれも必要とすることが明らかとなった。EL4 特異的 CD8+T 細胞の生成される機序に関しては EL4-OX40L 細胞から直接作用もしくは CD4+OX40+T 細胞のヘルパー作用を介するものと考えられた。

現在の免疫療法の効果はいまだ限局的であり、今後の発展には本例で示したような腫瘍障害性をもつ effector 細胞を増強する方法に加え、担癌個体が免疫抑制状態を形成する機序の解明やそれに関わる細胞の制御が必要である。

論文審査の結果の要旨

担癌個体の免疫学的寛容を打破する方法として、腫瘍細胞への共刺激分子の導入があげられる。OX40はTNF受容体ファミリーに属する共刺激分子で、T細胞の持続的な活性化とエフェクター／メモリー細胞の生成に重要である。そこで、本研究はC57BL/6マウスT細胞リンパ腫細胞(EL4)にOX40リガンド(OX40L)を遺伝子導入し、OX40L遺伝子導入EL4(EL4-OX40L)をC57BL/6マウスに接種して(1)親株(EL4)に対する細胞障害性の誘導、(2)この系のエフェクター細胞を検討し、OX40/OX40L系を介する抗腫瘍免疫の解析を行っている。

(1)では、EL4とコントロール遺伝子導入株(EL4-mock)とで腫瘍の大きさに差異はなかったが、OX40L発現強度の異なるEL4-OX40L(low, int, high)では腫瘍の増大はOX40L発現強度と相関して抑制された。また、EL4-OX40Lを接種したマウスの脾細胞は親株であるEL4に対してCTL活性を認めた。

(2)では、*in vivo*でCD4発現またはCD8発現細胞を除去したマウス群ではいずれも非除去群と比較し、EL4-OX40Lの生着が促進されたことから、抗腫瘍作用の誘導にはCD4発現およびCD8発現T細胞のいずれもが必要と考えられた。

以上の研究は共刺激分子導入による抗腫瘍免疫の誘導方法の開発に貢献し腫瘍の免疫療法の進歩に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年2月10日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。