

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 才田 優
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 653 号
学位授与の日付 平成 27 年 9 月 24 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Critical Roles of Chemoresistant Effector and Regulatory T Cells in Antitumor Immunity after Lymphodepleting Chemotherapy
(抗癌剤を用いたリンパ球除去後の抗腫瘍免疫における、抗癌剤耐性エフェクターおよび制御性 T cells の重要な役割)

論文審査委員 主査 教授 西條 康夫
副査 教授 菊地 利明
副査 教授 土田 正則

博士論文の要旨

【背景】これまでの研究により、殺細胞性抗癌剤や照射によってリンパ球減少状態を誘導された担癌宿主にエフェクター T 細胞が移入されると抗腫瘍効果が増強することが報告されている。また、エフェクターのみならずナイーブ T 細胞が移入されても抗腫瘍効果が発揮されることが報告されている。移入されたナイーブ T 細胞は急速に増殖しメモリー T 細胞様の性質をもつ。また、腫瘍抗原ワクチンはリンパ球減少状態を誘導することにより抗腫瘍効果が増強するといわれている。このように、殺細胞性抗癌剤と免疫療法の組み合わせは今後が期待されるアプローチである。リンパ球減少状態のレシピエントに移入されたドナー T 細胞にこの重要な役割に関しては報告されているが、レシピエントの T 細胞の役割に関しては十分理解されていない。以前申請者らは、照射後マウスのリンパ球減少状態からの回復期に、CD4+CD25+Foxp3+ 制御性 T 細胞の割合が著しく増加することを発見した。これら照射抵抗性制御性 T 細胞を除去することで、抗腫瘍効果を増強し腫瘍生長を抑制することができた。【目的】以上の実験結果の臨床に応用することを想定し、マウスに抗癌剤を用いてリンパ球減少状態を誘導し、抗腫瘍免疫を増強できるか検討した。【方法】実験には、8-12 週令の C57BL6 マウスと Ly5.1 syngeneic マウス、green fluorescent protein gene (GFP) を発現した遺伝子組み換えマウスを使用した。腫瘍は MCA205 繊維筋肉腫を用いた。マウスに抗癌剤を投与し、翌日に腫瘍接種ならびにナイーブ T 細胞として脾臓細胞を移入した。【結果】抗癌剤はシクロフォスファミド (CPA)、フルダラビン、シスプラチン、エトポシドを試した。これら 4 剤の中では、CPA のみが抗腫瘍効果を増強することができた。CPA では他の 3 剤に比べて特に投与早期のリンパ球除去率に優れており、95%以上のリンパ球減少がみられた。CPA 投与後においてリンパ節の制御性 T 細胞の割合を調べたところ、照射後と同様に著しく増加していることが分かった。CPA 投与後増加する制御性 T 細胞を除去する目的で、PC61 (抗 CD25 モノクローナル抗体) をマウスに投与すると、さらに腫瘍生長が抑制された。CPA 投与後に増加している制御性 T 細胞の機能をサイトカインフローサイトメトリーで評価したところ、腫瘍

抗原特異的な IFN- γ の分泌を制御性 T 細胞が抑制することが示された。ドナー T 細胞を GFP マウス由来のものとし、CPA 投与後に増加する制御性 T 細胞がドナー由来かレシピエント由来かを調べたところ、85% がレシピエント由来であることが分かった。BrdU を用いて増殖能を調べたところ、制御性 T 細胞はそのほかの T 細胞と比較しより早く増殖していることが示された。CPA 投与後に移入するドナー T 細胞のうち、CD4 CD8 のどちらが必要かを調べたところ、CD4 陽性 T 細胞が必須であることが示唆された。実際に腫瘍抗原特異的なエフェクター CD4 陽性 T 細胞の 87% がドナー由来であることが示された。一方エフェクター CD8 陽性 T 細胞のうちドナー由来は 11% に留まった。より進行期の治療モデルとして、腫瘍接種 20 日後に治療を行った。CPA と脾臓細胞に加え PC61 を投与した群ではその後も腫瘍生長を抑制することに成功した。移入細胞として担癌マウスの脾臓細胞を用いた場合でも同様に腫瘍成長を抑制することに成功した。【結論】 CPA によるリンパ球除去とナイーブ T 細胞移入は、腫瘍生長を抑制した。CPA 投与後には制御性 T 細胞の割合が増加しており、これら抗癌剤抵抗性制御性 T 細胞を抗体で除去することにより、腫瘍生長をさらに抑制することができた。また進行期の皮下腫瘍モデルにおいても治療に成功した。ドナーとしては CD4 陽性 T 細胞が、レシピエントでは CD8 陽性 T 細胞が必須であることが示唆された。

審査結果の要旨

殺細胞性抗癌剤や照射によってリンパ球減少状態を誘導された担癌宿主にナイーブ T 細胞を移入すると、移入されたドナー T 細胞はエフェクター様の細胞に分化し抗腫瘍効果を示すことが報告されている。しかし、宿主側のレシピエント T 細胞の役割に関しては十分解明されていない。そこで申請者は、化学療法後のリンパ球減少状態からの回復期におけるレシピエント T 細胞の働きを明らかにするため、種々の抗癌剤を投与後の担癌マウスに、別個体である GFP トランスジェニックマウス由来のナイーブ T 細胞をドナー細胞として移入した。担癌マウス内で誘導されたエフェクター CD8 陽性 T 細胞は、ほとんどが GFP 陰性で、レシピエント由来であることがわかった。さらに、

この担癌マウス内で誘導された抑制性 T 細胞も、その約 90% がレシピエント由来であることが明らかになった。本論文は化学療法によって引き起こされたリンパ球減少状態において、残存したレシピエント T 細胞がその後の抗腫瘍免疫の成立に重要な役割を果たしていることを証明した初めての報告であり、博士論文としての価値を十分認める。