

氏 名	北 村 直 美
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 (論) 第 3 6 7 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 1 年 9 月 9 日
学 位 論 文 題 目	OX40 costimulation can abrogate Foxp3 <sup>+</sup> regulatory T cell-mediated suppression of antitumor immunity.  (OX40 を介する補助刺激は Foxp3 <sup>+</sup> 制御性 T 細胞による抗腫瘍免疫抑制機能を解除する)
審 査 委 員	主 査 教 授 藤 山 佳 秀 副 査 教 授 小 笠 原 一 誠 副 査 教 授 田 中 俊 宏

## 論文内容要旨

※整理番号	371	(ふりがな) 氏名	きたむら 直美 北村 直美
学位論文題目	OX40 costimulation can abrogate Foxp3+ regulatory T cell-mediated suppression of antitumor immunity.  (OX40 を介する補助刺激はFoxp3+制御性T細胞による抗腫瘍免疫抑制機能を解除する)		
<p>目的：Regulatory T cell(Tregs)は自己免疫疾患やアレルギーを防ぐための免疫寛容状態を維持するのに重要な役割を担っている一方、自己抗原である腫瘍抗原に対する免疫寛容状態は、抗腫瘍免疫療法の効果をあげるための最も高い障壁となっている。この免疫寛容状態を打破するためのひとつの方法として、エフェクターT細胞の誘導に対する Tregs の抑制機能を制御することが重要である。TNFR family の一員である OX40 は TCR signal を受けた effector T cell 上に一過性に発現するが、Tregs は常に OX40 を発現している。しかし、Tregs に対する OX40 signaling の役割は十分にはわかっていない。私たちは OX40 補助刺激により、Tregs の effector T cell に対する抑制機能を制御できるかどうか調べた。</p> <p>方法：マウスは非免疫寛容モデルとして FVB マウス、そして免疫寛容モデルとして FVB マウスに腫瘍抗原である HER2/neu を遺伝子導入した HER2/neu-transgenic mouse を用いた。Cell line は腫瘍細胞として HER2/neu を発現している NT2.5、そしてワクチン細胞として HER2/neu を発現し、GM-CSF を分泌する 3T3 neu/GM ワクチンを用いた。実験方法は 1. Tregs 上の OX40 および Foxp3 の発現を調べた。2. OX40 補助刺激を加えることで、Tregs 上の Foxp3 の発現が変化するかどうかが調べた。3. OX40 補助刺激により Foxp3 の発現が減弱した Tregs の、effector T cell に対する抑制機能が変化しているかどうかを調べた。4. Tregs に OX40 補助刺激を加えると、naive な CD4+ T cell 同様 naive CD8+ T cell、および primed CD4+ T cell、Primed CD8+ T cell の分裂増殖も抑制するかどうかが調べた。5. OX40 の刺激を受けた Treg は抗腫瘍免疫効果を増強するかどうかを、vivo で確かめた。</p> <p>結果： 1. CD4+CD25<sup>-</sup> T cell は TCR signal を受けたときのみ OX40 を発現しているが、Tregs は naive な状態でも TCR signal を受けた後も常に OX40 を発現していた。また Tregs は naive な状態でも TCR signal を受けた後も Foxp3 を発現していた。2. Tregs にコントロール抗体や IL-2 を加えた群は刺激後も Foxp3 の発現に変化を認めなかったが、Tregs に OX40 刺激を加えた群は刺激後 3 日目に Foxp3 発現の減弱を認めた。3. day1 では Tregs を加えていないコントロール群に比べて、Tregs+rIgG, Tregs+rIgG+IL-2, Tregs+OX40 群すべてにおいて CD4+CD25<sup>-</sup> T cell の分裂増殖は抑制されたが、day3 では Tregs+OX40 群で Treg の抑制効果の減弱を認めた。4. Tregs は Naive な CD8+ T cell、priming された CD4+ T cell の分裂増殖を抑制したが、priming された CD8+ T cell の分裂増殖は十分には抑制しなかった。またこれらの Tregs による分裂抑制機能は、OX40 補助刺激を加えることにより減弱した。5. 腫瘍とワクチンのみを接種した群に比較し、Tregs を養子移入した群は著明に腫瘍の増大をみとめた。一方 Tregs に OX40 補助刺激を加えた群は第 24 日目をピークに腫瘍の縮小を認めた。この結果から Tregs は vivo でワクチンの抗腫瘍効果を抑制するが、その抑制は Tregs に OX40 補助刺激を加えることで制御できることがわかった。</p>			

考察：以上の結果から OX40 補助刺激を加えることにより、Tregs の Foxp3 発現が減弱しその結果 Tregs の、effector T cell の分裂に対する抑制機能が減弱することがわかった。OX40 補助刺激を加えることにより effector T cell の抗腫瘍免疫機能を高めかつ Tregs の抗腫瘍免疫抑制機能を制御する、新しい抗腫瘍免疫療法の確立の可能性が示唆された。

結論：以上より TCR signal と OX40 補助刺激は、Foxp3 の発現を減弱させることによって Tregs の抑制機能を制御することがわかった。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	371	氏名	北村 直美
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>腫瘍免疫療法の成否を左右する生体側要因としての、腫瘍に対する免疫寛容に関わるとされる制御性T細胞 (Treg) の機能を制御することによる腫瘍免疫療法の効果増強を目的として、OX40 補助刺激による Foxp3 発現制御に着目し、OX40 補助刺激による Treg 機能の <i>in vitro</i> での解析と <i>in vivo</i> での抗腫瘍免疫への影響を検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 単離 Treg (CD4+CD25+T 細胞) は恒常的に OX40 を発現していた。</li> <li>2) OX40 mAb にて OX40 補助刺激を加えることにより単離 Treg の Foxp3 発現が減弱した。</li> <li>3) 単離 Treg を OX40 補助刺激することにより、抗 CD3 抗体で活性化された CD4+ T 細胞に対する分裂増殖抑制機能は有意に減弱した。</li> <li>4) HER2/neu 免疫寛容マウスより単離した Treg を養子移入することにより、HER2/neu 発現腫瘍移植マウスに対する 3T3 neu/GM 細胞による腫瘍ワクチン効果が抑制されるが、あらかじめ OX40 補助刺激を単離 Treg に加えることによりその作用は減弱した。</li> </ol> <p>本論文は、腫瘍免疫の制御を介する抗腫瘍免疫療法について新たな知見を与えたものであり、平成21年8月26日に最終試験として論文内容に関連した試問を受け、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p>			
(平成21年 9月 3日)			