

[ 別紙 2 ]

審査結果の要旨

氏名 大畑 順子

本研究では、マウスを用いて、MHC不一致同種骨髄移植と同時に白血病細胞を宿主に移入したGVHD-白血病モデルで、CD80/86-CD28 あるいは CD154-CD40 副刺激経路阻害による GVHD 予防効果、および GVHD 予防後の白血病細胞増殖に対する免疫反応である GVL 効果を比較検討し、さらに宿主マウスにおける免疫エフェクター細胞の機能についての検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. C57BL/6 (B6) →C57/BL/6 x BALB/c (CBF1) 骨髄移植モデルにおいて、放射線照射 (10 Gy) を行った CBF1 宿主マウスに、野生型 B6 マウスの T 細胞除去骨髄細胞とともに、野生型 B6、CD28 欠損 B6 あるいは CD154 欠損 B6 マウスの脾細胞を同時移入し GVHD を誘導した。CD28 欠損、あるいは CD154 欠損ドナー脾細胞を移入したマウスでは、野生型 B6 ドナー脾細胞を移入した対照マウスに比較して、GVHD の指標である生存率、体重減少が明らかに改善され、これらの分子が GVHD の発症に重要な役割を果たしていることが示された。
2. これらの副刺激経路阻害による GVHD 予防後の GVL 効果を、BALB/c 由来 B リンパ球性白血病細胞株である BCL1 を用いて検討するために、BALB/c を宿主とし、放射線照射量を 650 Gy に減じて GVHD 陽性対照群が骨髄移植後第 28 日までに 70%が生存可能である急性 GVHD モデルを確立した。副刺激阻害は抗体投与によって行った。このモデルにおいて、抗 CD80/86 抗体あるいは抗 CD154 抗体投与マウスでは、対照抗体投与マウスに比較して、生存率、体重減少、リンパ球再構築を指標とする GVHD が明らかに改善された。
3. 上記 C57BL/6 (B6) → BALB/c 骨髄移植モデルを用いて骨髄移植と同時に BCL1 を移入し骨髄移植後第 28 日に宿主マウスの脾臓重量測定を行ったところ、抗 CD80/86 抗体投与群では対照抗体投与

群と同様の脾臓の萎縮がみられたのに対し、抗 CD154 抗体投与群で約半数に腫瘍性脾腫を認め、明らかに GVL 効果が抑制されることが示された。

4. C57BL/6 (B6) → BALB/c 骨髄移植モデルにおける骨髄移植後第 14 日の GVHD 誘導マウスの脾細胞において、ドナー由来細胞は 99%以上を占めていた。各マウス群における脾細胞の IFN $\gamma$  産生細胞率、宿主同種抗原に対する細胞障害活性による T 細胞機能を測定したところ、各副刺激阻害による T 細胞機能に明らかな差異がないことが示された。
5. ドナー脾細胞から asialo GM1<sup>+</sup>細胞を除去することにより BCL1 の増殖は顕著に促進されドナー asialo GM1<sup>+</sup>分画は BCL1 に対する GVL 効果に重要な役割を果たしていることが示された。しかし 2 元配置分散分析により asialo GM1<sup>+</sup>細胞は各副刺激阻害による BCL1 増殖の違いには関与していないことが示された。
6. 抗原刺激直後の APC 機能を評価するために、B6 マウスに、放射線照射した BALB/c マウス脾細胞を尾静脈より移入し、B6 マウス脾細胞の IL-12 p40 mRNA の経時的発現を半定量的 RT-PCR 法にて測定した。IL-12 p40 は細胞移入後、6-12 時間をピークとして発現した。同種脾細胞移入および副刺激阻害抗体投与を行い、6 時間後の IL-12 p40 の発現量を各マウス群において比較したところ、IL-12 p40 の発現は各副刺激阻害群で対照抗体投与群より抑制されており、抗 CD154 抗体投与群での発現は抗 CD80/86 抗体投与群と比較して有意に強く阻害されることが示された。このことから、移植後初期の IL-12 の発現の違いが、IL-12 を介する抗腫瘍エフェクター機能に影響を与え、BCL1 に対する免疫応答の違いをもたらした可能性が考えられた。

以上、本論文は、CD40 阻害、CD28 阻害とも同種骨髄移植後の急性 GVHD を効果的に抑制し致死性を回避するが、CD40 阻害では、in vivo における GVL 効果も著しく減弱させることを、BCL1 白血病モデルにおいて明らかにした。白血病治療のための造血幹細胞移植治療法において、免疫抑制療法とし

での副刺激阻害抗体療法の導入に対する警鐘を促す重要な結果と考えられ、学位授与に値するものと考えられる。