

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 中 原 さ お り

本研究は、免疫応答において重要な機能を有すると考えられる樹状細胞 (DC) の抗原提示能を高め、癌に対する DC ペプチドワクチン療法における癌特異的細胞性免疫の誘導を向上させるタイプの DC を得ることを目的としたものであり、わが国で既に癌の免疫療法に臨床使用されている溶連菌製剤 (OK-432) の DC に及ぼす影響が、この目的に合致するか否か、また、その作用機序の解析を試みたもので、下記の結果を得ている。

1. 健常成人の末梢血単核球から GM-CSF と IL-4 存在下に 7 日間培養して誘導した浮遊細胞の 90%以上の細胞が、未熟 DC に典型的な phenotype を持っていた。この未熟 DC に OK-432 を加えることで、DC の成熟因子として知られる TNF- $\alpha$  や lipopolysaccharide (LPS) と同様に DC の成熟が促されることがわかった。また、この成熟過程で IL-12 および IFN- $\gamma$  の産生が、OK-432 刺激群で著明に上がっており、TNF- $\alpha$  または LPS で刺激した DC からの産生と比較しても有意に高く、OK-432 が Th1 タイプのサイトカイン産生を促すことが示された。
2. OK-432 で刺激した DC に癌拒絶抗原ペプチド (CE3) をパルスし、CD8 陽性 T 細胞に抗原提示を行った場合に、未熟 DC や TNF- $\alpha$  刺激した DC、LPS 刺激した DC よりも高い CE3 特異的細胞傷害活性をもつ CTL が誘導されることが  $^{51}\text{Cr}$  release assay で確認された。また、HLA-A\*2402 と CE3 の複合体に結合可能な T cell receptor を持つ T 細胞を認識する CE3-HLA-A\*2402/CE3 tetramer を用いて検索したところ、CE3 特異的 CTL frequency についても、OK-432 刺激 DC で抗原提示を行った T 細胞群で最も高値を示すことが確認され、OK-432 で刺激した DC に抗原ペプチドを提示させることにより、特異的な CTL を効率よく誘導できることが示された。

3. OK-432 のシグナル伝達における toll-like receptor 2 (TLR2) および TLR4 の関与の有無をそれぞれの cDNA を導入した細胞を用いて検討した結果、OK-432 のシグナル伝達における TLR2 や TLR4 の関与の可能性は低いことが示された。
4. TLR 以外にバクテリアのシグナル伝達に関与していると思われる  $\beta$  2 インテグリンの関与について、抗 CD11b 抗体、抗 CD11c 抗体、抗 CD18 抗体によるサイトカイン産生抑制試験により検討した結果、OK-432 刺激後の DC からの IL-12 産生は抗 CD18 抗体で、約 40% 抑制されることが明らかとなり、OK-432 のシグナル伝達に  $\beta$  2 インテグリンが関与していることが示された。

以上、本論文は OK-432 の DC に対する成熟効果、及び、OK-432 により刺激された DC のもつ強力な癌特異的細胞性免疫誘導能を明らかにした。また本研究で、すでに安全性の確立された OK-432 が DC を用いた癌免疫療法の効果向上に寄与する可能性のあること、LPS のシグナル伝達と溶連菌全菌体のシグナル伝達経路には明らかな違いがあることが指摘されたことは、今後の DC を用いた癌免疫療法の研究、及び臨床応用に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。