

## 審査の結果の要旨

氏名 東 剛司

本研究は腫瘍免疫において重要な役割を演じていると考えられている CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の V $\alpha$ 24NKT 細胞に対する抑制作用を明らかにするため、V $\alpha$ 24NKT 細胞の細胞増殖能、サイトカイン産生、細胞傷害活性について評価し、その機序について解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. リンパ球混合試験により、V $\alpha$ 24NKT 細胞の $\alpha$ -GalCer 特異的な細胞増殖能は CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞により抑制されることが示された。この抑制は CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞数依存性に増強し、V $\alpha$ 24<sup>+</sup>V $\beta$ 11<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>、V $\alpha$ 24<sup>+</sup>V $\beta$ 11<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、V $\alpha$ 24<sup>+</sup>V $\beta$ 11<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>NKT の各 subset 間において差は認めなかった。
2. ELISA 法により V $\alpha$ 24NKT 細胞がさまざまなサイトカイン (INF- $\gamma$ 、IL-4、IL-13、IL-10) を産生し、その産生パターンは各 subset により異なり、さらに CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞との共培養による V $\alpha$ 24NKT 細胞のサイトカイン産生が抑制されることが示された。この抑制はサイトカインあるいは subset 間では差は認めなかった。
3. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の V $\alpha$ 24NKT 細胞に対する抑制の機序を解析した。液性因子の評価として抗 IL-10 抗体、抗 TGF- $\beta$  抗体を用い、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の V $\alpha$ 24NKT 細胞に対する細胞増殖の抑制作用を検討した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞による抑制作用はこれらの抗体で阻害されないことを示した。次に抗 ICAM-1 抗体、transwell を用い細胞間直接接触を検討した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の抑制作用は阻害されることが示された。さらに CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の樹状細胞に対する作用をフローサイトメトリーによって CD40、54、80、86、HLA-DR、CD1d の発現を評価した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞との共培養

により MoDC 細胞表面上のこれらの分子の発現低下は認められなかった。

4. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の V $\alpha$ 24NKT 細胞の抗腫瘍効果に対する抑制作用を <sup>51</sup>Cr 放出試験により解析した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞との共培養により V $\alpha$ 24NKT 細胞の MOLT-4、Jurkat に対する細胞障害活性は阻害されることが示された。

以上、本論文は CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞により V $\alpha$ 24NKT 細胞の  $\alpha$ -GalCer 特異的な増殖能、サイトカイン産生、細胞傷害活性は抑制されることを示し、さらに抑制作用の機序として、V $\alpha$ 24NKT 細胞との細胞間直接接触に依存していることを明らかにした。これらの結果は V $\alpha$ 24NKT 細胞を用いた細胞免疫療法において CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>抑制性 T 細胞の抑制を併用することにより抗腫瘍効果の増強の可能性を示唆し、癌に対する免疫療法の開発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。