

医研第317号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Generation of mature dendritic cells with unique phenotype and function by in vitro short-term culture of human monocytes in the presence of interleukin-4 and interferon- β

(ヒト単球をインターロイキン-4 とインターフェロン- β 存在下で試験管内短期培養することによる独特な表現型と機能を持つ成熟樹状細胞の分化誘導)

氏名 张丽峰 (張)

[目的]

免疫賦活機能を持つ樹状細胞 (dendritic cells, DC) を用いた免疫療法は悪性腫瘍だけではなく、最近ではHIV-1感染症等の治療にも効果があることが報告されている。本研究は、より短期間で機能的DCを分化誘導する新たな方法を開発することを目的とした。

[方法]

単球はヒト末梢血単核球 (PBMC) から精製し、種々のサイトカインおよび刺激因子の分化誘導能を試験管内培養で検討した。DCへの分化は、表面抗原の発現パターンをフローサイトメトリーで調べることにより確認した。DCの機能はIL-12、IL-10やTNF- α の産生性、およびアロ T細胞との混合培養によるT細胞刺激能で検討した。

[結果]

種々のサイトカインの組合せを検討した結果、単球をIL-4とIFN- β 存在下で培養する系で培養1日目に刺激因子であるKLH、LPSまたは不

活化HIV-1を添加し、さらに2日間培養することによりDCの表現系を有した細胞に分化することが分かった。これらの細胞（4B-DCと略）の表面には成熟ミエロイドDCマーカであるCD83と免疫刺激分子マーカであるCD80とCD86、及びHLAクラスI、IIの高い発現が見られた。4B-DCはCD14とCD11cを高く発現したが、CD1aは発現しなかった。抗CD14ブロッキング抗体はLPS刺激による4B-DCの誘導を阻害したが、KLHや不活化HIV-1刺激による4B-DCの誘導は阻害しなかった。興味深いことに、定法のIL-4とGM-CSFで分化させたDC（G4-DCと略）と異なり4B-DCには、T細胞活性化マーカとして知られるOX40及びそのリガンドOX40Lを発現する細胞集団が見られた。4B-DCは細菌貪食活性を有し、3日間の培養でIL-12及びTNF- α を産生したが、IL-10の産生は陰性であった。混合培養において4B-DCで刺激されたアロのナイーブCD4⁺T細胞はG4-DCで刺激された場合と比べて、細




胞増殖およびIFN- γ 産生の刺激能が低かった。しかし、4B-DCはG4-DCと比較してより強くアロCD8⁺ T細胞の増殖とIFN- γ 産生を促した。

[考察]

本研究により、IL-4とIFN- β 存在下で単球をKLH、LPSや不活化HIV-1で刺激培養することにより3日間で成熟かつ機能的な樹状細胞へと分化誘導できることが初めて明らかにされた。定法で分化させたG4-DCと比較して、4B-DCは独特な形態と表現型を持ち、アロCD4⁺ T細胞よりもアロCD8⁺ T細胞を強く刺激した。そのメカニズムには4B-DCがOX40を発現すること、CD8⁺ T細胞はOX40L（未発表）を発現することと関連するのかも知れない。このような機能を持ち合わせる4B-DCはより迅速に誘導できるため、臨床応用においてDCの新たな選択肢を提供すると期待される。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	* <u>課程博</u> 論文博	第 号	氏名	張 麗 峰
論文審査委員	平成20年2月28日			
	主査教授	松 崎 吾 朗		
	副査教授	藤 田 次 郎		
副査教授	渡 部 久 実			
(論文題目) Generation of mature dendritic cells with unique phenotype and function by in vitro short-term culture of human monocytes in the presence of interleukin-4 and interferon-β				
(論文審査結果の要旨)				
1. 研究の背景と目的： 免疫賦活能を有する樹状細胞 (DC) を用いた免疫療法が、human immunodeficiency virus (HIV)-1 感染症などの治療にも効果があることが報告されている。本研究では、より短期間で機能的 DC を分化誘導する新しい方法を開発することを目的とした。				
2. 研究内容： ヒト末梢血単核球 (PBMC) を種々のサイトカインの組合せで培養した結果、interleukin (IL-4) とインターフェロン (IFN) -βの存在下で培養し、さらに刺激因子 (KLH、LPS、又は HIV-1) を添加することにより、特有の表面形質を示す DC (4B-DC) に分化することが判明した。4B-DC は、通常使われる IL-4+GM-CSF 培養で誘導される DC (G4-DC) と比較し、免疫刺激マーカー CD80・CD86 および MHC class I の発現が高く、また G4-DC では発現されない OX40 および OX40L の発現も認められた。さらに、4B-DC では強い IL-12 及び TNF-α 産生が認められたが、IL-10 産生は G4-DC と同レベルであった。アロ T 細胞との混合培養では、4B-DC は CD4+T 細胞に対する増殖反応と IFN-γ 産生の誘導は G4-DC より低いが、CD8+T 細胞に対してはより強い増殖と IFN-γ 産生を誘導した。				
3. 研究の成果の意義と学術的水準： CD8+T 細胞はウイルス感染細胞や腫瘍細胞の排除に重要な役割を果たしているが、本研究では、この CD8+T 細胞の誘導能が強い OX40/OX40L 陽性ヒト DC (4B-DC) を新たに見出し、かつ簡便に誘導する培養系を確立した。今後、この 4B-DC を用いて CD8+T 細胞を選択的に誘導する DC ワクチンを開発する可能性も示唆され、医学的な見地からも重要である。				
以上の結果から、本論文は学位授与に十分値するものと判断した。				

- 備考 1 用紙の企画は A4 とし縦にして左横書きとすること。
2 要旨は 800~1200 字以内にまとめること。
3 *印は記入しないこと。