

## 審査の結果の要旨

氏名 永井 成勲

本研究は、生体内で白血球の遊走に重要な役割を担うケモカインの一種である CCL21 の腫瘍特異的細胞傷害性 T 細胞誘導への関与について解析したもので、以下の結果を得ている。

1. マウス皮下腫瘍モデルにおいて、CCL21 遺伝子導入マウス繊維芽肉腫細胞株である MCA205/CCL21 は、コントロールとして Zeocin 耐性遺伝子のみを導入した同 MCA205/Zeo に比して、腫瘍増殖が有意に抑制された。免疫組織学的検討では、MCA205/CCL21 は、MCA205/Zeo に比して著明な CD11c 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD4 陽性細胞の腫瘍への浸潤を認めた。
2. 成熟樹状細胞、naïve T 細胞、マウス繊維芽肉腫細胞株 MCA205 を含む混合培養系を用いた解析により、CCL21 蛋白の添加に伴いその容量依存的に培養上清中の IFN- $\gamma$  濃度の上昇が認められた。そこで、トランスウェルを用いて各々の細胞の接触を阻害したところ、この CCL21 蛋白の添加に伴う IFN- $\gamma$  産生には成熟樹状細胞、naïve T 細胞の細胞間接触が不可欠であることが判明した。更に、IFN- $\gamma$  遺伝子ノックアウトマウス由来の樹状細胞、T 細胞を用いた検討から、この IFN- $\gamma$  は T 細胞から産生されていることが判明した。
3. 成熟樹状細胞、naïve T 細胞、マウス繊維芽肉腫細胞株 MCA205 を含む混合培養系を用いた解析により、CCL21 蛋白の添加による naïve T 細胞からの Th1、Tc1 偏向が示唆された。
4. 成熟樹状細胞、naïve T 細胞、マウス繊維芽肉腫細胞株 MCA205 を含む混合培養系を用いた解析で、CCL21 蛋白の添加に伴い MCA205 に対して特異的な細胞傷害性 T 細胞の誘導が示唆された。

5. 固相化 CD3 $\epsilon$  抗体による naïve T 細胞の T 細胞レセプター刺激と同時に CCL21 蛋白を添加し 24 時間後にチミジン取り込み試験を行なった結果、CCL21 の濃度依存的な T 細胞増殖促進効果を認めた。また、72 時間培養後の生細胞数、生細胞率、非アポトーシス細胞の割合は、固相化 CD3 $\epsilon$  抗体単独刺激群、CCL21 蛋白単独刺激群に比較して有意に増加していた。
6. 上記 5 に記した CCL21 の naïve T 細胞への作用は、固相化 CD3 $\epsilon$  抗体刺激 6 時間後に CCL21 蛋白を添加した場合、CCL21 蛋白非添加群に比較して差を認めなかった。

以上本論文は、腫瘍局所環境下において CCL21 がタイプ I 免疫誘導能、T 細胞増殖活性能を伴い腫瘍特異的細胞傷害性 T 細胞誘導に強く関与している可能性を示唆するものである。本研究は、これまで解明されていない CCL21 による細胞性免疫誘導能を明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。