

Title	放射線治療による抗原未感作T細胞(CD45RA+細胞)の障害とその回復
Author(s)	榎殿, 玲子; 大内田, 敏行; 榎殿, 敦 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1992, 52(2), p. 223-228
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/14832
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

放射線治療による抗原未感作 T 細胞（CD45RA⁺細胞）の 傷害とその回復

久留米大学医学部免疫学教室

榎 殿 玲 子

榎殿放射線科病院及び広島臨床放射線医学研究所

大内田 敏 行 榎 殿 敦

九州大学医学部放射線科学教室

神 宮 賢 一

（平成3年8月5日受付特別掲載）

（平成3年12月4日最終原稿受付）

Severe Damage of CD4-2H4⁺ T Subpopulation Cells (Naive T Cells and Suppressor/Inducer) by Radiation Therapy, their Recovery Being Promoted by a Plant Alkaloid

Reiko Makidono

Department of Immunology, School of Medicine, Kurume University

Toshiyuki Ōuchida and Atsushi Makidono

Makidono Radiological Clinics and Hospital, and The Attached Institute

Kenichi Jingu

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

Research Code No. : 405.9

Key Words : Radiosensitivity of T cells, CD45, CD4, CD8,
Plant alkaloid (Cepharanthin)

Radiation therapy eventually causes severe damage of lymphocytes. We examined numbers of CD4⁺ (helper/inducer) and CD8⁺ (cytotoxic/suppressor) T cells, as well as CD4-2H4⁺ and CD8-2H4⁺ subpopulation cells in the peripheral blood of patients during the radiation therapy, when lymphocytes decreased to the lowest level (500—1000/mm³).

The highest molecular isoforms of the CD45 antigen family, recognized by monoclonal antibody (2H4), are designated CD45RA. Mature but antigen non-primed, naive T cells expressing CD45RA were assumed to be most radiosensitive among T cells, from the view point of radiation biology. Analysis of their damage was, therefore, the focus of this study. The mean values for all cell populations were significantly reduced as compared to those of normal individuals, the CD4-2H4⁺ cells having been affected most severely.

Recovery was first detected in CD8-2H4⁺ cells after one month. Intravenous injections of a plant alkaloid, Cepharanthin, was effective in promoting recovery of CD4-2H4⁺ subpopulation.

1. はじめに
放射線治療或いは制癌剤療法による造血障害

は、治療を妨げる大きな要因である。特にリンパ
球の傷害は個体免疫機能の低下を来し、感染症を

Table 1 Damage and recovery of T cells in patients with lymphopenia caused by radiation therapy

T subset cells No. of cells /mm ³		Normal controls	Patients		
		(N=17)	on day 0 (N=27)	on day 30 without CE (N=9)	on day 30 with CE (N=18)
CD4 ⁺ cells		1,152 ± 37*	402 ± 198*	411 ± 198	568 ± 228
CD8 ⁺ cells		706 ± 222*	280 ± 144*	301 ± 262	413 ± 196
CD4-2H4 ⁺ cells		484 ± 135*	113 ± 76 ^{a(d)}	92 ± 24 ^{e)}	227 ± 19 ^{d(e)}
CD8-2H4 ⁺ cells		395 ± 190*	146 ± 111 ^{a(b)}	239 ± 41 ^{b)}	248 ± 168
CD4-2H4/CD4(%)		42 ± 13 ^{b)}	28 ± 12 ^{a(c)}	32 ± 16	40 ± 14 ^{c)}
CD8-2H4/CD8(%)		56 ± 14	52 ± 16	58 ± 4	60 ± 14

*.a)-e) ; statistically significant, $p < 0.001$.

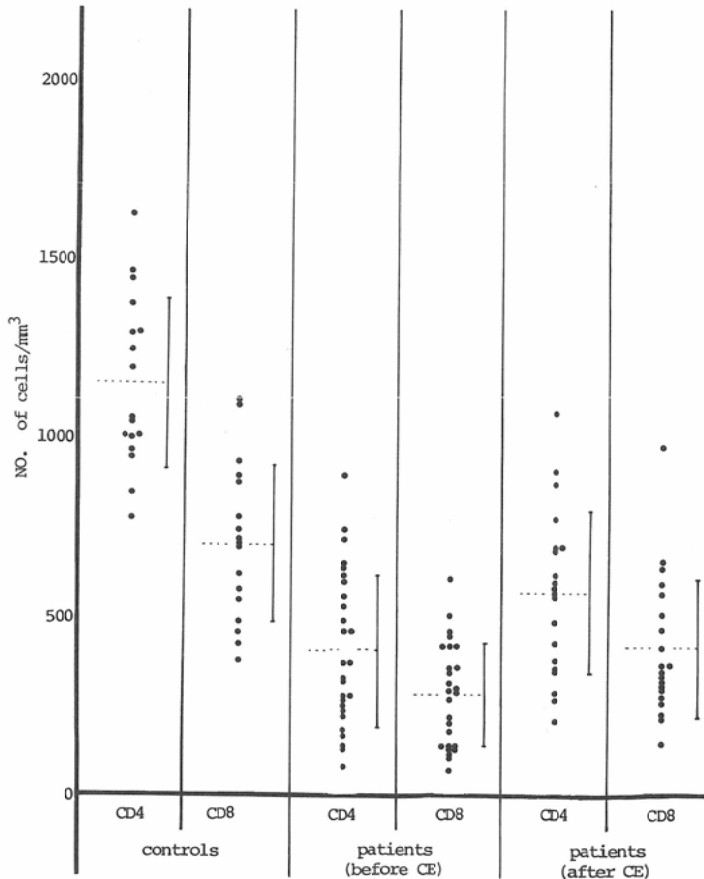


Fig. 1 Profound damage of CD4⁺ and CD8⁺ T cells remained at least one month after radiation therapy

増加させるとともに免疫学的な腫瘍排除機転を減弱させる¹⁾²⁾。したがって、治療効果を高めるためには、放射線障害の特性を把握し、早期回復を計

る必要がある。

この研究ではリンパ球減少が高度となり治療の継続が困難となった時点でのリンパ球傷害を解析

し、治療の一助とすることとした。その結果、特にリンパ球機能との関連においてそのアイソフォームの発現様式が注目されている CD45抗原の中、220kDa と205kDa のアイソフォームを発現した CD4-2H4⁺細胞(CD45RA)の減少が著しい事が明らかになった。この細胞群には、抗原に接触していない T 細胞 (naive T cells) が含まれるものと考えられており³⁴⁾、この減少により重篤な免疫不全を結果する可能性がある。しかし、これが植物アルカロイドの一種である Cepharanthin (CE) の投与により回避されうる結果も得られたので、併せ報告する。

II. 材料及び方法

症例；九州大学医学部付属病院の入院並びに外来患者と、槇殿放射線科病院（広島市）の入院患者の中より選ばれた。健常群は、患者群と年齢分

布の等しい献血者の中より選ばれた。

リンパ球細胞表面抗原の検索；各症例とも、末梢血リンパ球が500~1,000/mm³に減少した時点と、それより1カ月後の時点で検索した。使用したモノクロナル抗体は、FITC(fluorescein isocyanate)標識した抗CD4 (anti-Leu3a), 抗CD8 (anti-Leu2a+Leu2b), 抗 CD3 (OKT3), 抗 CD11b (OKM1) の各抗体と PE (phycoerythrin) 標識 CD45RA 抗体 (2H4-RD1) である。

末梢血より分離した白血球或いは T 細胞を各種モノクロナル抗体で染色した後、陽性細胞百分率を Flow cytometry (Spectrum III, Ortho Diagnostic systems Inc.) 或いは蛍光顕微鏡 (Olympus 社) 観察により解析した。2 color 解析は、CD45RA と CD4或いは CD8の組合わせで行った。混入した細胞は、CD20と CD11b の陽性率

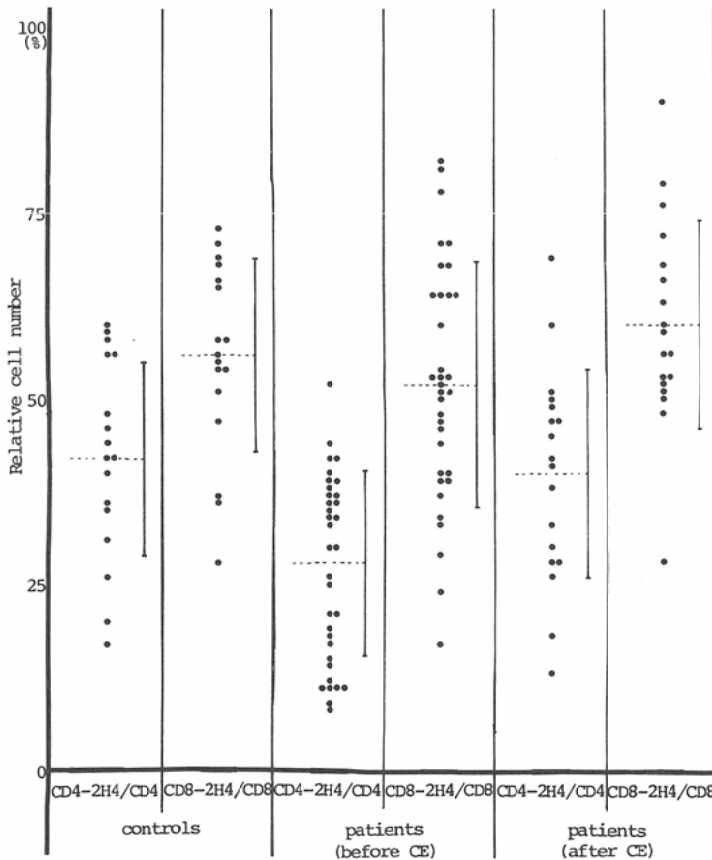


Fig. 2 Disproportion of CD4-2H4⁺ cells after radiation therapy was normalized by intravenous administration of Cepharanthin

で計算値を補正することにより除外した。細胞の絶対数は、 1mm^3 当たりの数値で示した。

薬剤；Cepharanthin (CE)，ツヅラフジ科植物タマサキツヅラフジから抽出したアルカロイド⁵⁾。患者への投与は、注射液 (pH 2.5~3.5) を生理食塩水で3~5倍に希釈し、50mg/日を隔日に静注した。

有意差検定；Student-t test によった。

III. 結 果

1. 腫瘍照射によるCD4⁺細胞とCD8⁺細胞の傷害と回復；患者では両細胞の有意な減少が認められた (CD4⁺とCD8⁺細胞いずれについても $p < 0.001$) (Table 1, Fig. 1)。患者群 ($n=27$) のCD4⁺とCD8⁺細胞数は健常者 ($n=17$) の対応する細胞数のそれぞれ35%と40%であった。

次にこの時点より1カ月間の両細胞の回復を検索した。CD4⁺とCD8⁺細胞いずれにも有意な増加はなかった。CEを投与された患者 ($n=18$) ではその回復促進効果を調べた。この群でも両細胞の有意な増加はなかった (Table 1)。

2. 腫瘍照射によるCD4-2H4⁺とCD8-2H4⁺亜分画細胞の傷害と回復；いずれの細胞群にも高度な傷害が検出された (Table 1, Fig. 2)。患者群のCD4-2H4⁺とCD8-2H4⁺細胞は、健常群のそれぞれの細胞数に対して23%と37%であった。またCD4⁺細胞では2H4⁺細胞の占める比率も低下した ($p < 0.001$)。

両亜分画細胞についても1カ月間の回復を調べた。CE非投与ではCD8-2H4⁺細胞にのみ回復が認められた。CE投与により2H4⁺細胞のCD4⁺細胞内で占める比率が上昇し、絶対数も増加した ($p < 0.001$)。しかしCD8-2H4⁺細胞に対する自然回復促進作用はなかった (Table 1)。

IV. 考 察

放射線治療がリンパ球を高度に傷害することが、この研究でも示された。リンパ球を構成するT細胞とB細胞のうち、特にT細胞は多種多様な免疫反応の中心的役割を果たす細胞であるため、この傷害は個体免疫機能に多大な影響を与える。

T細胞はCD4⁺とCD8⁺細胞表面抗原の有無に

よって機能的に異なるヘルパー/インデューサー細胞とサプレッサー/キラー細胞に大別されている。そして、近年発見されたCD45分子のアイソフォームの種類から、CD4⁺とCD8⁺細胞を更に機能的に異なる亜分画細胞に分類することが試みられている。CD45分子は、造血系細胞に広く分布する分子量180~220kDaからなる高分子糖鎖蛋白質であり、5つのアイソフォームから成り立っている⁶⁾。既にこれらの抗原を認識する複数のモノクロナル抗体が作成され解析に役立っている。この研究で用いた2H4抗体は、CD45分子の220kDaと205kDaのアイソフォーム (CD45RA) を、UCHL-1抗体は180kDaのアイソフォーム (CD45RO) を認識する。

T細胞の分化成熟は、胸腺で行われる。胸腺細胞の70%はUCHL-1⁺細胞であるが、これは自己抗原に反応するため胸腺内で死滅する³⁾。一方2H4⁺細胞は、主に髄質に分布し全体の1%を占めるに過ぎないが、強い再生能を持ち、成熟T細胞として末梢に分化して来るものと考えられる⁴⁾。末梢T細胞には180kDa、190kDa、205kDa及び220kDaのアイソフォームが発現している。これらのCD45アイソフォームは、別々の異なった系列のT細胞に発現されるのではなく、分化と活性化に伴って同一細胞上で変換するものと理解されている。これは種々の活性化過程で2H4 (CD45RA) → UCHL-1 (CD45RO) へアイソフォームの変換が認められることや、CD45RAとCD45ROがCD4⁺とCD8⁺細胞にそれぞれ相反的に発現している事により支持されている。そしてCD45抗原と種々の細胞機能との関連が、次第に明らかにされている。例えばCD4-2H4⁺細胞は、CD8⁺細胞に働いてサプレッサー機能を誘導する (サプレッサー・インデューサー細胞)。CD4-UCHL-1⁺細胞は、B細胞に対するヘルパー細胞として機能する。CD8-2H4⁺細胞にはサプレッサーエフェクター細胞及びキラー前駆細胞が存在し、CD8-UCHL-1⁺細胞にはキラーエフェクター細胞が存在する等である。

放射線生物学的には、未分化な細胞は分化した細胞よりも放射線感受性が高いことが知られている。抗原未感作T細胞 (naive 又は virgin T) は、

抗原により分化した機能細胞よりも放射線感受性が高い事が予想された。そして今回それを裏づける結果を得た。CD4⁺2H4⁺とCD8⁺2H4⁺細胞間では、前者がより傷害されやすい事が示された。

CD4⁺2H4⁺細胞が著しく減少した状態では、抗原未感作T細胞の減少の他に、サブレッサー・インデューサー細胞の減少が考えられる。われわれは、胸腺が放射線治療の照射野に入り直接照射されると、CD4⁺細胞が減少し、PWM誘導Ig産生を非特異的に抑制する活性が低下することを見出した⁸⁾。CD4⁺2H4⁺細胞に含まれるサブレッサー・インデューサー細胞も同じAッセイ系で同定されているところより⁷⁾、この抑制活性の低下はCD4⁺2H4⁺細胞の分化の障害による可能性が強く示唆された。

放射線治療に伴うリンパ球傷害の特性は、1) CD4細胞は腫瘍治療開始前に既に低下していることが多く、照射により更に減少する、2) 照射野面積が極端には広くない放射線治療(腫瘍照射)においては、照射中CD4⁺とCD8⁺細胞は均等に傷害される、3) 照射野面積が更に広がると、CD4⁺細胞の傷害がCD8⁺細胞のそれよりも強い傾向となる等である²⁾。今回の検索では、照射野面積が極端には広くない症例を集計した。しかし、治療中止時点(Table 1, Day 0)までの集積線量が一定ではなかったため、上記の法則性は証明出来なかった。

亜分画細胞の動態によって、CD4⁺細胞群の自然回復は、CD8⁺細胞群のそれよりも遅いことが示された(Table 1)。しかし、CE投与によりCD4⁺2H4⁺細胞の回復は有意に促進された。我々は以前に、各種白血球増多剤のリンパ球に対する回復促進作用を解析し、CEは末梢血T細胞を増加させ、個体免疫機能を回復させることを明らかにした⁹⁾。興味あることは、この薬剤を白血球やリンパ球傷害がない人に投与しても、増多作用が認められないことである。それは例えば円形脱毛症の治療薬としてCEを長期投与した症例でも確認された(データ省略)。In vitro実験では、CEのT細胞に対する直接作用は認められない¹⁰⁾。しかし造血系組織(骨髄・胸腺)並びに各種上皮性或い

は付着性細胞に作用させると、複数のサイトカイン(IL-1, GM-CSF, IL-6など)が産生された¹⁰⁾。したがって、これらサイトカインの造血促進作用を介して、CEの薬理効果が発現するものと推定している(投稿準備中)。これを立証すべく、今回の症例でCE投与(静注)中の血中IL-1濃度の変動を調べたが、有意な変化は検出されなかった(大塚製薬(株)製、ヒトインターロイキン-1 α 及び-1 β 測定キット使用、データ省略)。この解釈としては、IL-1が産生されていても阻止因子により検出されなかったことが考えられる¹¹⁾¹²⁾。しかし、In vitroでのCE刺激によるサイトカインの産生が極めて少ないことから考えると、局所(標的組織)で産生された微量のIL-1は、この方法では検出されなかった可能性の方が強い。

V. まとめ

放射線治療によるT細胞の傷害を、造血障害が最も高度となった時点(末梢血リンパ球数500~1,000/mm³)で解析し、以下の結果を得た。

1) CD4⁺及びCD8⁺細胞ともに高度に傷害され、それぞれ健常値の35%と40%になった。

2) 抗原未感作T細胞を含むそれぞれの亜分画細胞、CD4⁺2H4⁺及びCD8⁺2H4⁺細胞もともに傷害され、それぞれ健常値の23%と37%に減少した。また傷害がより高度であったCD4⁺2H4⁺細胞では、CD4⁺細胞の中で占める比率も有意に低下した。

3) 傷害検出後1カ月間の各細胞の回復から、自然回復はCD8⁺細胞のCD8⁺2H4⁺細胞から始まること示された。植物アルカロイドCepharanthinは、CD4⁺2H4⁺細胞の回復を有意に促進した。

稿を終えるにあたり、教室の亀山明美氏の研究補助に感謝します。また久留米大学医学部皮膚科学教室、津田真五氏の研究協力に対し謝意を表します。

文 献

- 1) 榎玲子, 榎 敦: 放射線治療と免疫. 放射線医学体系, 35巻, p133-147, 1987, 中山書店
- 2) 榎玲子: 放射線治療による免疫リンパ系細胞の障害を中心として, 癌の臨床, 33: 1229-1237, 1987
- 3) Pilarski LM, Gillitzer R, Zola H, et al: Definition of the thymic generative lineage by selective expression of high molecular weight

- isoforms of CD45 (T200). *Eur J Immunol.*, 19: 589-597, 1989
- 4) Gillitzer R, Pilaksi LM: In situ localization of CD45 isoforms in the human thymus indicates a medullary location for the thymic generative lineage. *J Immunol* 144: 66-74, 1990
 - 5) (In) Budavari S ed, *The Merck Index, An encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. 11th ed, p.1981, 1989, Merck & Co, Inc, NJ, USA
 - 6) 鳥本悦宏, 森本幾夫: CD45 分子と T 細胞活性化, 代謝, 27: 63-71, 1990
 - 7) Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, et al: The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset. *J Immunol* 134: 1508-1515, 1985
 - 8) 榎殿玲子: 胸腺照射による免疫抑制 T 細胞除去 (癌免疫療法) の可能性, *医学のあゆみ*, 145: 757, 1988
 - 9) 榎殿玲子, 松浦啓一, 梯殿 敦: 放射線による免疫リンパ系細胞の障害と白血球増多剤の回復促進作用, *日本医放会誌*, 37: 1152-1166, 1978
 - 10) 榎殿玲子, 内藤雅子, 横山三男: サイトカインによる免疫系細胞の障害回復, *日本医放会誌*, 第 51 卷臨時増刊号, 第 50 回日本医学放射線学会学術発表抄録集, 1991
 - 11) Hopkins SJ, Humphreys M: Bioassay of interleukin-1 in serum and plasma following removal of inhibitory activity with polyethylene glycol. *J Immunol Methods* 133: 127-131, 1990
 - 12) Besedovsky H, Rey AD, Sorklin E, et al: Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science* 233: 652-654, 1986