

Title	マウス放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球サブセットのモノクローナル抗体による解析
Author(s)	広田, 佐栄子; 小川, 恭弘; 浜田, 富三雄 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1985, 45(4), p. 663-665
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19362
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

研究速報

マウス放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球サブセットの
モノクローナル抗体による解析

高知医科大学放射線医学教室

広田佐栄子 小川 恭弘 浜田富三雄 沢田 章宏
森田荘二郎 森田 賢 山本 洋一 小原 秀一
小谷 了一 吉田 祥二 前田 知穂

同第II解剖学教室

瀬口 春道

（昭和59年12月26日受付）

（昭和60年2月12日最終原稿受付）

Analysis of Lymphocyte Subset Infiltrated into the Mouse Tumor
Tissue Exposed to Local Irradiation
—Histological Study Using Monoclonal Antibodies—

Saeko Hirota, Yasuhiro Ogawa, Fumio Hamada, Akihiro Sawada,
Sojiro Morita, Masaru Morita, Yoichi Yamamoto, Shuichi Ohara,
Ryoichi Odani, Shoji Yoshida and Tomoho Maeda
Department of Radiology, Kochi Medical School
Harumichi Seguchi
Second Department of Anatomy, Kochi Medical School

Research Code No. : 405. 9

Key Words : Monoclonal antibody, Tumor-infiltrating lymphocyte,
Lymphocyte subset, Radiotherapy

The subset changes of lymphocytes, infiltrated into the tumor tissue after irradiation, were analyzed using monoclonal antibodies and Avidine-Biotin-peroxidase-Complex method (ABC method).

MM46 tumors were inoculated into the right thigh of the C3H/He mice (5×10^5 cells each), and irradiated with a single dose of 20 Gy using 6 MeV electron beam 7 days after inoculation. The cryostat sections were stained by ABC method, using monoclonal anti-Thy 1.2, anti-Lyt 1, anti-Lyt 2 and MAS034b (anti macrophage) antibodies and were classified into grades from their extents and distribution lymphocyte infiltration on tumors.

The microscopic observation revealed the intensive lymphocytic reactions in the exposed tumor, accompanied by the infiltration of Thy 1.2⁺ cells (moderate and diffuse), Lyt 1⁺ cells (moderate and diffuse), Lyt 2⁺ cells (slight and diffuse) and MAS034b⁺ cells (slight~moderate and diffuse), whereas less reactions were seen in the non-exposed tumor.

The results suggest that T helper/inducer subset is a major group of tumor-infiltrating lymphocytes after irradiation.

はじめに

古くから、癌の放射線治療過程において一過性に著しいリンパ球様細胞浸潤を主体とする強い間質反応がみられることはよく知られており、放射線治療効果における免疫学的機序の介在を示唆するものと考えられてきた。

我々はこの放射線照射時に見られる腫瘍組織浸潤リンパ球のサブセットを、実験動物腫瘍を対象にモノクローナル抗体及び Avidine-Biotine-peroxidase Complex (以下 ABC 法と略す)を用いて解析を試みた。

対象及び方法

1) 動物: 14週齢雌の C3H/He マウス。2) 腫瘍: 腹腔内継代移植にて維持した同マウス由来の MM46腫瘍を、C3H/He マウスの右大腿部に 5×10^6 個移植し、固型腫瘍にしたものについて行った。3) モノクローナル抗体: anti Thy 1.2, anti Lyt 1, anti Lyt 2 (以上 Becton-Dickinson 社製) MAS034b (以上 Seralab 社製)。4) ABC 法: Vector 社製 VECTASTAIN ABC キットを使用した。

腫瘍移植後 7 日目に、6MeV エレクトロン 20Gy を 1 回局所照射し、非照射群とともに、照射後 7 日目に腫瘍組織を摘出した。クライオスタット標本を ABC 法に基づき染色し、腫瘍細胞周囲の各モノクローナル抗体陽性細胞の出現の様子を none, slight, moderate, marked, および focal, diffuse に分類した。

結 果

1) 非照射腫瘍組織 (Fig. 1): 腫瘍細胞周囲にリンパ球浸潤が乏しく、各モノクローナル抗体陽性細胞の出現程度は none と判断した。

2) 照射腫瘍組織 (Fig. 2)。非照射腫瘍組織に比し腫瘍細胞周囲に著明なリンパ球浸潤を認め、腫瘍細胞は膨化、空胞変性に陥っていた。a) anti Thy 1.2 陽性細胞: moderate かつ diffuse に出現。b) anti Lyt 1 陽性細胞: moderate かつ diffuse に出現するも anti Thy 1.2 陽性細胞よりもその出現程度はやや多かった。c) anti Lyt 2 陽性細胞: slight~moderate かつ diffuse に出現。anti Lyt 1 陽性細胞よりもその出現程度は少なかった。d) MAS034b 陽性細胞: slight~moderate かつ diffuse に出現。Fig. 2に示された標本

では出現程度が少なかったが、検体によってはかなり出現 (moderate) しているものもあり、検体間のバラつきがみられた。

考 案

Thy 1.2 抗原は T 細胞の全てに存在する抗原である。Lyt 1 抗原は全ての T リンパ球 (Thy 1 抗原をもつリンパ球) に存在するが、T helper/inducer subset である Lyt 1⁺, Lyt 2⁻, Lyt 3⁻細胞には高い密度で、T suppressor/cytotoxic subset である Lyt 1⁻, Lyt 2⁺, Lyt 3⁺細胞には低い密度で存在する。従って、Lyt 1 陽性細胞は T helper/inducer subset を表すと考えられる。Lyt 2 抗原は T suppressor/cytotoxic subset を表すと考えられている。

我々の検討はまだ十分なものではないが、今回の検討結果からは放射線照射時に見られる腫瘍組織浸潤リンパ球の主体は T helper/inducer subset であることが示唆された。今中ら¹⁾は、C3H/He マウスに移植し、固型腫瘍とした MM46腫瘍で、電子線 20Gy 照射にて最も強いリンパ球浸潤を認め、それらの主体は T リンパ球であることを、 α -naphthyl acetate esterase 染色により示し、その考察のなかで浸潤リンパ球の主体が helper T である可能性を示唆したが今回の我々の検討はこれを裏付けするものと考えたい。尚、Thy 1 陽性細胞が Lyt 1 陽性細胞より出現程度が少ない結果が得られたが極めて成熟した T リンパ球は Thy 1 抗原が減少するとの報告²⁾もあり、このことによる可能性がある。

現在モノクローナル抗体の種類を追加し、更に詳細な解析を行っている。

文 献

- 1) 今中一文, 今城吉成, 小川恭弘, 御勢久平, 木村修治, 伊東 宏: 照射線量と腫瘍局所の間質細胞反応の程度について—MM46腫瘍および Ehrlich 腫瘍移植 C3H/He マウス局所の酵素組織学的検討—。臨床免疫, 14 (Suppl. 5): 111—118, 1982
- 2) Ledbetter, J.A., Rouse, V.R., Mickletham, H.S., Herzenberg, L.A.: T cell subset defined by expression of Lyt-1, 2, 3 and Thy-1 antigens. Two-parameter immunofluorescence and cytotoxicity analysis with monoclonal antibodies modifies current views. J. Exp. Med., 152: 280—295, 1980

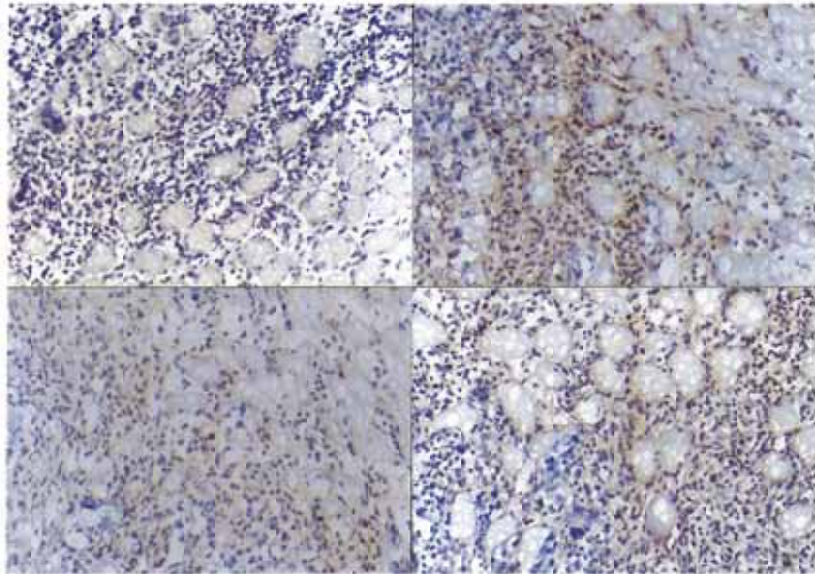


Fig. 1	Thy 1.2	Lyt 1
	Lyt 2	MAS034b

Histological findings of MM46 tumor inoculated into the right thigh of C3H/He mice without irradiation ($\times 200$).

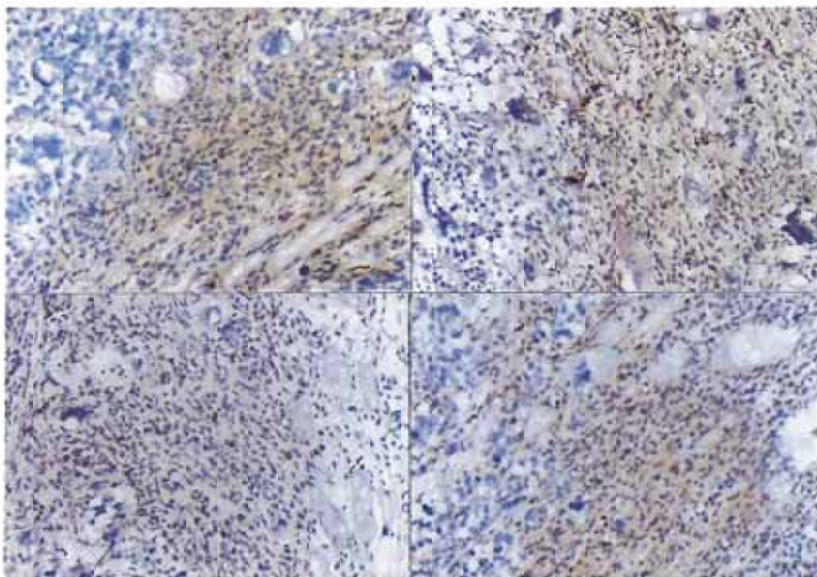


Fig. 2	Thy 1.2	Lyt 1
	Lyt 2	MAS034b

Histological findings of MM46 tumor inoculated into the right thigh of C3H/He mice after 20 Gy irradiation ($\times 200$).

Cells which bear the antigen recognized by the monoclonal antibody (anti-Thy 1.2, anti-Lyt 1, anti-Lyt 2 and MAS034b) exhibit brown rings (surface staining) or diffuse brown color (cytoplasmic staining) in addition to the counterstain.