



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/19362">https://hdl.handle.net/11094/19362</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

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  
森田莊二郎 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 Tomoko 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 monocloal antibodies and Avidine-Biotin-peroxidase-Complex method (ABC method).

MM46 tumors were inoculated into the right thigh of the C3H/He mice ( $5 \times 10^6$  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<sup>+</sup> cells (moderate and diffuse), Lyt 1<sup>+</sup> cells (moderate and diffuse), Lyt 2<sup>+</sup> cells (slight and diffuse) and MAS034b<sup>+</sup> 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 $5 \times 10^6$ 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。クライオスタッフ標本を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<sup>1)</sup>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、 $\alpha$ -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<sup>2)</sup>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., Micklem, 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

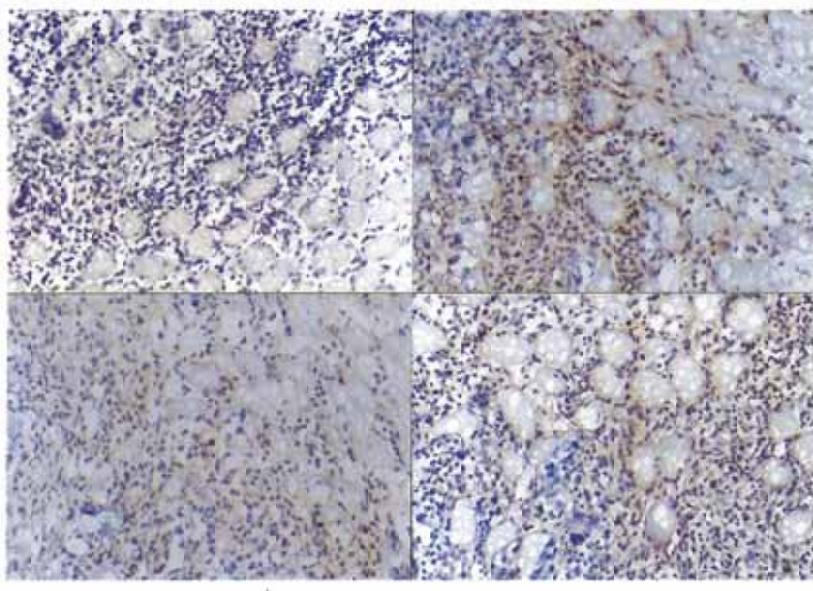


Fig. 1	Thy 1.2	Lyt 1
	Lyt 2	MASO34b

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

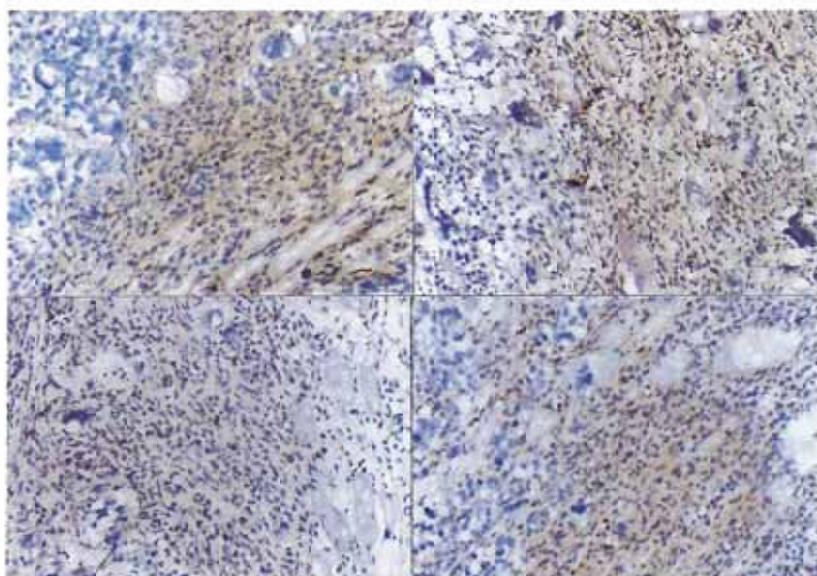


Fig. 2	Thy 1.2	Lyt 1
	Lyt 2	MASO34b

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.