The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒトグリオーマ培養細胞におけるHLA-DR抗原の発現と抗原提供能との関連
Author(s)	清水, 恵司
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33800
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【9】

氏名・（本籍）	清水恵司（しみずけいじ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6087 号
学位授与の日付	昭和58年5月11日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**ヒトグリオーマ培養細胞におけるHLA－DR抗原の発現と抗原提供能との関連**
論文審査委員	（主査） 教授 最上平太郎 （副査） 教授 塩谷弥兵衛　教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

（目　的）

血液脳関門の存在やリンパ組織の欠如等より，脳は免疫学的に特殊な部位であると推測されてきた。しかし，急性散在性脳脊髄炎にみられる病巣への単核細胞の浸潤や，サプレッサーT細胞の機能低下など，更には，長期生存の神経膠芽腫患者の腫瘍内に，リンパ球の浸潤が多く認められることなどより，脳実質内でも免疫応答が起りうると考えられるようになった。

ヒト主要組織適合抗原遺伝子複合体（HLA）産物のうち，古典的な意味でのヒト移植抗原であるHLA－A，B，C，抗原が，恐らくすべての有核細胞に存在するのと異なり，HLA－DR抗原は，Bリンパ球，マクロファージ，樹状細胞，Kupffer細胞，Langerhans細胞あるいはヘルパーT細胞など，もっぱら免疫応答に関与する細胞群の膜表面上に認められ，HLA－DR抗原存在の有無は，その細胞の持つ機能との関連において，免疫応答に関与するか否かのマーカーと考えられるようになった。当然脳組織内にも，そのような機能を有する細胞集団が存在するか否かということが問題となるが，現時点では，ヒトの正常脳実質細胞の試験管内培養が困難な実情にある。そこで本研究は，術中切除グリオーマ組織からの培養細胞株の確立を試みると共に，樹立した培養細胞を用いて，HLA－DR抗原存在の有無を解析すると共に，その抗原提供能について検索した。

（方法ならびに成績）

術中切除グリオーマ組織を1㎜に細切し，その腫瘍塊から単層に増殖してきた細胞を，非働化した10％胎児仔牛血清を添加したRPMI－1640培養液にて継代培養した。樹立できた細胞株は，神経膠芽種10例，星芽腫2例，星細胞腫3例，上衣腫1例および松果体腫瘍1例の計17症例で，これらを実験に用

いた。これらの培養株を，一次抗体としてウサギ抗HLA－DR common 血清や，マウスモノクロナール抗 HLA－DR common 抗体を，二次抗体としてヒツジ抗ウサギ免疫グロブリン（Ig）－EITC，またはウサギ抗マウス Ig－FITC を用いた間接蛍光抗体法で染色し，蛍光顕微鏡で観察，或いは fluorescence－activated cell sorter（FACS）を用いて解析した。更には，補体依存性細胞障害試験などで検索したところ，樹立できた17細胞株のうち5例（ONS－8，－12，－14，－16，－20）が，HLA－DR 抗原陽性である事が確認できた。null 型 acute lymphoblastic leukemia（ALL）に特異的に存在する common acute lymphoblastic leukemia antigens（CALLA）は，正常造血細胞の早期分化抗原とも言われており，HLA－DR 抗原との関係が問題となってくる。そこで今回樹立したグリオーマの HLA－DR 抗原陽性細胞株について，一次抗体にマウスモノクロナール抗 CALLA を，二次抗体に $F(ab')_2$ 化したウサギ抗マウス Ig－FITC を用いて，FACS 分析した結果，5例中3例が CALLA 陽性であった。また HLA－DR 抗原陰性細胞の ONS－23 も強陽性を示した。以上の結果を，病理学的分類で表現すると，HLA－DR 抗原陽性細胞5例中4例，CALLA 陽性細胞4例中3例は，星状細胞の悪性化したグリオーマであった。この事より，一部グリオーマ細胞は，リンパ球と同じ起源から発生している可能性も示唆される。更に，HLA－DR 抗原が陽性である5例の細胞株について，星状細胞の構造蛋白である glial fibrillary acidic protein（GFAP）の存在を調べたところ，上衣腫である ONS－16 細胞株を除いて，星状細胞が悪性化したグリオーマ株（ONS－8，－12，－14，－20）は，GFAP の量的な差は認められたが，4例とも全て陽性であった。

この様にして同定された HLA－DR 抗原陽性グリオーマ細胞が，免疫応答に関与する機能を有しているかどうかを調べる目的で，リンパ球グリオーマ混合培養反応（MLGR）を行った。10,000 R 照射した培養細胞を Stimulator 細胞に，検者のリンパ球を Responder 細胞にして，5日間混合培養し，T リンパ球の ^{3}H チミジン（TdR）の取り込みを調べたところ，HLA－DR 抗原陽性細胞を Stimulator 細胞にした時にのみ，^{3}H－TdR の取り込みが認められた。この反応は，CALLA が陽性であるか否かについて，必ずしも相関しなかった。更に，MLGR 中に増殖する T 細胞が，HLA－DR 抗原を認識しているかどうかを調べる一手段として，抗 HLA－DR 抗体を共存させ，T 細胞の反応の変化について検討したところ，明らかな阻害効果が見られた。また他の抗原提供細胞と同じように，HLA－DR 抗原陽性グリオーマ細胞も，紫外線照射により，Responder 細胞の ^{3}H－TdR 摂取率が低下するかどうかを検索したところ，ONS－12細胞株の場合は，1,900 J／M^2 照射にて80％程度低下した。また ONS－14 細胞の場合，その半量照射にて同程度の効果が認められた。

（総　括）

(1) ヒトグリオーマ培養株が，HLA－DR 抗原存在の有無を，a）抗 HLA－DR 抗体を用いて間接蛍光抗体法で染色し，蛍光顕微鏡下の観察と，b）FACS で，更には，c）補体依存性細胞障害試験で検討した。その結果，ヒトグリオーマ培養株17例中5例が，HLA－DR 抗原が陽性で，その内4例までが，星状細胞が悪性化したグリオーマであった。

(2) HLA－DR 抗原が陽性であるグリオーマ細胞株は，全例 MLGR において Stimulator 細胞としての機能を有し，この MLGR は，抗 HLA－DR common 抗体の添加，または，グリオーマ細胞の紫外線照

射により抑制された。

(3) MLGRにおけるグリオーマの抗原提供能は，CALLAが陽性であるか否かについて相関しない。

(4) CALLAは，必ずしもHLA−DR 抗原及びグリオーマの抗原提供能とは相関しないが，17株中4例に明らかに認められた。このことより，一部のグリア細胞は，リンパ球と同じ起源を有している可能性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は，免疫学的に特殊な部位であると考えられる脳実質内における免疫応答に関する基礎的研究を行ったものである。

手術切除グリオーマ組織より，総計18の培養株を樹立し，その抗原提供能の存在を，リンパ球グリオーマ混合培養反応や，家兎抗HLA−DR血清による阻害実験より実証した。更に，この抗原提供活性は，紫外線照射に高感受性を示し，培養株そのものも，HLA−DR抗原やCALLAを膜抗原として保持していることを明らかにした。この事より，グリア細胞の一部は，リンパ組織と同じ起源をもつ可能性が考えられる。

以上本研究は，脳実質内の免疫応答におけるグリア細胞の機能の重要性を示唆した点で，学位論文に充分値するものと考えられる。