

Title	リシンA鎖イムノトキシンによる腫瘍免疫療法
Author(s)	原, 秀樹
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35709">https://hdl.handle.net/11094/35709</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	原 秀 樹
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7980 号
学位授与の日付	昭和63年2月8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	リシンA鎖イムノトキシンによる腫瘍免疫療法
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 北村 旦 教授 濱岡 利之

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

KohlerやMilsteinの報告以来、モノクロナル抗体を用いた免疫療法の検討が数多くなされてきたが、未だ十分な成果が見られていない。その理由として、抗体の特異性、力価また腫瘍細胞の抗原性の変化など多くの問題点が考えられる。著者は本研究において、これらの問題解決を目的として、特異性の特に優れたモノクロナル抗体 (mAb) とリボソーム不活化物質であるリシンA鎖 (RA) を結合させたイムノトキシン (mAb-RA) による抗腫瘍免疫療法の効果を検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

著者らは既にヒトT-ALL細胞膜糖蛋白であるTALLA, GP37を認識するSN1, SN2抗体、またヒトnon-T ALL細胞膜糖蛋白であるCALLA, GP160を認識するSN5, SN6抗体を樹立していた。これらの抗体と還元直後のリシンA鎖 (RA) を結合させた後、Sephacryl S200によるゲル濾過にて遊離リシンA鎖を除去してmAb-RAイムノトキシンを作製し、白血病細胞に対する抗腫瘍効果をin vitro, in vivoに於いて検討した。

①SN1-RA, SN2-RAのin vitroに於ける蛋白合成阻害能: SN1-RA, SN2-RA存在下で培養したJM細胞 (T-ALL) の $[^3\text{H}]$ の取り込みの阻害を検討した。 $10^{-7.5}\text{M}$ 濃度では両者ともほぼ完全にJM細胞のみの蛋白合成を阻害した。

②SN1-RA, SN2-RAの腹水型腫瘍に対するin vivoに於ける抗腫瘍活性: Ichikawa細胞 (T-ALL) をヌードマウスにi.p.注入し、2時間後、4日後、4週後の計3回、SN1-RAとSN2-RAを混合してi.p.注入した。対照群は6~8週間で全て死亡したが、SN1-RA, SN2-RA投

与群は100%生存し、有意の毒性は示さなかった。

② SN1-RA, SN2-RAの固型腫瘍に対するin vivoに於ける抗腫瘍活性：ヌードマウスに皮下移植後、直径4～6mmに増殖したMOLT-4 (T-ALL) 腫瘍にSN1-RAとSN2-RAを混合して腫瘍内注入し経時的に腫瘍径を測定した。対照イムノトキシン投与群では腫瘍は増殖を続け、初回治療後5～8週で全マウスが死亡した。一方、SN1-RA, SN2-RA投与群は、5匹中2匹で腫瘍が消失し他の3匹もSN1-RA, SN2-RA投与中は腫瘍の増殖は抑制された。有意な毒性は認めなかった。

③ SN5-RA, SN6-RAのin vitroに於ける腫瘍細胞障害試験：NALM-6細胞 (non-T ALL) をSN5-RA, SN6-RA細胞の存在下に3日間培養した。SN5-RAでは $2.1 \times 10^{-8}$  M濃度で31%,  $7 \times 10^{-8}$  Mで49%の障害能を示し、SN6-RAでは $3.5 \times 10^{-9}$  M濃度で54%,  $1.2 \times 10^{-8}$  Mで75%の障害能を示した。対照であるCCRF-SB (ヒト正常B細胞) の増殖は何ら障害されなかった。

④ SN5-RA, SN6-RAのNALM-6固型腫瘍に対するin vivoに於ける抗腫瘍効果：non-T ALL細胞のヌードマウスへの確立された移植方法がこれまでなかったため、著者はまずnon-T ALL細胞であるNALM-6細胞とREH細胞の移植を試みた。NALM-6細胞, REH細胞を放射線照射済のHT-1080細胞と混合し、前もって放射線照射しておいたヌードマウスに皮下注入したところ計66匹中55匹 (83%) に皮下腫瘍の増殖を認めた。移植後約3週、直径4～6mm大に増殖した皮下腫瘍内にSN5-RA, SN6-RA及び対照物質を注入し腫瘍径を経時的に測定した。対照物質注入群では腫瘍は増殖を続け、初回注入後7～10週で全マウスが死亡した。一方、SN5-RA, SN6-RA注入群では5匹中4匹で腫瘍は瘢痕を残すのみで完全治癒となった。しかし他の1匹は一過性に腫瘍は消失したが、その後再発を起し、再発腫瘍にSN5-RA, SN6-RAを腫瘍内注入したが無効であった。観察期間中、有意な毒性は認めなかった。

#### [総括]

①抗ヒトT-ALLであるSN1-RA, SN2-RAイムノトキシンはin vitroに於いて特異性が高く、強力な腫瘍細胞障害能を示した。

②SN1-RA, SN2-RAはヒトT-ALLであるIchikawa腹水型腫瘍に対しては100%の増殖抑制率を示し、MOLT-4皮下固型腫瘍に対しても強力で、特異性の高い腫瘍増殖抑制能を示した。有意な毒性は認められなかった。

③ヒトnon-T ALL細胞のヌードマウスへの移植方法が確立された。

④抗ヒトnon-T ALLであるSN5-RA, SN6-RAイムノトキシンはin vitroに於いて特異性が高く強力な腫瘍細胞障害能を示した。

⑤SN5-RA, SN6-RAはNALM-6固型腫瘍に対して、極めて強力であり (完全治癒率80%), 特異性の高い腫瘍増殖抑制能を示した。有意な毒性は認められなかった。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒトT細胞性白血病（T-ALL）細胞とヒトnon-T ALL細胞に対するモノクロナル抗体を作成し、それとリシンA鎖（Ricin A Chain）を結合させて作成したイムノトキシンが、in vitroおよびin vivoにおいて毒性を有することなく、特異性が高く且つ強力な抗腫瘍効果を示すことを明らかにしたものである。抗腫瘍免疫療法の研究に寄与することが大である。