

Title	小細胞肺癌患者の免疫能および小細胞肺癌由来免疫抑制因子の解析
Author(s)	池田, 聡之
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36752
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	いけ 池	だ 田	とし 聡	ゆき 之
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8813	号	
学位授与の日付	平成元年8月12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	小細胞肺癌患者の免疫能および小細胞肺癌由来免疫抑制因子の解析			
論文審査委員	(主査)			
	教	授	岸本	進
	(副査)			
	教	授	濱岡	利之
			教	授
			森	武貞

論文内容の要旨

(目的)

小細胞肺癌 (SCLC) は、非小細胞肺癌 (non-SCLC) に比し、増殖、転移の極めて速い肺癌であり、このため SCLC 患者において、non-SCLC 患者より強い免疫抑制状態の存在する可能性が推測される。著者は本研究において SCLC 患者で著明な免疫不全の存在することを明らかにし、さらに SCLC 患者における免疫抑制の発現機序を解析するために、SCLC 細胞株由来免疫抑制因子についても検討を行った。

(方法ならびに成績)

対象症例：SCLC 患者18例、non-SCLC 患者15例、非癌対照群15例の末梢血リンパ球 (PBL) について検討した。

肺癌患者 PBL の T 細胞サブセットの解析：OKT 3⁺、OKT 4⁺、OKT 8⁺ T リンパ球の比率は、3 群において有意の差は認められなかった。

肺癌患者 PBL の PHA に対する幼若化反応：PBL を PHA 0.1% の存在下に 72 時間培養した。SCLC 群で非癌対照群および non-SLCL 群に比して有意な低下を認めた。

肺癌患者 PBL のリンフォカイン産生能：PBL を PHA 0.1% 存在下に 48 時間培養し、その培養上清を得、IL-2 依存性 CT 6 を用い IL-2 活性を、マウス腹腔マクロファージを用い Macrophage activating factor (MAF) 活性を測定した。IL-2 産生能は、SCLC 群において非癌対照群に比し有意の低下を認め、non-SCLC 群に比しても著明な低下を認めた。同様に SCLC 群において MAF 産生能の低下も認めた。

ヒトRIL-2に対する肺癌患者PBLの増殖反応：PBLをヒトRIL-2の存在下に72時間培養した。加えたRIL-2の濃度に関わらずSCLC群において非癌対照群およびnon-SCLC群に比し有意の低下を認めた。

肺癌培養株培養上清の調整：SCLC培養株H69, N857, 肺腺癌A549, PC9, 肺扁平上皮癌QG56を、無血清培地中で5日間培養後、その上清を得た。

マイトゲンに対するPBLの幼若化反応に及ぼす肺癌細胞株培養上清の効果：健康人PBLをPHA 0.1%またはCon A 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の存在下に、上記上清を添加し、72時間培養した。PHA, Con A いずれに対する幼若化反応もSCLC細胞株 (H69, N857) 培養上清の添加によって著明に抑制された。一方, PC9, A549, QG56には、抑制活性は認めなかった。

Lymphokine activated killer (LAK) 活性の測定：PBLを5U/mlのヒトRIL-2および肺癌細胞株培養上清25%の存在下に4日間培養しLAK細胞を誘導し、NK抵抗性Daudi細胞を標的細胞として、4時間の⁵¹Cr放出試験を行い、その細胞溶解能を測定した。SCLC培養上清は誘導されるLAK細胞の抗腫瘍活性を著明に抑制した。しかし、non-SCLCの培養上清の存在下では、LAK細胞は強力な細胞障害能を示した。

H69由来免疫抑制因子の物理化学的性状：H69由来免疫抑制因子に対する熱処理、酸、アルカリ処理、酵素処理の影響を検討した。抑制活性は、56°C60分の処理に対して安定であったが、75°C10分の処理で著明に低下した。pH2.5酢酸緩衝液、pH11.0グリシン緩衝液による透析で抑制活性は完全に失活した。一方、pH4.5又はpH9.0の処理では影響を受けなかった。抑制活性は、DNase, RNase, mixed glycosidase, neuraminidase 処理に安定、protease, trypsin 処理で失活した。

イオン交換クロマトグラフィー：H69培養上清を濃縮し、DEAE-Sephacelを用いたイオン交換クロマトグラフィーを行った。濃度勾配0~0.3MのNaCl溶液にて溶出した。抑制活性は0.04から0.08MのNaCl濃度の画分に溶出された。

ゲル濾過：イオン交換クロマトグラフィーで得られた抑制活性のピーク画分を限外濾過で濃縮し、Sephacryl S-300を用いたゲル濾過を行った。抑制活性は、M. W. 91kDと同定された。

SDS-PAGE電気泳動：ゲル濾過により最も強い免疫抑制活性を示す画分を濃縮し、非還元条件下に7.5%アクリルアミドゲルで電気泳動した。このゲルを2mm巾で切り、PBS中に室温24時間で溶出した。抑制活性の大部分は102kDのバンドに一致した。

(総括)

1. SCLC患者とnon-SCLC患者、非癌患者の免疫能をPBLを用い比較検討し、SCLC群ではT細胞サブセットに異常を認めなかったが、PHA反応、IL-2産生能、IL-2に対する増殖能、MAF産生能は有意に低下していた。
2. SCLC株培養上清はPHAやCon Aに対するPBLの幼若化反応、LAK細胞の誘導能を強く抑制した。
3. H69 (SCLC細胞株) 培養上清中の免疫抑制因子は56°C60分で安定、70°C10分で失活、pH4.5, pH9.0処理で安定だが、pH2.5, pH11.0処理で失活、DNase, RNase, neuraminidase, mixed gly-

cosidase 処理に安定だが, trypsin, protease 処理で失活した。

4. 本抑制因子は, イオン交換クロマトグラフィーでは0.04~0.08MのNaClで溶出し, ゲル濾過でM.W. 91kD, SDS-PAGEで102kDであった。
5. SCLC患者における免疫抑制の一因はSCLC自身が産生する免疫抑制因子により誘導されることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は, 小細胞肺癌(SCLC)患者において, 非小細胞肺癌患者に比して, 末梢血リンパ球の著明な免疫機能の低下が存在し, その発現機序の一因として, SCLC自身の産生する免疫抑制因子が関与していることを明らかにし, さらに, 本免疫抑制因子の物理化学的性状を明らかにしたものである。腫瘍免疫学の研究に寄与することが大である。