



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	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36752
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏名・(本籍)	いけ だ とし ゆき 池 田 聡 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 CT6 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 R I L - 2 に対する肺癌患者 P B L の増殖反応：P B L をヒト R I L - 2 の存在下に 72 時間培養した。加えた R I L - 2 の濃度に関わらず S C L C 群において非癌対照群および non - S C L C 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：S C L C 培養株 H69, N857, 肺腺癌 A549, P C 9, 肺扁平上皮癌 Q G56 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 P B L 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 P B L を P H A 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。P H A, Con A いずれに対する幼若化反応も S C L C 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、P C 9, A549, Q G56 には、抑制活性は認めなかった。

Lymphokine activated killer (L A K) 活性の測定：P B L を $5 \times 10^6/\text{ml}$ のヒト R I L - 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 L A K 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 ^{51}Cr 放出試験を行い、その細胞溶解能を測定した。S C L C 培養上清は誘導される L A K 細胞の抗腫瘍活性を著明に抑制した。しかし、non - S C L C の培養上清の存在下では、L A K 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°C 60 分の処理に対して安定であったが、 75°C 10 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 ~ 0.3 M の NaCl 溶液にて溶出した。抑制活性は 0.04 から 0.08 M 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. 91 kD と同定された。

SDS - P A G E 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 2 mm 巾で切り、P B S 中に室温 24 時間で溶出した。抑制活性の大部分は 102 kD のバンドに一致した。

(総 括)

1. S C L C 患者と non - S C L C 患者、非癌患者の免疫能を P B L を用い比較検討し、S C L C 群では T 細胞サブセットに異常を認めなかったが、P H A 反応、I L - 2 産生能、I L - 2 に対する増殖能、M A F 産生能は有意に低下していた。
2. S C L C 株培養上清は P H A や Con A に対する P B L の幼若化反応、L A K 細胞の誘導能を強く抑制した。
3. H69 (S C L C 細胞株) 培養上清中の免疫抑制因子は 56°C 60 分で安定、 70°C 10 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。