The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	末梢血リンパ球のヒト骨髄腫細胞株RPMI 8226に対する増殖抑制効果
Author(s)	天野, 利男
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37606
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

【56】

氏名・(本籍)	天野利男（あまの　としお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　9555　号
学位授与の日付	平成3年3月5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	**末梢血リンパ球のヒト骨髄腫細胞株RPMI 8226に対する増殖抑制効果**
論文審査委員	(主査) 教授　垂井清一郎 (副査) 教授　木谷　照夫　　教授　濱岡　利之

論文内容の要旨

（目　的）

骨髄腫における宿主腫瘍免疫機構の一端をあきらかにするため，末梢血リンパ球（PBL）のヒト骨髄腫細胞株に対する増殖抑制能の有無，それに関与する主たる細胞サブセットならびにその機序について分析した。

（方法ならびに成績）

PBLによる増殖抑制に対する細胞株の感受性

3種のヒト骨髄腫細胞株（OPM－1，OPM－2，RPMI 8226）および他の2種の細胞株（K562, Raji）の計5種の細胞株をPBLと細胞数比$^{1}/_{10}$で混合，72時間培養し，PBLによる増殖抑制に対する感受性を増殖抑制率（%GI）=（1－PBLとの培養後の標的細胞数／コントロール標的細胞数）×100で評価した。3種のヒト骨髄腫細胞株のうち，OPM－1は抵抗性（%GI＝10.0±9.3%）を，OPM－2は軽度の感受性（33.6±12.2%）を示した。RPMI 8226は高い感受性（81.5±2.3%）を持ち，72時間の培養では細胞増殖はほぼ完全に停止した。natural killer（NK）細胞の標的細胞として知られているK562もまた高い感受性（179.9±7.3%）を示した。Raji は5種の細胞株のうち最も高い抵抗性（4.6±5.3%）を示した。標的となる株化細胞の生細胞数，細胞生存率を24，48，72時間と経時的に検討し，PBLを含まない場合を対照として比較すると，RajiとOPM－1では細胞数の増加も生存率も対照とほとんど変化なく，OPM－2では軽度の細胞数の低下をみたが，生存率の低下はなかった。RPMI 8226ではほぼ完全な増殖抑制がみられたが，生存率は常に80%以上であった。K562では増殖のみならず生存率も著しく低下した。

ＰＢＬによる増殖抑制における細胞間接触および液性因子の役割

液性因子の移動のみを可能とするdouble-chamber cultureを用いて，ＰＢＬを標的細胞と分離培養した場合，３種の細胞株（ＲＰＭＩ8226，K562，Raji）のうちどの細胞株の増殖にも影響はみられず，増殖抑制にはＰＢＬと細胞株の直接接触が必要であると考えられた。K562とＰＢＬの培養において産生される液生因子は３つの細胞株すべての増殖を抑制した。一方ＲＰＭＩ8226とＰＢＬの培養において産生される液生因子はＲＰＭＩ8226自身の増殖を抑制せず，ＰＢＬによるＲＰＭＩ8226の増殖抑制において液生因子の働きは重要でないと考えられた。

ＰＢＬによるＲＰＭＩ8226およびK562の増殖抑制に主に関与する細胞サブセット

モノクロナール抗体と補体処理にてＰＢＬよりＣＤ16陽性ＮＫ細胞を除去すると，ＰＢＬによるK562の増殖抑制の低下がみられたが，ＲＰＭＩ8226では変化はなかった。一方，ＣＤ３陽性細胞除去にてＲＰＭＩ8226の増殖抑制は低下した。しかしＣＤ４陽性細胞，ＣＤ８陽性細胞，あるいはＣＤ４，ＣＤ８陽性細胞を同時に除去してもＲＰＭＩ8226の増殖抑制には影響はみられなかった。以上の成績より，ＰＢＬによるＲＰＭＩ8226の増殖抑制に主に関与する細胞はＣＤ３＋，ＣＤ４－，ＣＤ８－，ＣＤ16－サブセットに含まれていることがわかった。

^{51}Cr release cytotoxic assayにおけるＲＰＭＩ8226およびK562の感受性

ＲＰＭＩ8226はＰＢＬ／標的細胞比40／１でも％cytotoxicityは30％を越えず，^{51}Cr release cytotoxic assayにおける感受性は軽度であった。一方，K562は良好な感受性を示すことが確認された。

ＰＢＬによるＲＰＭＩ8226およびK562の増殖抑制に対するmitomycin C（MMC）とcyclohexiamide（CYH）の影響

ＰＢＬをMMCで前処理しても両細胞株に対する増殖抑制に及ぼす影響は軽度で，未処理ＰＢＬを用いた場合の増殖抑制を100％とすると，ＲＰＭＩ8226では84±４％，K562で86±４％であった。ＣＹＨ処理ではＲＰＭＩ8226の増殖抑制はあきらかに減少（30±５％）したが，K562には変化がみられなかった（96±４％）。すなわちK562に対する増殖抑制はＤＮＡ合成，蛋白合成とも必要としないがＲＰＭＩ8226に対する増殖抑制では蛋白合成が必要であることが示唆された。

血液疾患患者におけるＰＢＬによる増殖抑制

骨髄腫患者のＰＢＬにおけるK562の増殖抑制はほぼ正常であったが，ＲＰＭＩ8226の増殖抑制は障害されていた。伝染性単核症と成人Ｔ細胞性白血病ＰＢＬではＲＰＭＩ8226に対する増殖抑制効果は著明に低下し，一方K562に対しては正常機能を示した。ＮＫ細胞が減少していることで知られているChediak－Higashi症候群の患者ではＰＢＬのK562に対する抑制効果は障害されていたが，ＲＭＩ8226に対する抑制効果は軽度の障害を示すのみであった。

（総　　括）

ＰＢＬにより骨髄腫細胞株ＲＰＭＩ8226の増殖が抑制されることをみいだした。この増殖抑制は主としてＣＤ３＋，ＣＤ４－，ＣＤ８－，ＣＤ16－サブセットによってなされ，標的細胞との直接接触を必要とするが液性因子の関与は乏しい。またこの増殖抑制はcytotoxicというよりむしろcytostaticな機序でなされ，ＮＫ細胞による増殖抑制とは性格を異にするものと考えられた。一方，骨髄腫患者のＰＢ

ＬによるＲＰＭＩ8226の増殖抑制は障害されていた。

論文審査の結果の要旨

本研究は，骨髄腫における宿主免疫機構による腫瘍クローン増殖抑制作用の一端を明らかにするため，ヒト正常末梢リンパ球（ＰＢＬ）と３種のヒト骨髄腫細胞株との混合培養系における，ＰＢＬによる骨髄腫細胞株に対する増殖抑制の有無，それに関与する主たる細胞サブセットならびにその機序について分析したものである。

３種の骨髄腫細胞株のうち，ＰＢＬによりＲＰＭＩ8226は顕著な増殖抑制をうけたが，ＯＰＭ－１は増殖抑制を受けず，ＯＰＭ－２における増殖抑制は軽度にとどまった。すなわちＰＢＬによる増殖抑制に対する感受性は株化細胞によって異なることが明らかになった。ＰＢＬによるＲＰＭＩ8226に対する増殖抑制は主としてＣＤ３＋，ＣＤ４－，ＣＤ８－，ＣＤ16－サブセットによってなされ，標的細胞との直接接触を必要とするが液性因子の関与は乏しい。またこの増殖抑制はcytotoxicというよりむしろcytostaticな機序でなされ，ＮＫ細胞による増殖抑制とは性格を異にすることが明らかとなった。

本研究は骨髄腫における宿主腫瘍免疫機構に貴重な知見を加えるものであり，学位に値する業績と認められる。