



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

氏名・（本籍）	あまのとしお 天 野 利 男
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 9 5 5 5 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髓腫細胞株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）

骨髓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）のヒト骨髓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種のヒト骨髓腫細胞株（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） $= (1 - \text{PBLとの培養後の標的細胞数} / \text{コントロール標的細胞数}) \times 100$ で評価した。3種のヒト骨髓腫細胞株のうち、OPM-1は抵抗性（%GI = $10.0 \pm 9.3\%$ ）を、OPM-2は軽度の感受性（ $33.6 \pm 12.2\%$ ）を示した。RPMI 8226は高い感受性（ $81.5 \pm 2.3\%$ ）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（ $179.9 \pm 7.3\%$ ）を示した。Rajiは5種の細胞株のうち最も高い抵抗性（ $4.6 \pm 5.3\%$ ）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 (RPMI 8226, K562, Raji) のうち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性因子は 3 つの細胞株すべての増殖を抑制した。一方 RPMI 8226 と PBL の培養において産生される液性因子は RPMI 8226 自身の増殖を抑制せず、PBL による RPMI 8226 の増殖抑制において液性因子の働きは重要でないと考えられた。

PBL による RPMI 8226 および K562 の増殖抑制に主に関与する細胞サブセット

モノクローナ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、RPMI 8226 では変化はなかった。一方、CD3 陽性細胞除去にて RPMI 8226 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 RPMI 8226 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 RPMI 8226 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。

⁵¹Cr release cytotoxic assay における RPMI 8226 および K562 の感受性

RPMI 8226 は PBL/標的細胞比 40/1 でも % cytotoxicity は 30% を越えず、⁵¹Cr 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 RPMI 8226 および K562 の増殖抑制に対する mitomycin C (MMC) と cycloheximide (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、RPMI 8226 では $84 \pm 4\%$ 、K562 で $86 \pm 4\%$ であった。CYH 処理では RPMI 8226 の増殖抑制はあきらかに減少 ($30 \pm 5\%$) したが、K562 には変化がみられなかった ($96 \pm 4\%$)。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 RPMI 8226 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

骨髓腫患者の PBL における K562 の増殖抑制はほぼ正常であったが、RPMI 8226 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 RPMI 8226 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、RPMI 8226 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 により骨髓腫細胞株 RPMI 8226 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、骨髓腫患者の PBL

LによるRPMI 8226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、骨髓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種のヒト骨髓腫細胞株との混合培養系における、PBLによる骨髓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種の骨髓腫細胞株のうち、PBLによりRPMI 8226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RPMI 8226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。

本研究は骨髓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。