

Title	リンパ節内における転移癌細胞の退縮 : 非特異的活性化T細胞による癌細胞傷害作用
Author(s)	砂田, 祥司
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38329">https://hdl.handle.net/11094/38329</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	砂 田 祥 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 1 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 5 月 12 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	リンパ節内における転移癌細胞の退縮 —非特異的活性化T細胞による癌細胞傷害作用—
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 濱 岡 利 之 教 授 越 智 隆 弘

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

リンパ節に転移した癌細胞は多数のリンパ球に囲まれて存在する。これらの癌周囲のリンパ球を非特異的に活性化することにより、転移癌細胞が傷害されないか検討した。まず、Tリンパ球の抗原レセプターに対する抗体（抗CD3mAb）の投与による抗腫瘍効果を *in vivo* で観察した。次に、その抗腫瘍性メカニズムを追究することを目的とした。

### 【方 法】

#### 1) リンパ節内転移癌。

C57BL/6マウスに、同系マウス由来の肺癌 Lewis Lung Cancer Cell (以下LLC) を皮内移植し、10日後局所リンパ節を調べた。全例(12例中12例)に癌転移を認めた。そこで、原発巣を摘除し、リンパ節に転移癌を担うマウスとして使用した。抗CD3 mAb又は正常IgGを、腫瘍移植後、10、14、17、21日目に、それぞれ10 $\mu$ gをリンパ領野皮内に注射した。

#### 2) 培養による腫瘍傷害活性の誘導。

0.1 $\mu$ g/mlの抗CD3 mAbと1%の正常マウス血清を含むRPMI 1640培地で、リンパ球を、<sup>3</sup>HチミジンでDNAを標識した腫瘍細胞LLC細胞と48時間インキュベートして、LLC細胞から放出される放射能を液体シンチレーションにより測定した。

#### 3) リンパ球の分画。

蛍光色素細胞分画装置(FACStar)を用いて、正常脾細胞からCD4陽性細胞、CD8陽性細胞をそれぞれ分取して使用した。

#### 4) 抗TNF- $\alpha$ 抗体による傷害活性の阻止。

抗CD3 mAbにより活性化したCD4陽性T細胞の傷害活性測定時に、家兎抗マウスTNF- $\alpha$ 血清を添加した。

#### 5) 免疫沈降法。

抗 CD3 mAb により活性化された CD4 陽性細胞に、 $^{35}\text{S}$  -メチオニンを取り込ませて、内部から産生蛋白質を標識し、抗 TNF- $\alpha$  血清とインキュベートした。抗体に結合した抗原を Protein A-Sepharose 4B で回収し、SDS ポリアクリルアミド電気泳動し、オートラジオグラフィーにより、そのパターンを解析した。

#### 【成績】

- 1) 抗 CD3 mAb を投与されたマウスの癌転移リンパ節の大きさに変化は認められなかった。一方、対照の正常 I gG を投与されたマウスの癌転移リンパ節の大きさは、経時的に増大した。前者のリンパ節には癌細胞が観察されなかったが、後者のリンパ節は、癌細胞で占められているのが組織標本から観察された。
- 2) 正常リンパ節細胞及び正常脾細胞を、抗 CD3 mAb を添加下に培養すると、腫瘍傷害性細胞が誘導された。この腫瘍傷害活性を持つ細胞は、100%Thy 1 を発現し、約80%は CD4 抗原を、約20%が CD8 抗原を発現していた。
- 3) FACS で分取した CD4 陽性 T 細胞に抗 CD3 mAb を添加して培養しても高い腫瘍傷害活性が誘導された。FACS で分取した CD8 陽性 T 細胞からも低い、有意の傷害活性が誘導された。
- 4) 活性化 T 細胞の傷害活性は、細胞分画に検出され、細胞培養上清中には検出されなかった。活性化 CD4 陽性 T 細胞の傷害活性は抗 TNF- $\alpha$  血清により完全に阻害され、抗 TNF- $\alpha$  血清と反応する分子量約26kD の TNF- $\alpha$  蛋白が発現していた。

#### 【総括】

- 1) マウスのリンパ節内転移癌細胞に対する抗 CD3 mAb 局所投与による T 細胞の非特異的活性化の影響を観察し、且つ、抗 CD3 mAb によって活性化された T 細胞の細胞傷害作用のメカニズムを検討した。
- 2) マウスのリンパ節内転移癌細胞は、抗 CD3 mAb 局所投与により、その増殖が抑制されることが明らかになった。また、抗 CD3 mAb によって、正常リンパ節内の CD4 陽性 T 細胞に腫瘍傷害活性が誘導されることも明らかになった。そして、この活性化 CD4 陽性 T 細胞は、膜上に発現した TNF- $\alpha$  分子を介して、直接接触により癌細胞に傷害を与えることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、マウスのリンパ節癌転移モデルを作成し、T細胞の抗原レセプターに対する抗体（抗 CD3 mAb）の投与による抗腫瘍効果を in vivo で観察し、その抗腫瘍性メカニズムを in vitro で検討したものである。

その結果、マウスのリンパ節内転移癌細胞は、抗 CD3 mAb 局所投与によりその増殖が抑制されることが観察された。また、抗 CD3 mAb によって、正常リンパ節内の CD4 陽性 T 細胞に腫瘍傷害活性が誘導されることも明らかにしている。そして、この活性化 CD4 陽性 T 細胞の傷害活性は抗 TNF- $\alpha$  血清により阻害され、この細胞に抗 TNF- $\alpha$  血清と反応する分子量約26KD の TNF- $\alpha$  蛋白が発現していることも明らかにしている。

以上、本研究はリンパ節内における転移癌細胞の退縮に関する重要な知見を示したものであり、学位に値するものとする。