

Title	腫瘍特異的 lymphokine-activated killer 細胞誘導の試み：腫瘍内浸潤リンパ球および自己腫瘍と混合培養した末梢血リンパ球の比較
Author(s)	藤原, 彰
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38418">https://hdl.handle.net/11094/38418</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">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="#">こちら</a> 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	藤 原 彰
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 2 4 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	腫瘍特異的 lymphokine-activated killer 細胞誘導の試み —腫瘍内浸潤リンパ球および自己腫瘍と混合培養した末梢血 リンパ球の比較—
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中田 篤男 (副査) 教 授 木下タロウ 教 授 島田 和典

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目 的]

Rosenberg らによって TIL (tumor infiltrating lymphocytes) を LAK 細胞の precursor として使用することが試みられた。TIL より誘導された LAK 細胞の特徴は、患者末梢血リンパ球 (PBL) より誘導した LAK 細胞より、増殖性の優れていること、腫瘍特異的細胞障害性を有することにある。一方、Kanner らによって始められた mixed lymphocyte-tumor cell reaction の研究は、腫瘍細胞と PBL を混合培養し recombinant IL-2 を用いて MLTC-LAK 細胞を誘導しようとする試みへと進展してきている。本研究では、乳癌患者より TIL-LAK 細胞と MLTC-LAK 細胞を誘導し、両 LAK 細胞の増殖性、細胞障害性、および phenotype を比較し、MLTC-LAK 細胞を誘導することが、養子免疫療法における LAK 細胞誘導の有効な一手段となり得るかどうかを検討した。

### [方 法]

- 腫瘍径3cm以上の乳癌患者10症例より、約1cm<sup>3</sup>の腫瘍片と10mlの血液を採取した。培養液は、ヘパリン5U/ml、ヒト新鮮凍結血漿（患者と同一血型）10～15%、recombinant IL-2 1000JRU/ml を含む RPMI1640液を使用した。
- 1) TIL-LAK 細胞と MLTC-LAK 細胞誘導法：腫瘍片をメスまたはハサミにて細切し培養液にて組織浮遊液とし、それを二等分した。一方に末梢血液より Ficoll-paque 比重遠沈法にて採取した PBL を添加し、他方には添加せずに培養を開始した。7日間培養後、150  $\mu$ m ステンレスメッシュにて各々単細胞化し、PBS (－) 液にて洗浄後、培養液に再度浮遊させ、培養を続け LAK 細胞を誘導した。PBL を添加し誘導した LAK 細胞を MLTC-LAK 細胞とし、PBL を添加せずに誘導した LAK 細胞を TIL-LAK 細胞とした。
  - 2) 細胞障害性の測定：標的細胞として、HeP-2, SW-1116, MCF-7を用いた。effector/target=1/3, 1/1, 3/1 の割合に、LAK 細胞と標的細胞を混合し、96穴 micro test plate にて48～72時間培養後、PBS (+) 液を用い LAK 細胞を洗浄除去し、残存標的細胞数を neutral-red 色素取り込み法変法にて測定した。細胞障害性 (%) = 100 - 残存標的細胞数 (%)。
  - 3) phenotype の解析：CD4-CD8, CD3-CD56, CD8-CD11b について two color stain にて FACS analysis を用い解

析した。

#### [結 果]

- 1) 増殖性: MLTC-LAK 細胞は10例全例において誘導し得たが, TIL-LAK 細胞は10例中7例でしか誘導できなかった。治療に必要なLAK細胞数( $10^8$ 個以上)を誘導できたのは, MLTC-LAK 細胞では10例中6例で, TIL-LAK 細胞では10例中3例であった。
- 2) 細胞障害性: TIL-LAK 細胞と MLTC-LAK 細胞の間には有意な差は認められなかった。標的細胞をMCF-7(乳癌株)とした場合, いずれのLAK細胞も他2種類の腫瘍細胞株を標的細胞とした場合よりも強い細胞障害性を示す傾向が認められた。
- 3) phenotype: 両LAK細胞間に有意な差はなく, NK-LAK( $CD3^+$ ,  $CD56^+$ )細胞は20%以下であり, T-LAK( $CD3^+$ ,  $CD8^+$ )細胞が主体を占めていた。

#### [総 括]

MLTC-LAK 細胞と TIL-LAK 細胞の間に, phenotype の解析では差がなく, 細胞障害性においても差が認められず, さらに乳癌腫瘍細胞株に対して強い細胞障害性を示したことより, 両LAK細胞は, 自己腫瘍細胞に対しても同様な細胞障害性を示すものと考えられた。また, MLTC-LAK 細胞を誘導する方が TIL-LAK 細胞を誘導するよりも容易であることを考え合わせれば, MLTC-LAK 細胞誘導は TIL-LAK 細胞誘導に代わる, LAK 細胞誘導法の一つの有用な方法と考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は, 乳癌患者より摘出した腫瘍組織と末梢血リンパ球を用い, 腫瘍内浸潤リンパ球より誘導したLAK細胞(TIL-LAK細胞)と, 腫瘍組織と末梢血リンパ球を混合培養し誘導したLAK細胞(MLTC-LAK細胞)の増殖性, 細胞障害性およびphenotypeについて比較検討を行ったものである。その結果, 両LAK細胞は, 各種株化腫瘍細胞に対する細胞障害性およびphenotypeの比較より, 自己腫瘍細胞に対して同等の細胞障害性を示すものと推測された。さらに, 増殖性の比較より, MLTC-LAK細胞を誘導する方が, TIL-LAK細胞を誘導するよりも効率が良いことが示された。以上より, 本研究によって, MLTC-LAK細胞誘導がTIL-LAK細胞誘導に代わる, LAK細胞誘導法の一つの有用な方法であることが明らかにされた。

従って, 本研究は学位に値するものと考えられる。