



Title	ノカルディア菌細胞壁骨格とインターロイキン2の併用によるマウスでのリンフォカイン活性化キラー細胞の誘導増強およびその抗腫瘍効果
Author(s)	松梨, 真知子
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38692">https://hdl.handle.net/11094/38692</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 まつ なし ま ち こ  
松 梨 真 知 子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 8 7 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 7 月 1 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 ノカルディア菌細胞壁骨格とインターロイキン2の併用によるマウスでの  
リンフォカイン活性化キラー細胞の誘導増強およびその抗腫瘍効果

(主査)  
論 文 審 査 委 員 教 授 岸 本 忠 三

(副査)  
教 授 松 沢 佑 次 教 授 濱 岡 利 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

リンパ球を interleukin 2 (IL 2) で刺激することによって誘導された lymphokineactivated killer (LAK) 細胞は, *in vitro* において強力な細胞傷害を発揮するが, LAK 細胞とヒト recombinant IL 2 (rIL 2) を投与した場合の抗腫瘍効果は, 極めて低いものに留まっている。この現状を打開するためには, より少量の rIL 2 で強力な LAK 細胞を生体内で誘導・維持し, さらにそれを腫瘍部位へ効率良く集合させる方策が必要である。*Nocardia rubra* の cell wall skeleton (N-CWS) は, 毒性の低い抗腫瘍性免疫アジュバントで, T 細胞やマクロファージを刺激し, 種々のサイトカインを産生させる。本研究では, マウスの腫瘍系を用いて, N-CWS と rIL 2 を併用することにより, *in vivo* で強力な LAK 細胞が誘導され, 明らかな抗腫瘍効果がもたらされるか否かを検討した。

### 【方法ならびに成績】

C3H/HeN マウスの皮下に, 30,000単位の rIL 2 を1日1回3日間投与し, その翌日に脾細胞および腹腔リンパ球の LAK 活性を, 3LL 腫瘍細胞に対する4時間の<sup>51</sup>Cr 遊離試験で検討した結果, それらの LAK 活性は, 対照群に比べ軽度上昇していた。rIL 2 投与開始前日に N-CWS 100 μg を腹腔内に投与しておくことにより, 腹腔リンパ球の数が著しく増加するとともに rIL 2 による LAK 活性誘導が有意に増強されたが, 脾細胞の LAK 活性は, rIL 2 の単独効果以上には増強されなかった。N-CWS と rIL 2 併用で誘導された腹腔 LAK 細胞は, 非付着性, 非貧食性で, Thy-1.2<sup>+</sup>, Lyt-1.1<sup>+</sup>, Lyt-2.1<sup>+</sup>, asialo GM1<sup>+</sup>であった。C3H/HeN マウスの腹腔内に N-CWS 100 μg を投与し, 3日後に腹腔リンパ球を得, rIL 2 の存在下で培養した結果, 対照群に比べ N-CWS 誘発腹腔リンパ球では, 低濃度の rIL 2 (30U/ml) で短時間(18時間)の刺激により, 高い LAK 活性が誘導された。N-CWS の腹腔内投与で誘発された LAK 前駆細胞は Thy-1.2<sup>+</sup>, asialo GM1<sup>+</sup>であった。<sup>125</sup>I-rIL 2 を用いて IL 2 結合試験を行った結果, N-CWS 誘発腹腔リンパ球では, 対照群に比べ IL 2 結合能が増強されており, IL 2 receptor の親和性が著しく高められていた。N-CWS 併用による LAK 細胞誘導増強効果は, C57BL/6 bg/bg マウスおよび BALB/c nu/nu マウスでは発現されず, この現象には, NK 細胞と T 細胞が必須であった。

diffusion chamber において、medium のみあるいは N-CWS で刺激された C3H/HeN マウス脾細胞を下層に、未刺激脾細胞を上層に加え、低濃度の rIL 2 (30U/ml) を添加して 4 日間培養した。その結果、N-CWS 刺激脾細胞が rIL 2 の存在下に可溶性因子を産生し、その因子が上下層間の microporous membrane を通過し、上層において rIL 2 と強調作用を行い脾細胞からの LAK 細胞誘導を増強した。本研究では、この可溶性因子を LAK-helper factor (LHH) と名付けた。C3H/HeN 脾細胞を抗体および補体で処理した後、diffusion chamber の上層あるいは下層に加えて同様の実験を行った。その結果、LHF 産生担当細胞は、Thy-1.2<sup>+</sup>, Lyt-1.1<sup>+</sup>, Lyt-2.1<sup>+</sup>, asialo GM<sub>1</sub><sup>-</sup>であり、また LHF と rIL 2 の協調作用に応答する LAK 前駆細胞は、Thy-1.2<sup>-</sup>, Lyt-1.1<sup>-</sup>, Lyt-2.1<sup>-</sup>, asialo GM<sub>1</sub><sup>+</sup>であった。

C57BL/6N マウスの皮下に 3LL 腫瘍細胞10<sup>6</sup>個を移植し、5 日後に N-CWS 100 μg を腫瘍内に投与、その翌日より 6 日間30,000単位の rIL 2 を皮下に投与した。その結果腫瘍の増大は著しく抑制された。N-CWS あるいは rIL 2 単独では明らかな腫瘍抑制効果が得られなかった。また、N-CWS と rIL 2 の併用投与を受けた腫瘍組織には、多数のリンパ球がマクロファージや好中球とともに浸潤していた。

#### 【総括】

- 1) C3H/HeN マウスにおいて、高単位の rIL 2 を皮下投与することにより、全身レベルで LAK 細胞が誘導され、N-CWS の投与を併用することにより、N-CWS の投与局所に LAK 細胞が数多く集合しかつそれらのキラー活性が有意に増強された。N-CWS の投与局所で刺激された LAK 前駆細胞の大部分は NK 細胞であり、N-CWS 刺激により中等度親和性の IL 2 receptor が増加し、その結果 rIL 2 による LAK 活性誘導が増強されと考えられた。
- 2) N-CWS は T 細胞を刺激し、LAK 細胞誘導増強因子 (LHF) を産生させ、LHF は rIL 2 による NK 細胞からの LAK 活性誘導を増強した。
- 3) 3LL 担癌マウスにおいて、N-CWS の腫瘍内投与および rIL 2 の皮下投与を併用することにより、腫瘍の増大が著しく抑制された。

以上の結果から、N-CWS と rIL 2 の併用療法は、限局性の腫瘍病変に対し有効な治療法となりうることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

松梨真知子君の本研究論文は、マウスの腫瘍系を用いて、リンパ球を interleukin 2 (IL 2) と抗腫瘍免疫アジュバントであるノカルディア菌の細胞壁骨格 (以下、N-CWS) とを用いて併用刺激することにより、in vivo での LAK 細胞誘導が増強され、かつ N-CWS の投与局所に LAK 細胞が数多く集合することを示し、さらにそれが明かな抗腫瘍効果をもたらしたことを示しており、N-CWS と IL 2 との併用療法が、限局性の腫瘍病変に対して有効な治療法となり得る可能性を示している。

大変有意義な研究発表であり、学位を授与されるのに値する学識を有するものと判断した。