



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	https://hdl.handle.net/11094/38692
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 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10878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

論文審査委員 (主査) 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。この現状を開拓するためには, 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】

C 3 H/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, 3 LL 腫瘍細胞に対する 4 時間の ^{51}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 $^{+ \sim}$, Lyt-1.1 $^{-}$, Lyt-2.1 $^{-}$, asialo GM $_{1+}$ であった。C 3 H/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 $^{+ \sim}$, asialo GM $_{1+}$ であった。 ^{125}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rIL2(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rIL2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rIL2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(LHF)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⁺、Lyt-1.1⁺、Lyt-2.1⁺、asialo GM₁⁻であり、またLHFとrIL2の協調作用に応答するLAK前駆細胞は、Thy-1.2⁻、Lyt-1.1⁻、Lyt-2.1⁻、asialo GM₁⁺であった。

C57BL/6Nマウスの皮下に3LL腫瘍細胞10⁶個を移植し、5日後にN-CWS 100μgを腫瘍内に投与、その翌日より6日間30,000単位のrIL2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rIL2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rIL2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rIL2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つ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IL2 receptorが増加し、その結果rIL2によるLAK活性誘導が増強されると考えられた。
- 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rIL2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rIL2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rIL2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interleukin2(IL2)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、さらにそれが明らかな抗腫瘍効果をもたらし得たことを示しており、N-CWSとIL2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。