

Title	IL7によるLAK細胞の誘導 : 腎細胞癌に対するLAK細胞の殺細胞効果の検討
Author(s)	近藤, 雅彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/38920">http://hdl.handle.net/11094/38920</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	近藤 雅彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11314 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	IL7によるLAK細胞の誘導 — 腎細胞癌に対するLAK細胞の殺細胞効果の検討 —
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 青笹 克之 教授 松田 暉

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

化学療法では無効である進行性腎癌に対する補助療法としてLAK細胞とIL2による免疫療法が進行性腎癌に対して有効であるとの報告以後、本邦においても、腎癌症例に対する治療成績が報告されている。しかし、当初の期待に反して効果や副作用の点でまだまだ満足すべきものではない。今後この治療法で満足すべき成績を得るためには、より強い抗腫瘍効果を有するLAK細胞の誘導が重要な課題である。

インターロイキン7(以下IL7)は、T-cellに関して増殖、分化に関与し、LAK細胞やCTLを誘導することが報告されている。

今回著者は、このIL7に着目し、腎細胞癌に対するLAK療法の効果の向上と副作用の軽減を目的として、IL7によるLAK細胞の誘導の可能性及びIL2誘導LAK活性の増強について*in vitro*で検討した。

#### 【対象と方法】

1991年より1993年の間に腎摘除され組織学的に腎細胞癌と診断された57歳から69歳までの、男性4例、女性6例の10例を対象とした。cell lineは、大阪大学医学部泌尿器科学教室において樹立したヒト腎癌由来細胞株(OUR-10・OUR-20)を用いた。IL2は遺伝子組み替えIL2(92.8x10<sup>5</sup>JRU/mg)を希釈して用い、IL7は、米国Immunex社よりの供与を受けた遺伝子組み替えIL7(1.4x10<sup>5</sup>U/μg protein)を用いた。

効果細胞として、末梢血単核球(PBMC)を種々の濃度のcytokineで期間を変えて培養したものをを用いた。

標的細胞として腎癌初期培養細胞ならびにcell lineとして当教室にて樹立したヒト腎癌由来細胞株を<sup>51</sup>Crでラベルし供した。

標的細胞と効果細胞のE/T ratioを調節し、96穴丸底マイクロプレート内で4時間の<sup>51</sup>Cr releasing assayを行ないLAK活性を測定した。LAK活性は% lysisとして、次式によって算出した。

$$\% \text{ lysis} = (\text{実験解離} - \text{自然解離}) / (\text{最大解離} - \text{自然解離}) \times 100$$

また、LAK細胞のDNA合成能の測定と、flowcytometryによるリンパ球表面マーカーの解析を行なった。

#### 【結果】

IL7によりLAK活性はIL2誘導LAK活性よりも弱いながらも、誘導できるものがあるが、濃度依存性は認めなかった。IL2とIL7を併用して誘導したLAK細胞ではIL2単独で誘導したLAK細胞よりも殺細胞効果は高い傾向にあり、

1000 U/ml IL2, 1000 U/ml IL7 の濃度で誘導したときが最も高かった。IL7 誘導 LAK 細胞では、E/T ratio が増加するにつれてその LAK 活性が増強している。IL2 誘導 LAK 細胞および IL2 と IL7 の併用誘導 LAK 細胞では E/T ratio=10 をピークとした。単独添加群および併用添加群の三者ともに PBMC を 7 日間誘導培養したものに LAK 活性のピークをみる。効果細胞の誘導を上記至適条件で行なった。健康成人例 3 例、担癌症例 3 例の合計 6 例すべてにおいて標的細胞 (cell line) と効果細胞のどのような組み合わせでも、IL2 誘導 LAK 活性に比べて IL2 と IL7 を併用して誘導した LAK 活性は相加効果以上を認め、組み合わせによっては、相乗効果を認めた。IL7 では、LAK 活性は誘導できたものもあるが、IL2 誘導 LAK 活性に比べて弱い。自己腫瘍細胞に対する LAK 活性でも同様の結果が得られた。IL2 誘導 LAK 活性と IL7 誘導 LAK 活性の間には相関関係は認められなかった。IL7 単独では LAK 活性の誘導は可能であったが、やはり IL2 誘導 LAK 活性よりも低い。IL7 の標的細胞に対する直接効果は認められなかった。

DNA 合成能の測定では、IL7 添加群、IL2 添加群および IL2 と IL7 の併用添加群の各々群間の取り込み量に有意の差は認められなかった。

LAK 細胞の flowcytometry によるリンパ球表面マーカーの解析では、IL7 誘導 LAK 細胞で IL2R 陽性細胞と CD3 陽性細胞が有意に増加している。two color flowcytometry では、IL2 と IL7 を併用することにより CTL (CD8 (+) / CD11b (-)) (35.7±9.5%) が、IL2 単独で誘導した LAK 細胞よりも増加する傾向を認めた。

#### 【総括】

IL7 を IL2 と併用して誘導した LAK 活性は IL2 単独で誘導した LAK 活性よりも高い。IL7 により誘導される LAK 細胞は IL2 誘導 LAK 細胞と比べて質的に異なり、併用することにより、腎癌における LAK 療法の増強の可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

IL7 による、LAK 細胞の誘導の可能性及び IL2 誘導 LAK 活性の増強について検討した。1991年より1993年の間に腎摘除され組織学的に腎細胞癌と診断された57歳から69歳までの、男性4例、女性6例の10例と、ヒト腎癌由来細胞株を対象とした。IL7 は、米国 Immunex 社よりの供与を受けた遺伝子組み替え IL7 (1.4x 10<sup>5</sup>U/mg protein) を用いた。4 時間の <sup>51</sup>Cr-releasing assay を行ない LAK 活性を測定した。また、LAK 細胞の DNA 合成能の測定と、flowcytometry によるリンパ球表面マーカーの解析を行なった。まず至適条件を検討し、1000 U/ml IL2, 1000 U/ml IL7 の濃度で 7 日間誘導培養したとき、LAK 活性が高く、E/T ratio が増加するにつれて LAK 活性が上昇することを確認した。自己腫瘍細胞に対する LAK 活性では IL2 誘導 LAK 活性に比べて IL2 と IL7 を併用して誘導した LAK 活性は増強効果を認めた。IL7 では、LAK 活性は誘導できたものもあるが、IL2 誘導 LAK 活性に比べて弱い。IL7 の標的細胞に対する直接効果は認められなかった。DNA 合成能の測定では、IL7 添加群、IL2 添加群および IL2 と IL7 の併用添加群の各々群間の取り込み量に有意の差は認められなかった。LAK 細胞の flowcytometry によるリンパ球表面マーカーの解析では、IL7 誘導 LAK 細胞で IL2R 陽性細胞と CD3 陽性細胞が有意に増加している。IL2 と IL7 を併用することにより CTL が、IL2 単独で誘導した LAK 細胞よりも増加する傾向を認めた。

以上の結果より、IL7 により誘導される LAK 細胞は IL2 誘導 LAK 細胞と比べて質的に異なり、併用することにより、腎癌における LAK 療法の効果向上の可能性が示唆されたことは学位論文に値する。