OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	凍結破壊悪性腫瘍細胞接種による腫瘍免疫の誘導 : 腫瘍特異性の関与と抗原性の局在について
Author(s)	田村, 啓史
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39081
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

【8】

氏　　　名	田村啓史（たむら ひろし）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学位記番号	第　11834　号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	凍結破壊悪性腫瘍細胞接種による腫瘍免疫の誘導 －腫瘍特異性の関与と抗原性の局在について－
論文審査委員	（主査） 教 授 作田 正義 （副査） 教 授 岡田 宏　助教授 小川 知彦　助教授 石田 武

論文内容の要旨

凍結外科手術は，腫瘍病巣を破壊し，局所に残存した凍結破壊腫瘍細胞が抗原として作用すると考えられることから，免疫療法の意味あいも持っている。これまで，癌免疫療法は非特異的なものが多く，自ずとその効果には限界があった。凍結療法は宿主の腫瘍細胞そのものを抗原として用いる点から，特異的な応答が惹起されている可能性も考えられる。また，凍結破壊された悪性腫瘍細胞から，宿主にマイナスの効果をもたらす成分を除き，プラスの効果をもたらす成分を分離することで，より強い免疫能を誘導することが期待できる。

そこで，本論文では，凍結破壊腫瘍細胞接種による免疫応答の腫瘍特異性の関与を検討し，さらに凍結破壊された悪性腫瘍細胞の細胞成分を分離し，各成分の抗腫瘍性と免疫誘導能について検討した。

実験には，BALB／c マウスおよびその同系腫瘍 Meth-A（メチルコラントレン誘発線維肉腫），Colon26（N-ニトロソ-N-メチルウレタン誘発結腸癌）を用いた。腫瘍細胞を液体窒素中で凍結した後，室温にて自然融解する操作を2回繰り返し，これらを Cryo Meth-A，Cryo Colon26とした。また，対照としてマイトマイシンC処理した Meth-A（MMC Meth-A）とホモジナイズ処理した Meth-A（Homo Meth-A）を用いた。

マウスに Cryo Meth-A または MMC Meth-A を1回接種後 Meth-A を移植すると，両群とも，PBS（－）のみを接種した Control 群に比べ，Meth-A の増殖抑制が認められた。なお，MMC Meth-A 群は，Cryo Meth-A 群に比べ，より強い抗腫瘍性を呈した。さらに，接種を3回に増すと，Cryo Meth-A 群，MMC Meth-A 群ともに移植した Meth-A は，一時的に生着するものの完全に消失した。また，Homo Meth-A 群においても同様に Meth-A の消失を認めた。これより，凍結破壊腫瘍細胞は，接種回数を増すことによって細胞破壊していないものと同等の強い抗腫瘍性を誘導すること，ホモジナイズ処理した腫瘍細胞と抗腫瘍性の誘導において差がないことが示された。

凍結破壊処理細胞接種により誘導される抗腫瘍性の特異性を検討するために，Cryo Meth-A と Cryo Colon26をそれぞれマウスに接種した後，Meth-A あるいは Colon26を移植し比較したところ，腫瘍特異的な腫瘍増殖抑制が認められた。

この抗腫瘍性の細胞性免疫の関与を調べるために，Winn 中和試験を行った。その結果，Cryo Meth-A 群，Homo Meth-A 群および MMC Meth-A 群では，Control 群と比べ有意に Meth-A の増殖抑制が認められ，脾細胞の関与が認められた。

そこで，脾細胞の NK 活性を測定したところ，接種後7日目，MMC Meth-A 群を除く全群に同程度の活性の増強

を認めた。一方，CTL 活性は，腫瘍移植後14日目になって初めて，MMC Meth-A 群，Cryo Meth-A 群および Homo Meth-A 群において活性の増強を認めた。

また，液性免疫について検討してみたところ，Cryo Meth-A，Cryo Colon26を接種したマウスの血清中に腫瘍特異的な抗体が認められた。Homo Meth-A 群および MMC Meth-A 群においても，抗 Meth-A 抗体の存在が確認された。

Cryo Meth-A の抗原性の局在を知るために，Cryo Meth-A より細胞膜と細胞質を分離し，それぞれをマウスに接種し，各試験を行った。細胞膜群では，細胞質群に比べ，移植した腫瘍の増殖抑制，NK 活性・CTL 活性の増強および抗 Meth-A 抗体の存在が認められ，細胞膜が強い腫瘍特異的抗原性を有することが示された。

そこで，腫瘍特異的抗原性が高かった細胞膜より脂質と糖タンパクを分離し，それぞれの抗腫瘍性および免疫誘導能を比較検討したところ，腫瘍特異的免疫の誘導が細胞膜のうち糖タンパクによって担われていることが明らかになった。

次に，Meth-A をタンパク分解処理したものを接種したところ，移植した Meth-A の増殖は抑制されず，CTL 活性の増強も認められず，Cryo Meth-A の腫瘍特異的抗原性が細胞膜のタンパクによって担われていることが明らかとなった。なお，SDS-PAGE により Cryo Meth-A および Homo Meth-A の細胞膜タンパクの比較した結果，両者のバンドに明らかな違いは認められず，ここでも二つの細胞破壊方法による細胞膜タンパクへの影響に差がないことが示された。

以上により，凍結破壊処理した悪性腫瘍細胞は，多少の抗原性の減弱はあるものの，腫瘍細胞の細胞膜上の抗原性を消失しておらず，宿主に非特異的免疫に加えて，腫瘍特異的免疫を誘導することが明らかとなった。このように，凍結破壊された腫瘍細胞が惹起する免疫応答の実態を把握することは，より有効な凍結療法（凍結外科手術，凍結免疫療法）の実現につながるものと考える。

論文審査の結果の要旨

本研究は，凍結外科手術による腫瘍免疫の誘導，特に凍結破壊腫瘍細胞接種による免疫応答の中での腫瘍特異性の関与を実験的に検討し，さらに凍結破壊された腫瘍細胞の細胞成分を分離し，各成分の抗腫瘍性と免疫誘導能について検討したものである。

その結果，凍結破壊された腫瘍細胞には腫瘍特異性抗原が存在していること，またその抗原性は細胞膜中の蛋白質によって担われている可能性を明らかにした。

さらに，細胞膜の脂質は，腫瘍特異的免疫を誘導しないものの，NK 細胞を活性化する能力があり，非特異的免疫の誘導に重要な役割を果していることが判明した。

以上のように，本研究は，凍結外科療法のもつ腫瘍破壊能のみならず，凍結破壊された腫瘍細胞による抗腫瘍免疫誘導能の機序の一端を明らかにし，本療法の臨床応用に有益な示唆を与えたものである。よって，博士（歯学）の学位を得るに十分な資格があるものと認められる。