



Title	マウスColon26結腸癌細胞の人工肺転移形成に対する宿主免疫系の関与：特に細胞性免疫について
Author(s)	藤代, 博巳
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39825
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	藤 代 博 巳
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 4 3 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 8 年 3 月 25 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	マウス Colon 26 結腸癌細胞の人工肺転移形成に対する宿主免疫系の関与 特に細胞性免疫について
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 作田 正義 (副査) 教 授 伊集院 直邦 教 授 松矢 篤三 講 師 木村 重信

論 文 内 容 の 要 旨

【研究目的】

現在の癌治療は手術療法、化学療法、放射線療法などによる集学的治療が中心に行われ、原発巣の治療成績が飛躍的に向上してきている。しかしながら、今なお癌が致死性の疾患として恐れられている原因の 1 つに癌転移がある。癌転移形成阻止に関与する生体防御機構の重要な 1 つとして、主に T 細胞に代表される特異的免疫、および NK 細胞、マクロファージなどに代表される非特異的免疫があるとされている。これら免疫系の癌転移形成過程に対する関与について、癌細胞の血管内侵入以後の血流中の癌細胞においては非特異的免疫が重要であると報告がみられるが、特異的免疫の関与も含めた明確な研究結果はみられない。そこで本研究は、マウス Colon 26 人工肺転移モデルを用いて、NK 細胞およびキラー T 細胞が肺転移形成に及ぼす影響ならびに、その作用時期について検討を行った。

【材料及び方法】

1. 転移結節数

BALB/c マウスに Colon 26 を静脈内移入 (移入) し、Colon 26 移入日を 0 日として、IL-2 を Colon 26 移入 2 日前より連続 3 日間腹腔内投与した IL-2 pre 群、IL-2 を 0 日より連続 3 日間腹腔内投与した IL-2 群、IL-2 を Colon 26 移入後 5 日より連続 3 日間腹腔内投与した IL-2 post 群、MMC 処理した Colon 26 (MMC Colon 26) を Colon 26 移入 14 日前および 7 日前に皮下接種した MMC Colon 26 群の Colon 26 移入後 14 日目の肺転移結節数を測定した。

2. RI 標識 Colon 26 の肺集積

IL-2 pre 群、IL-2 群および MMC Colon 26 群に ^{51}Cr 標識を行った Colon 26 を移入し、移入 24 時間後に肺を摘出した。摘出肺の放射活性値を γ カウンターにて測定し、 ^{51}Cr 標識 Colon 26 の肺集積率を算定した。

3. 宿主免疫

IL-2 pre 群、IL-2 群、IL-2 post 群および MMC Colon 26 群の宿主免疫の変動について、脾細胞をエフェクター細胞とし、YAC-1 に対する 4 時間の ^{51}Cr 遊離試験、および Colon 26 に対する Winn Assay で検討した。さらに、脾細胞をプラスチック付着細胞と非付着細胞に分画、あるいは抗アジアロ GM 1 抗体、抗 Thy-1.2 抗体、抗 CD 4 および CD 8 抗体にて処理し、エフェクター細胞の解析を行った。

4. 抗体の in vivo 投与が肺転移結節数に及ぼす影響

Colon 26の移入2日前に抗アシアロ GM 1 抗体を静脈内投与した群、および MMC Colon 26群に Colon 26移入後2日目および7日目に抗 CD 8 抗体を静脈内投与した群について、Colon 26移入後14日の肺転移結節数を測定した。

【結果】

1. 転移結節数

IL-2 pre 群、IL-2 群および MMC Colon 26群が対照群に比し有意な転移結節数の減少を示した。また、IL-2 pre 群と IL-2 群の比較では IL-2 pre 群が有意に転移結節数が減少した。一方、IL-2 post 群では対照群と有意差がなかった。

2. RI 標識 Colon 26静脈内移入後の肺集積

IL-2 pre 群および IL-2 群において、対照群に比し有意な肺集積率の減少を示した。また、IL-2 pre 群と IL-2 群の比較では IL-2 pre 群が有意に肺集積率が減少した。一方、MMC Colon 26群では対照群と有意差がなかった。

3. 宿主免疫

MMC Colon 26群では YAC-1 に対する細胞障害活性の増強はみられず、Colon 26移入時より2週間以上続く Colon 26に対する抗腫瘍活性の増強がみられた。このエフェクター細胞はプラスチック非付着分画に存在するアシアロ GM 1 (-), Thy-1.2 (+), CD 4 (-), CD 8 (+) の細胞、すなわちキラー T 細胞であることが示唆された。

IL-2 pre 群、IL-2 群および IL-2 post 群では、Colon 26に対する抗腫瘍活性の増強はみられず、YAC-1 に対する細胞障害活性がみられ、この活性は IL-2 投与開始後12時間にはすでに増強し、投与開始後3日にピークを示し7日には対照群と有意差がなくなるパターンを示した。このエフェクター細胞はプラスチック非付着分画に存在するアシアロ GM 1 (+), Thy-1.2 (-) の細胞、すなわち NK 細胞であることが示唆された。

4. 抗体の in vivo 投与が肺転移結節数に及ぼす影響

抗アシアロ GM 1 抗体を投与した群で、対照群に比較し有意に肺転移結節数が増加した。一方、抗 CD 8 抗体を投与した群では、MMC Colon 26群に比較し有意な肺転移結節数の増加がみられ、この肺転移結節数は対照群と有意差がなかった。

【考察および結論】

Colon 26人工肺転移系において、NK 細胞およびキラー T 細胞が肺転移形成の抑制に重要な役割を演じ、これらの細胞活性増強により肺転移形成が抑制されることが明らかとなった。また、これらエフェクター細胞の癌転移形成過程における作用時期は、NK 細胞は主に Colon 26が血流中にある時期に作用すること、またキラー T 細胞は主に Colon 26の肺への到達以後の時期に作用することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は癌細胞の転移抑制機構に免疫機構がいかなる関与をするのか、特に NK 細胞とキラー T 細胞が癌細胞の一連の転移過程においてどの時期に作用するのかを実験的に検討したものである。

その結果、Colon 26を用いた人工的肺転移系において NK 細胞およびキラー T 細胞の活性化は肺転移形成の抑制に重要な役割を演じていること、さらにその活動は、NK 細胞については癌細胞が主に血流中にある時期であり、キラー T 細胞については癌細胞が肺組織に到達した以降の時期に主たる作用を行うことが示唆された。

この結果は癌転移に対する処置を考える上で貴重な知見を提供するものであり、本研究は博士（歯学）の学位請求に値するものであると認められる。