

# 絨毛癌患者Tリンパ球の自家癌培養細胞に対する細胞傷害能 —夫リンパ球による誘導—

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 前田, 眞 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1337">http://hdl.handle.net/10271/1337</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 60号	学位授与年月日	平成 元年 2月 3日
氏名	前田 眞		
論文題目	絨毛癌患者 Tリンパ球の自家癌培養細胞に対する細胞傷害能 —夫リンパ球による誘導—		

絨毛癌患者Tリンパ球の自家癌培養細胞に対する細胞傷害能  
—夫リンパ球による誘導—

## 論文の内容の要旨

研究目的；妊娠に由来する絨毛癌は、妊娠絨毛細胞が宿主において拒絶されず存続し生着することに端を発することから、その発生には患者と絨毛癌細胞との間における組織適合性が関与する可能性があり、また移植抗原として夫の遺伝子を有する同種移植腫瘍と考えられることから、過去に各種の夫組織を用いた免疫療法が行われている。しかし、それらは臨床経過から有効であったとしており、*in vitro*でその有効性を証明したものはない。そこで絨毛癌患者夫婦間の組織適合性を検討するとともに、夫リンパ球を用いた絨毛癌治療の可能性について、より生体内の状態に近づいた*in vitro*の自家系実験において検討した。

研究方法；1) 胞状奇胎、侵入奇胎、絨毛癌の患者夫婦について、HLA-A, BおよびDR抗原につき検索し、夫婦間での組織適合性について検討した。

2) 妊娠36週婦人、胞状奇胎、絨毛癌の患者血清中に抗HLA抗体、抗夫リンパ球抗体が存在するか否か、補体依存性細胞傷害試験(NIH standard method)および吸収試験により検索した。

3) 絨毛癌肺転移病巣より得られた癌組織をヌードマウス背面皮下へ移植し、増大した後、摘出、細切、trypsin処理し、この単離浮遊細胞を、20% FCS含RPMI 1640培養液で、37°C、5% CO<sub>2</sub>下にて継代培養した(SMT-ccl)。

4) SMT-ccl 担癌患者末梢血よりNylon wool column法を用いてTリンパ球を採取し、これをmitomycin C(MMC)で不活化処理したSMT-ccl細胞、MMC処理夫リンパ球の各々と、responder/stimulator ratio = 10:1で6時間混合培養(one way MLC)を行い、得られたリンパ球をeffector cellとした。

Target cellにはNa<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>で標識したSMT-ccl細胞を用いた。

各々のeffector cellとtarget cellをE/T ratio = 40:1で37°C下、4時間混合培養し、上清中に解離してきた<sup>51</sup>Crを測定し、各々のeffector cellの細胞傷害能を、net release(%) = [実験群cpm - 自然解離cpm / 最大解離cpm - 自然解離cpm] X 100で求めた。また混合培養時に抗HLA抗体を添加し、その影響についても検討した。

研究成績；1) 患者夫婦間のHLA抗原適合率は、絨毛癌患者では60%となり、胞状奇胎(29%)、侵入奇胎(0%)より高率であった。

2) 抗夫リンパ球抗体、抗HLA抗体は、妊娠36週婦人の40例中14例(35%)に認められたのに対し、絨毛癌患者では5例中全例が陰性であった。

3) 絨毛癌培養細胞株の樹立に成功し、SMT-cclと命名し本研究に供した。

4) MMC処理夫リンパ球と6日間混合培養し活性化されたSMT-ccl 担癌患者Tリンパ球のSMT-cclに対する細胞傷害能は、単独培養のみの患者Tリンパ球が7.6%であるのに対し、19.7%と著明に高められていた。さらにそれは、MMC処理SMT-cclと6日間混合培養し、特異的に活性化された患者Tリンパ球の22.2%とほぼ同等でもあった。また、健常人リンパ球を用いて、同様にone way MLCを行っても、単独培養のみと差がみられず、その傷害能は低率で特異性はなかった。さらに、細胞傷害試験の際、抗HLA-A, B抗体を添加することにより、細胞傷害能は著明に増強され、この現象はADCC(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)によると考えられることから、SMT-cclにはHLA-A, B抗原が表現されていることが示唆された。

結語；自家癌細胞で刺激され、特異的に誘導される患者Tリンパ球の細胞傷害能は、夫リンパ球で刺激する

ことによっても同じように誘導されることが証明された。このことは、SMT-cclとその夫リンパ球に、なんらかの共通した抗原決定基が表現されていることを示唆しており、夫リンパ球を用いた特異的免疫療法の有効性が証明され、さらにはその臨床応用が可能になったといえよう。

### 論文審査の結果の要旨

絨毛癌に対する夫組織を用いた免疫療法が行われ、臨床経過より有効例がしばしば観察されてきた。しかし、*in vitro*でその有効性を証明したものはなかった。また、免疫感作リンパ球による養子移入法で抑制効果をあげた例もほとんどみられない。そこで、申請者は絨毛癌患者、その兄弟姉妹及び夫の組織適合抗原を検索し、夫リンパ球を用いた有効な絨毛癌治療の可能性を見出した。また、絨毛癌培養細胞株を樹立し、自家腫瘍系において夫リンパ球免疫療法とのからみでその有効性を明らかにし、癌免疫療法のモデルとしてのよき例を示した。

患者夫婦間の組織適合性はHLAタイピング(補体依存性細胞傷害試験-NIH standard method)により、また、患者血清中の抗HLA抗体および抗夫リンパ球抗体の検索は同様の方法を用いて行った。絨毛癌細胞株、SMT-cclは癌組織をまずヌードマウスに移植し、増大した腫瘍組織よりhCGを産生し続ける培養細胞として樹立した。SMT-ccl細胞の由来癌の患者末梢血よりTリンパ球をNylon wool column法で採取し、mitomycin C(MMC)処理SMT-ccl細胞、またはMMC処理夫リンパ球と混合培養することにより、それぞれに対する感作Tリンパ球を作製した。この感作Tリンパ球をeffector cellとして用いたSMT-ccl細胞傷害能を、<sup>51</sup>Cr release assay(% net release)で検討した。また、混合培養時に抗HLA抗体を添加し、その影響についても検討した。

本研究で明らかにされた点は以下の如くである。

- 1) 患者夫婦間のHLA抗原適合率は、絨毛癌患者では60%で、胞状奇胎(29%)や侵入奇胎(0%)より高率であった。
- 2) 抗夫リンパ球抗体と抗HLA抗体は妊娠36週婦人で35%陽性であったのに対し、絨毛癌患者では0%であった。
- 3) MMC処理夫リンパ球で、患者とHLAの同一の兄を免疫感作して得られたTリンパ球を、患者へ養子移入することによって再発を防止し得た。
- 4) 絨毛癌培養細胞株、SMT-cclを樹立した。
- 5) 自家絨毛癌細胞、SMT-cclで特異的に刺激誘導された患者Tリンパ球の細胞傷害能は、夫リンパ球でも同じように誘導された。従って、SMT-ccl細胞とその夫リンパ球に共通抗原決定基が存在することが示唆された。

以上のことから夫リンパ球を用いた絨毛癌の特異的免疫療法の有効性が証明され、その臨床応用の基礎と可能性が明らかにされた。

これらの結果に対し次のような質問が出され、申請者は的確な応答をすることが出来た。

- ①この免疫療法の理論的根拠は。
- ②絨毛癌細胞のescape mechanismsについて。
- ③Toleranceについて。
- ④担癌生体は免疫学的にどのような状態になっているか。
- ⑤夫リンパ球を免疫するルートとして皮内、腹腔内より静脈内投与の方がよいのではないか。
- ⑥夫リンパ球で免疫を誘導すると3つの抗原に対して免疫が成立すると考えられるが、その3抗原とは何か。
- ⑦SMT-ccl細胞の染色体について。
- ⑧絨毛癌は同族結婚者に多いか、また、患者に抗精子抗体が検出できるか。

さらに問題点として、絨毛癌細胞にはY染色体が欠損している場合が多いこと、絨毛癌は最近激減し、県下で年に2例程度しか発生しないので例数を追加出来ない等が討議された。

以上の審査の結果、本審査委員会では全員一致でこの研究が学位授与にふさわしいものと判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉田	孝人			
	副査	教授	市山	新	副査	教授	川島吉良
	副査	教授	山下	昭	副査	助教授	瀧川雅浩