

氏 名	李 利
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2053 号
学位授与の日付	平成 10 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Modification of antitumor immunity by cyclophosphamide given after active specific immunization (能動免疫後投与されたサイクロフォスファミドによる抗腫瘍免疫の修飾) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 湊 長 博 教 授 日 合 弘 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

「目的」

癌治療における免疫療法と化学療法の指摘の組み合わせとその効果における抗癌効果の解析を目的とし、腫瘍特異的能動免疫により誘導される抗腫瘍免疫に対するサイクロフォスファミドの効果の評価を行い、これによりもたらされる抗腫瘍免疫におけるエフェクターの解析とその変遷の追求を行った。

「方法」

BALB/cマウスと同系plasmacytomaMOPC104Eを用いた。腫瘍接種12, 9, 6日前(それぞれday-12, day-9, day-6とする)にIL-1 (1 μ g/mouse) と 2×10^7 /mlのMOPC104Eを超音波破碎し、15000Gで90分間高速遠沈して得られた上清(sonic-atedsupernatant; SS)をマウス腹腔に投与し、能動免疫(activspecific immunization; ASI)とした。この前後(day-15 または day-3)にcyclophosphamide (CPA; 100mg/kg)を腹腔内投与した。Day 0にMOPC104Eを 1×10^5 腹腔内接種し、マウスの生存を観察するとともに脾細胞から単核球を分離し、抗腫瘍免疫を示すエフェクターの解析を行った。

「結果及び考察」

能動免疫単独にて対照群と比べ有意の生存延長 ($p < 0.01$) を認めた。この生存延長はCPAをday-3に投与することにより更に有意 ($p < 0.05$) に増強した。この一方でCPAをASI前に投与すると、ASI単独による生存延長が消失した。day 0におけるマウス脾細胞はASI単独、あるいはASI-CPA群でCD 4 陽性細胞の比率が高く、これらの細胞はin vivoでASI-CPA群でより強い腫瘍中和能を示した。しかしながら、あらかじめ抗CD 4 抗体と補体で処理することによりCD 4 陽性細胞を取り除くと中和能を失った。

これらのday 0 脾細胞はIL-2で培養しても細胞障害活性を示さなかったが、CD 4 陽性細胞はmedium内で培養すると、対照群の脾細胞に比べより多くのinterferon-gamma, IL-2 (Helper type 1; Th 1 から産生) を産生し、逆に少量のIL-4 (helpertype 2; Th 2 から産生) を産生した。以上から能動免疫後に CPAを投与するとCD4細胞をTh 1 優位にすることから抗腫瘍免疫を増強すると考えられた。

一方諸家の論文では抗腫瘍に働くエフェクターはCD 8 陽性のキラー細胞であるとの報告が多い。そこで、時間の経過とともにエフェクターは変化するとの仮説に基づきさらに以下の検討が行われた。day 0 のCD 4 細胞の培養上清は、CD 8 細胞を強く増殖させる効果を有し、さらに腫瘍接種6日後のCD 4 細胞はin vitroでMOPC-104EからのSSに強く反応したが、コントロールとして用いた他の腫瘍由来のSSには全く反応をみせなかった。ASI-CPA群のday 6 の脾細胞の中和能をみると、抗CD 4 抗体と補体、抗CD 8 抗体と補体で処理したものの両者の腫瘍中和能が失われた。

以上から、能動免疫に続くCPAの有効性が明らかであり、この効果に伴うエフェクターは当初はTh 1 CD4細胞であるが、

時間の経過と共にエフェクターの変遷があるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

癌治療における免疫療法と化学療法の指摘の組み合わせとその効果における抗癌効果の解析を目的とした。

BALB/cマウスと同系plasmacytomaMOPC104Eを用いた。腫瘍接種前にIL-1とMOPC104Eを超音波破碎して得られた上清(SS)をマウス腹腔に投与し、能動免疫(ASI)とした。この前後にcyclophosphamide(CPA)を腹腔内投与した(n=15)。

能動免疫単独にて対照群と比べ有意の生存延長を認め：(平均生存期間control 24 days vs ASI 46 day $sp < 0.01$)、CPAをASI後に投与することにより更に有意に増強した(平均生存期間62 days, $p < 0.05$)。腫瘍接種時におけるエフェクターリンパ球はCD4細胞であり、サイトカイン産生パターンからCD4細胞をヘルパータイプ1(Th1)優位にする：IFN- γ はASI 633 $\pm$ 11pg/ml vs ASI-CPA 961 $\pm$ 100 ($p < 0.01$)、IL-4はASI 1380 $\pm$ 85pg/ml vs ASI-CPA 1061 $\pm$ 58 ($p < 0.01$)、IL-2はASI 91 $\pm$ 16U/ml vs ASI-CPA 268 $\pm$ 40 ($p < 0.01$)ことから抗腫瘍免疫を増強することが明らかとなった。しかしながら、6日後の脾細胞の中和能をみると、腫瘍中和能を示すにはCD4とCD8の両者が必要と考えられた。

以上から、能動免疫に続くCPAの有効性が明らかであり、この効果に伴うエフェクターは当初はTh1 CD4細胞であるが、時間の経過と共にエフェクターの変遷があるものと考えられる。

以上の研究は抗癌剤による癌免疫への影響の解明に貢献し、癌治療研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成10年9月11日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。