

【194】

氏 名 (本籍)	おい かわ たけ ひろ 及 川 剛 宏 (岩 手 県)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 3454 号		
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	医学研究科		
学 位 論 文 題 目	Induction of potent antitumour natural-killer cells from peripheral blood of patients with advanced prostate cancer (進行前立腺癌患者末梢血からの抗腫瘍ナチュラルキラー細胞の誘導)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	長 澤 俊 郎
副 査	筑波大学教授	医学博士	澁 谷 彰
副 査	筑波大学教授	医学博士	吉 川 裕 之
副 査	筑波大学講師	医学博士	大 前 比呂思

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

進行前立腺癌，特に内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌の予後は不良であり，現在のところ確立された有効な治療法はない。近年，前立腺癌では癌細胞や癌組織における主要組織適合（MHC）分子の欠損が高率に認められることが報告され，腫瘍細胞を特異的に認識して破壊するキラーリンパ球を体外で選択的に増殖，活性化して用いる細胞療法が注目されている。抗腫瘍エフェクター細胞のうち，ナチュラルキラー（NK）細胞は MHC 分子を欠損した細胞を認識して破壊することが知られており，高い活性を有する NK 細胞を選択的に誘導することができれば，前立腺癌に対する有効な細胞療法を開発できる可能性がある。本研究では免疫抑制状態にあるとされる進行前立腺癌患者の末梢血から，抗腫瘍活性を有する NK 細胞の誘導の可能性を検討することを目的とした。

(対象と方法)

骨転移を有する内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌 4 例と転移のない 6 例の計 10 例の前立腺癌患者を対象とした。活性化 NK 細胞の誘導には，刺激細胞として既に我々のグループが報告した HFWT 細胞（ウィルムス腫瘍細胞株）を用いた。患者の末梢血 20ml から分離した単核球分画（PBMC）と，あらかじめ放射線処理した HFWT 細胞を，インターロイキン-2（IL-2）200U/ml と 5% 自己血清を含む培地で 2 週間共培養した。増殖したリンパ球数を計測し，リンパ球の表面マーカーをフローサイトメトリーにて解析した。また，得られたリンパ球のヒト前立腺癌細胞株に対する傷害活性をクロム遊離法及びクリスタルバイオレット染色法により測定した。対照として，HFWT 細胞を用いずに同様の条件でリンパ球を誘導培養し，比較検討した。

(結果)

HFWT 細胞との共培養により，20 から 130 倍（平均 53 倍）のリンパ球増殖が得られ，活性化 NK 細胞のマーカーである CD16⁺CD56⁺の割合は平均 86.3%であった。一方，HFWT 細胞を用いずに誘導した場合のリンパ球増殖は 4 から 70 倍（平均 34 倍），CD16⁺CD56⁺の割合は平均 47.6%であり，HFWT 細胞を用いることによって統計学的有意に高率に NK 細胞が誘導された。ヒト前立腺癌細胞株である PC-3 及び LNCaP

に対する傷害活性は、HFWT細胞との共培養により得られたNK細胞において高く、HFWT細胞を用いずに誘導したリンパ球と比較して、エフェクター/ターゲット比(E/T比)4及び8で統計学的有意差を認めた。前立腺癌患者10例全例において、HFWT細胞を用いることにより活性化NK細胞の誘導が可能であり、骨転移を有する進行症例と転移のない症例の間にNK細胞の誘導能に差は認められなかった。またHFWT細胞を用いた場合、前立腺癌患者と健常人との比較においてもNK細胞の誘導能に明らかな差は見られなかった。

(考察)

近年、腫瘍免疫学や分子生物学の発展により、特に腫瘍特異的な抗原を用いた免疫治療や細胞療法の開発が進んでいる。本論文では、活性化NK細胞による細胞療法の開発を目指し、進行前立腺癌患者からのNK細胞誘導について検討を行った。活性化NK細胞の誘導にあたっては、刺激細胞として既に我々のグループが報告したHFWT細胞を用いることにより、全例で活性化NK細胞を選択的に誘導できることが示された。一般に進行癌患者は免疫抑制状態にあり、前立腺癌においても転移を有する症例ではNK活性の低下が報告されている。本論文では骨転移を有する内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌患者、特に前治療としてステロイド剤や抗癌剤が用いられていた症例からも活性化NK細胞が誘導可能であったことを示しており、臨床応用を目指すうえで意義深いと考えられる。またこの活性化NK細胞は、MHC class I分子を強発現し、いわゆるLAK細胞に抵抗性を示す前立腺癌細胞株であるPC-3に対しても高い傷害活性を示した。HFWT細胞による活性化NK細胞誘導の分子生物学的メカニズムや、allogeneicシステムにおけるNKの細胞傷害メカニズムについては現時点では明らかにされていないが、今後の更なる検討により、本法を用いた前立腺癌に対する有効な細胞療法の開発の可能性を示唆している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は進行前立腺癌患者の末梢血から、抗腫瘍活性を有するNK細胞の誘導の可能性を検討することを目的とし、前立腺癌患者10例全例において高い活性を有するNK細胞を誘導した。これらの結果は進行前立腺癌患者であっても活性化NK細胞の選択的誘導培養が可能であることを示唆するデータであるが、本法により得られる活性化NK細胞を用いた細胞療法が、進行前立腺癌に対する有効な治療法となりうるかどうかについては、今後の更なる検討が必要ではあるが、将来性のある研究と評価した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。