

氏名(本籍)	いけだ のりこ (北海道)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第1,330号		
学位授与年月日	平成9年11月30日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	BCGの膀胱癌に対する抗腫瘍効果のメカニズム －膀胱癌は antigen presenting cell (APC) として機能するか?－		
主査	筑波大学教授	医学博士	大塚 藤 男
副査	筑波大学教授	医学博士	杉 下 靖 郎
副査	筑波大学教授	医学博士	中 内 啓 光
副査	筑波大学教授	医学博士	三 輪 正 直
副査	筑波大学客員助教授	薬学博士	四 釜 久 隆
	(山之内製薬筑波研究センター)		

論文の内容の要旨

(目的)

表在性膀胱癌に対する BCG (Bacillus Calmette-Guerin) の注入療法の有効性は多くの臨床試験によって既に確認されている。同注入療法は表在性膀胱癌の経尿道的切除後の再発予防および膀胱上皮内癌の標準的あるいは第一選択治療法であるのみならず、現存する表在性膀胱癌自体にも高い治療効果が報告されている。BCG の抗腫瘍効果は免疫学的機序、特に局所の免疫反応を介すると考えられている。しかしながら、現在のところその詳細は全く不明と言ってよい。

本研究では、BCG の抗腫瘍作用発現の初期段階、即ち、抗原の性状や抗原提示細胞やエフェクター細胞の本態や関連についての解明を試みた。

(材料と方法)

マウス膀胱癌細胞と種々の BCG (生菌、凍結乾燥製品、加熱死菌) をスライドグラス上で培養後、Ziehl-Nielsen 染色して、膀胱癌細胞への BCG の接着をみた。液体培地で生菌と凍結乾燥 BCG の増殖速度を分光光度計により測定した。さらに BCG と膀胱癌細胞をマウス腹壁に混合移植して抗腫瘍効果を検討した。

マウス膀胱癌細胞を BCG 添加してチャンバースライド上で培養後、光学顕微鏡、透過型電子顕微鏡を用いて BCG が腫瘍細胞に取り込まれているか否かを検討した。さらに BCG 添加腫瘍細胞とその培養上清を小川培地に接種・培養して腫瘍細胞内で BCG が生存しているか否かをみた。

BCG を取り込んだ膀胱癌細胞が抗原提示能を有するか否かを検討した。まず、BCG を取り込んだマウスおよびヒト膀胱癌細胞の MHC class II 抗原や ICAM-1 発現を flow cytometry で分析した。次いで BCG を取り込んだ膀胱癌細胞が同細胞で感作したリンパ球と BCG 感作リンパ球の IL-2, IFN- γ 産生を誘導するか否かを検討した。膀胱癌感作リンパ球は同細胞マウス腹壁皮内に注射 6 週後の所属リンパ節細胞から調整した。これらの細胞を co-culture した培養上清を ELISA 法を用いて両サイトカインを測定した。

(結果および考察)

BCG の膀胱癌細胞への接着は生菌で高率 (48 時間後に 72%) で、凍結乾燥 BCG では低下し、加熱死菌では著

しく低かった。腫瘍増殖抑制効果は生菌 BCG で最も強く、BCG の抗腫瘍効果はその腫瘍細胞との接着に関連することが示唆された。

透過型電子顕微鏡の観察により BCG は腫瘍細胞の中に取り込まれ、phagosome 内に局在することが判明した。培養腫瘍細胞内の BCG は小川培地でコロニーを形成した。培養日数が増すにつれコロニー形成能は低下したが、培養40日を経過しても同形成能を有していた。腫瘍細胞に取り込まれた BCG が比較的長期間生存していることが確認できた。

膀胱癌細胞は BCG を取り込むと MHC class II と ICAM-1 発現が増強した。INF- γ や TNF- α を添加するとこの発現はさらに増強した。膀胱癌細胞に BCG を加えて培養した上清には INF- γ や TNF- α は検出されなかった。BCG を取り込んだ膀胱癌細胞は同細胞で感作したリンパ球や BCG 感作リンパ球と培養した場合にのみ IL-2, INF- γ 産生を誘導した。BCG 感作リンパ球の代わりにヒツジ赤血球感作リンパ球を用いるとこの誘導現象は起こらず、抗原特異性があった。また、膀胱癌細胞上の MHC class II 抗原を抗体でブロックしてもこの現象は起こらなかった。これらの結果は BCG を取り込んだ膀胱癌細胞が抗原提示細胞として機能することを示唆している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は BCG 膀胱内注入療法の抗腫瘍効果発現機序に関する一連の研究をまとめたものである。まず、生菌 BCG は添加されると膀胱癌細胞に接着し、次いで細胞内に取り込まれ、その一部は膀胱癌細胞内で比較的長時間生存していることを見いだした。一方、BCG を取り込んだ膀胱癌細胞は MHC class II 抗原と ICAM-1 を発現するが、これは生菌 BCG によってのみ起こること、INF- γ や TNF- α を介する作用ではないことを明らかにした。さらに BCG を取り込んだ膀胱癌細胞は BCG 特異感作リンパ球の IL-2, INF- γ 産生を誘導することを見だし、同細胞が BCG 抗原を感作リンパ球に提示する能力を有する可能性を示唆している。BCG を取り込んだ膀胱癌細胞における抗原提示能については抗原提示をする際の情報伝達機構が作動しているか、提示能がどの程度の役割を果たしているかなど、今後の研究に待たねばならない点も多いが、本研究は膀胱癌細胞と BCG の接着の重要性、並びに BCG を取り込んだ膀胱癌細胞が抗原提示機能を有する可能性を示唆するなど、BCG の抗腫瘍効果の機序の一部を説明する成果を得た点で評価できる。

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。