

氏名(本籍)	しら いわ ひろ し (東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第1135号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	抗腫瘍モノクローナル抗体による新しい Targeting 法の研究
主査	筑波大学教授 医学博士 福 富 久 之
副査	萬有製薬株式会社つくば研究所所長 (筑波大学客員教授) 理学博士 西 村 暹
副査	筑波大学教授 医学博士 林 英 生
副査	筑波大学教授 医学博士 三 輪 正 直
副査	筑波大学助教授 医学博士 藤 井 敬 二

論 文 の 要 旨

〈目的〉

本研究の目的は、進行性腎細胞癌の有効な治療法を開発するために、養子免疫療法の一つの方法として、新しい effector 細胞を開発する基礎的な実験を行うことである。effector 細胞と癌細胞との間の特異的相互認識性と接着性を増強させる目的で、細胞表面に化学的に抗腫瘍モノクローナル抗体を結合させ、その effector 細胞の細胞障害活性を胃腺癌および腎細胞癌の培養系で検討した。

〈方法〉

effector 細胞の表面に biotin-avidin 法による抗腫瘍モノクローナル抗体を結合させた。effector 細胞として、lymphokine-activated killer (LAK) 細胞および CD3 activated Tlymphocyte (CD3-AT 細胞) を使用した。抗体を結合させたものをそれぞれ MAC-LAK 細胞, MAC-CD3-AT 細胞と (monoclonal antibody-conjugated) した。胃腺癌の系に使用した抗腫瘍モノクローナル抗体は、2-70抗体 (mouse IgM) で、腎細胞癌の系では K2.7抗体 (mouse IgG3) を使用した。胃腺癌の系に使用した腫瘍細胞は、2-70抗体と反応する胃腺癌由来の MKN28細胞と MKN45細胞である。コントロールとしては、2-70抗体と反応しない Burkitt lymphoma 由来の Daudi 細胞を用いた。腎細胞癌の系では K2.7抗体と反応する腎細胞癌由来の樹立細胞株である KT93A細胞を供した。腎細胞癌の系では、effector 細胞として、患者の自己由来の effector 細胞を用いた。細胞障害活性の測定は18時間クロム遊離試験法を用いた。

〈結果〉

胃腺癌の系の検討：抗腫瘍モノクローナル抗体と LAK 細胞の結合のステップで、実験段階では $86.2 \pm 9.2\%$ の細胞が回収され、細胞の生存率は 98% 以上であり、回収細胞の 95% 以上に抗体が結合していた。抗体結合後、細胞増殖率などの生理的活性には有意な差は認められなかった。細胞障害活性は、LAK 細胞と Daudi 細胞の間では、細胞障害活性の増強は認められなかったが、MAC-LAK 細胞と MKN28細胞および MKN45細胞の場合、細胞障害活性の有意な ($p < 0.01$) 増強が認められた。MAC-CD3-AT 細胞と Daudi 細胞の場合、細胞障害活性の増強は認められなかったが、MKN45 細胞の場合、細胞障害活性の有意な ($p < 0.01$) 増強が認められた。この細胞障害活性は、非標識細胞を過量に加える抑制試験で cold target として MKN45細胞を加えたときにのみ有意に ($p < 0.01$) 抑制された。

腎細胞癌の系の検討：KT93A細胞に対する細胞障害活性は、コントロールとしての LAK 細胞単独の場合と、Biotin 化した LAK 細胞の間には、有意な細胞障害活性の差は認められなかった。しかし LAK 細胞に K2.7抗体を混合して加えた場合、細胞障害活性は有意に ($p < 0.01$) 増強された。このことは、K2.7抗体が、LAK 細胞に対して、antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity 活性を持つことを示している。MAC-LAK 細胞は、LAK 細胞に K2.7抗体を混合した場合と同程度までの細胞障害活性の増強を認めた。LAK 細胞の細胞障害活性と、MAC-LAK 細胞の細胞障害活性の間には、統計学的に有意な差を認めた ($p < 0.01$)。MAC-CD3-AT 細胞の場合も、同様の結果を得た。

〈考察〉

筆者等の開発した方法で、細胞障害活性の有意な増強を見た。この方法は、単純な操作で、しかも細胞の生存率、増殖率をあまり変化させないで生細胞表面に他の分子を結合することが可能であると考えられ、他の細胞接着分子などの機能性蛋白分子を細胞膜上に導入する方法として応用できると考えられる。

審 査 の 要 旨

本研究では進行性腎細胞癌の治療法としての養子免疫療法の効果の改善をねらった基礎的な研究である。effector 細胞として LAK 細胞、CD3-AT 細胞を用いその表面に抗腫瘍モノクローナル抗体を結合させ癌細胞に対する障害活性の増強を検討し、その機序と有効性を考察したものである。

抗腫瘍モノクローナル抗体を effector 細胞に 90% 結合させることが出来たこと、また結合させた effector 細胞の生存率、増殖率に大きな影響を与えないことを立証し、さらにこれらの effector 細胞は癌細胞の障害を増強することを確認している。しかし実際の臨床応用に関しては、異種蛋白である avidin および抗腫瘍モノクローナル抗体がアナフィラキシーを生ずる懸念があり、応用にはなお幾多の問題点の解決が必要である。しかし基礎的にその可能性を示唆した点で本研究の意義は大きいと考えられる。

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。