

氏 名(本 籍)	鈴 木 学 (東京 都)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 914 号
学位授与年月日	平成 5 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	抗腫瘍エフェクターの IL-2 応答性獲得機構 —IL-2 と相乗的に働くセカンドシグナルの重要性—
主 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 阿 部 帥
副 査	筑波大学教授 医学博士 柏 木 平八郎
副 査	筑波大学教授 医学博士 河 野 邦 雄
副 査	筑波大学教授 医学博士 小 山 哲 夫

論 文 の 要 旨

〈目的〉

癌の免疫療法では癌細胞を直接障害する抗腫瘍エフェクターを誘導し機能させるために、これまで抗腫瘍エフェクター細胞を活性化させるインターロイキン-2 (Interleikin-2, IL-2) のようなリンフォカインの機能のみが重要視されてきた。しかし抗腫瘍作用を増強させるためにはその担当細胞を分化誘導させることも必要である。IL-2 (ファーストシグナルとする) のような活性化因子を産生する細胞の分化を促進し、IL-2 受容細胞の感受性を高めるような因子 (セカンドシグナルとする) が共存すれば抗腫瘍効果は増強するはずである。本研究では IL-2 と共同的 (相乗的) に作用し、抗腫瘍エフェクター細胞を効率的に誘導するセカンドシグナルの存在を証明し、その性状と機能を解析し、マウスの実験癌において IL-2 とレンチナン (Lentinan, 椎茸の多糖体) の併用効果について解析した。

〈材料および方法〉

マウスは C3H/HeN, DBA/2 系を、細胞株はマウス由来の p815, EL4, P388D1, KS 細胞, ヒト由来の HL-60, THP-1, KAF (+) を供試した。アクセサリー細胞と T 細胞系とはナイロンカラムにより分離した。

インターロイキン (IL-2, IL-1, IL-6 など) の活性の測定は、基本的にリンパ球混合培養法により、それぞれに感受性のあるマウス細胞株の ^3H -TdR の取込によった。細胞障害活性 (T 細胞分化増強因子活性, 細胞障害 T リンパ球活性など) は、同じく混合培養法を利用した ^{51}Cr 標識細胞から遊離す

る ^{51}Cr を測定して、対象群との比率で求めた。細胞活性の不活化は UV または X 線照射によった。T 細胞分化増強因子 (T Cell Differentiation Potentiating Factor, TCDPF) の精製は陰イオン交換クロマトグラフィー、逆相 HPLC で、分子量はゲル濾過カラム法、等電点はクロマトフォーカシングによって測定した。IL-2 の結合解析は、 ^{125}I 標識 IL-2 を用いた。各種細胞表面抗原の相異による細胞分画は FACStar によった。マウスにおける抗腫瘍効果の判定は腫瘍サイズの測定と生存日数の比較によった。レンチナンはしいたけより抽出精製して供した。

〈結果および考察〉

1. マウスの腸管膜リンパ筋細胞からアクセサリー細胞（主として単球系）を除去した場合、アロ細胞障害性 T リンパ球 (Cytotoxic T Lymphocytes, CTL) は誘導されず、IL-2 を添加しても細胞障害活性は見られない。しかしこれに、マクロファージ系細胞の培養上清を添加すると活性は回復する。この上清画分に含まれる活性因子は分子量約 4 万 5 千と 2 万、等電点約 7.0 の蛋白分子で T 細胞分化増強因子 (T Cell Differentiation Potentiating Factor, TCDPF) と名付けた。この分子の機能は IL-6 と類似して CTL 前駆細胞に作用し IL-2 受容体の発現を誘導し、IL-2 と共同して CTL への分化を促進するが、その作用は抗 IL-6 抗体では中和されないで IL-6 とは異なる分子である。
2. TCDPF がリンフォカイン活性化キラー (Lymphokine Activated Killer, LAK) 細胞の誘導および活性化に関与するか否かについて、マウス腸管膜リンパ節細胞および脾臓細胞を供して検討した。LAK 細胞は、IL-2 により誘導活性化されるが、TCDPF を共存させると LAK 細胞の IL-2 に対する応答性が増強された (IL-2 が最大活性を示すよりも少ない量で最大活性値に達する)。IL-6 にはこの増強作用はなかった。
3. レンチナンはアクセサリー細胞に作用し、IL-6 の産生を促進し、それが CTL 前駆細胞と LAK 細胞に作用し、IL-2 に対する応答性を高めていることがわかった。レンチナンはアクセサリー細胞に作用し、IL-6 (おそらくは TCDPF も同じく) などのセカンドシグナルの産生を刺激し、IL-2 の応答性を高め、抗腫瘍効果を発揮すると推察された。
4. マウスの実験腫瘍において、レンチナンと IL-2 併用による抗腫瘍効果をしらべた。レンチナンあるいは IL-2 単独処理では抗腫瘍効果が弱いですが、レンチナンと IL-2 を併用すると、担癌個体の腫瘍特異的 CTL 活性が相乗的に増強され、腫瘍の縮小ないし完全消失、あるいは延命効果が観察された。抗腫瘍エフェクターをより効率的に誘導・活性化するためには、アクセサリー細胞より産生される TCDPF や IL-6 が必要であることが判明した。TCDPF や精製出来ていないためその性状、物性、細胞分子レベルでの作用機序などについては今後鋭意検討しなければならない。本研究は抗腫瘍エフェクターを高めるために、エフェクターの活性を高める IL-2 のみならず IL-2 の作用を増強する因子—IL-2 受容体の発現誘導・前駆 CTL 細胞の分化促進—の存在が不可欠であることを実験的に証明した。

審 査 の 要 旨

本研究は宿主の抗腫瘍免疫力を高めるためには、腫瘍細胞に直接作用するエフェクター活性を高める IL-2（ファーストシグナルと命名）のみならず、IL-2の作用を増強させる因子、すなわち IL-2受容体の発現誘導や前駆 CTL 細胞の分化を促進させるような因子（セカンドシグナルと命名）の存在が不可欠であることを示し、その一員として T 細胞分化増強因子（T Cell Differentiation Potentiating Factor, TCDPF）を発見している。またマウス実験腫瘍系において、レンチナンの抗腫瘍効果が免疫担当細胞間の相互作用の増強にあることを明らかにした。

セカンドシグナルという言葉の定義が不明瞭で、一般的に認知された用語とはいえないが、アクセサリー細胞（主として単球系）から産生分泌される TCDPF の発見と、その機能を解析している点は有意義であり高く評価できる。これに関連してレンチナンの抗腫瘍効果は免疫担当細胞間の相互作用の増強であるとした点もオリジナリティーのある発見であり、実用化が期待できる。作業仮説、実験手技、実験結果の解釈など論文としても質の高いものである。

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。