

氏名(本籍)	矢 <sup>や</sup> 澤 <sup>ざわ</sup> 卓 <sup>たく</sup> 也 <sup>や</sup> (茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第1,193号		
学位授与年月日	平成8年3月25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	癌細胞における MHC class II 抗原の発現機序と意義に関する研究		
主査	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	柏木平八郎
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	深尾立
副査	筑波大学教授	医学博士	三輪正直

## 論文の要旨

### (背景と目的)

免疫反応は、主要組織適合抗原(MHC)を介して提示される抗原を免疫担当細胞が認識することから始まる。近年 MHC 分子の立体構造が確認され、細胞が MHC 分子を介し、その分子内に存在する溝に抗原ペプチドをはめ込むようにして免疫担当細胞に抗原提示を行うことが明らかとなった。MHC class II 抗原はマクロファージ等の professional antigenpresenting cells (PAPC) に主として発現していることから、腫瘍免疫を論ずる場合、その抗原認識相は PAPC の発現する MHC class II 抗原に担われていると考えられていた。しかし最近、自己免疫疾患においてその標的細胞である non-PAPC にも抗原提示機能があることが明らかとなりつつあり、また癌細胞に MHC class II 抗原の発現がありうることも報告されている。

本研究では、癌細胞における MHC class II 抗原の発現機序とその意義を明らかにすることを目的とした。即ち、1) ヒト癌細胞での MHC class II 抗原の発現と腫瘍組織内リンパ球浸潤との関連性を明らかにすること、2) 癌細胞において MHC class II 抗原が発現あるいは3) 欠如する機序を解明すること、4) 癌細胞において発現している MHC class II 分子が抗原ペプチドと結合した状態であるかどうかを明らかにすることを目的として、*in vivo*, *in vitro* の両面から検討した。

### (材料および方法)

(1)ヒト癌細胞の MHC class II 抗原の発現と腫瘍組織内リンパ球浸潤との関連性をみるために、乳癌、進行肺癌、早期肺癌を対象として、MHC class II 抗原である HLA-DR 抗原およびリンパ球の各標識抗原を用いて免疫組織化学的に検討した。

(2)ヒト癌細胞の MHC class II 抗原の自発的発現の有無と interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) による誘導発現の差異を明らかにするため、肺癌各組織型由来培養細胞を対象として、免疫細胞化学的、および HLA-DR  $\alpha$  特異的プライマーによる RT-PCR と Northern 法を用いた分子病理学的検討を行った。

(3)ヒト肺小細胞癌細胞の MHC class II 抗原の欠如と IFN- $\gamma$  に対する低反応性の原因を追求するために、HLA-DR  $\alpha$  プロモーターの異常と MHC class II 抗原特異的転写因子群：XBP-1, XBP-2, NF-X 1, NF-YA,

HF-YB, YB-1, CIITA 及び IFN- $\gamma$  レセプター ( $\alpha$  鎖, AF-1) の発現の有無について, cycle sequence 法, RT-PCR 法を用いて分子病理学的に検討した。

(4)高度なリンパ球浸潤を伴うことが特徴である髄様癌を含む乳癌培養細胞の樹立を試み, 新たに樹立された乳癌培養細胞を用いた実験系において癌細胞の MHC class II 抗原発現性を検討するとともに, Western 法にて乳癌に発現される MHC class II 分子がオリゴペプチドを結合した状態にあるか否かを検討した。

#### (結果)

(1)乳癌においても肺癌においても癌細胞に HLA-DR 抗原の発現している症例があり, 腫瘍組織内リンパ球浸潤の程度と癌細胞の HLA-DR 抗原の発現との間に密接な関連性が認められた。特に, 乳腺髄様癌では細胞膜上への HLA-DR 抗原の発現および腫瘍組織内リンパ球浸潤が著明であり, 癌細胞への HLA-DR 抗原の発現の有無が予後と相関した。一方, 肺小細胞癌ではリンパ球浸潤と HLA-DR 抗原の発現の両者が欠如していた。

(2)肺癌培養細胞を用いた検討により, 非小細胞癌細胞では HLA-DR 抗原が少量ながら自発的に発現されており, IFN- $\gamma$  により速やかに HLA-DR 抗原の発現が誘導増幅されるのに対し, 小細胞癌細胞ではその殆どの株に自発的発現がなく, IFN- $\gamma$  による誘導も極めて起こりにくいことが明らかとなった。

(3)小細胞癌細胞の MHC class II 抗原の欠如と IFN- $\gamma$  に対する低反応性の原因を追求した結果, 小細胞癌細胞には MHC class II 抗原の発現に関わる転写活性化因子で, その変異が先天性重症混合型免疫不全症の原因の一つとして報告されている MHC class II transactivator (CIITA) の発現を欠如するものや, IFN- $\gamma$  受容体補助因子の発現を欠如するものが存在していた。

(4)髄様癌細胞培養中に, 混在するリンパ球が癌細胞に多数接着している像が得られた。さらに, 腫瘍内に高度のリンパ球浸潤を伴っていた症例から樹立した乳癌細胞は, リンパ球浸潤の弱かった症例から樹立した乳癌細胞に比して IFN- $\gamma$  による MHC class II 抗原の誘導が顕著であり, また樹立した乳癌細胞には抗原ペプチドを結合した MHC class II  $\alpha\beta$  分子 (compact MHC class II  $\alpha\beta$  分子) の発現があることが明らかとなった。

#### (結論及び考察)

癌細胞も, マクロファージ等の抗原提示細胞と同様, MHC class II 抗原の発現能を有していた。MHC class II 抗原の発現能は癌細胞の種類によって異なり, 乳腺髄様癌の如く発現の強いものから肺小細胞癌の如くその発現を欠如しているものまで存在していた。肺小細胞癌において MHC class II 抗原の発現が欠如している原因が, CIITA という MHC class II 抗原の発現に関わる転写調節因子の発現欠如によることが明らかとなった。また, 癌細胞に存在する MHC class II 分子も抗原ペプチドを結合した状態で発現されていることから, 免疫担当細胞への抗原提示が可能であると考えられた。今後は肺小細胞癌における CIITA の発現欠如の原因を追求するとともに, 癌細胞に MHC class II 分子を介して提示される抗原ペプチドの解析を進め, 癌特異的かつ有効な抗腫瘍免疫反応の解明に向けての検討が必要と考えられる。

## 審 査 の 要 旨

腫瘍に対する宿主の免疫応答に関してこれまでに多数の研究がなされてはいるものの, 腫瘍抗原そのものを明らかにできた例は極めて限られている。本論文で著者は最初にクラス II 主要組織適合抗原 (MHC) の発現と腫瘍組織内リンパ球浸潤および患者の予後に有意な相関があることを明らかにした。続いて, 著者は各種癌細胞におけるクラス II MHC 分子発現制御機構を分子生物学的な手法により解析し, 肺小細胞癌のクラス II 分子の発現欠如の原因が転写因子または IFN- $\gamma$  受容体補助因子の発現異常によるものであることを初めて明らかにした。さらに免疫化学的な手法により腫瘍細胞が発現しているクラス II MHC 分子が抗原ペプチドと結合していること

を示した。これらの所見は必ずしも腫瘍特異抗原の存在を直接証明するものではないが、すくなくとも一部の腫瘍において、腫瘍とそれに対する免疫応答の存在を強く示唆しており、今後のさらなる研究の展開が大いに期待される。また、クラス II MHC 分子の発現異常の分子機構の解明は発癌機構とも関連して興味深く、新たな研究の先鞭をつけたものとして評価したい。

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。