

| | |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 金 哲 将 (韓 国) |
| 学位の種類 | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 博士第184号 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 学位授与年月日 | 平成7年3月23日 |
| 学位論文題目 | ショープ乳頭腫・癌腫系における腫瘍退縮の研究 1. Varied expression of major histocompatibility complex and oncogenes in Shope carcinoma cell lines derived from a single tumor. (単一腫瘍由来のショープ扁平上皮癌細胞亜株でみられた主要組織適合遺伝子複合体と癌遺伝子の多様な発現) 2. Expression of T-cell receptor gamma/delta chain genes in a rabbit killer T-cell line. (ウサギキラー細胞におけるT細胞受容体 γ / δ 鎖遺伝子の発現) 3. Variable-region sequences for T-cell receptor- γ and δ chains of rabbit killer cell lines against Shope carcinoma cells. (ショープ癌細胞に対するウサギキラー細胞株のT細胞受容体 γ / δ T細胞受容体可変領域遺伝子の塩基配列) |
| | 審 査 委 員 主査 教授 服 部 隆 則 副査 教授 瀬 戸 昭 副査 教授 友 吉 唯 夫 |

論 文 内 容 要 旨

[目 的]

雑系家兔に誘発されたショープ乳頭腫は、その約1/3が自然消退し、残りはしばしば悪性化して扁平上皮癌 (SCC) になる。この自然消退には免疫学的機構の関与が示唆されているが、その詳細は明らかではない。本研究は、ショープ乳頭腫・癌腫系モデルにおける腫瘍退縮に、免疫学および分子生物学的検討を加えることを目的とした。

[方 法]

- 1) 細胞株：ショープSCC細胞株としては、B/J系近交系家兔のショープSCCより樹立した細胞株をクローニングし、得られた亜株のうち、造腫瘍活性の異なる4亜株を用いた。キラーT細胞株としては、ショープ乳頭腫/SCCを保持するChbb:HM系近交系家兔末梢血より樹立したHTLV-IトランスフォームキラーT細胞株と、この細胞をクローニングすることにより得られた3亜株を用いた。
- 2) 造腫瘍活性に関連する遺伝子発現の解析：ノーザン分析により、ショープ乳頭腫ウイルス (CRPV) 遺伝子、MHCクラスI・II遺伝子、癌遺伝子 (c-fos、c-myc、c-H-ras) の発現を検討した。さらに、MHCクラスI抗原については、FACS分析、クラスII抗原については、ELISA、FACS分析、免疫細胞化学検査をおこなった。
- 3) T細胞受容体 (TCR) 遺伝子の解析：キラー細胞株について、RT-PCR法とCassette-ligation mediated (CLM) -PCR法によりPCR産物を増幅し、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定

した。また、キラーT細胞株のV領域遺伝子の発現は、RT-PCR法でキラーT細胞株のV領域遺伝子を増幅したのち、PCR産物をサザン分析で検討した。

[結果]

造腫瘍活性の異なるショープSCC細胞株の間で、MHC・癌遺伝子の発現を比較検討したところ、CRPVの発癌遺伝子E6/E7は、すべての細胞株で発現していたが、最も造腫瘍活性の強い細胞株で最も強く発現していた。また、この細胞株では、MHCクラスI抗原の発現が著明に抑制されており、造腫瘍活性との関連が示唆された。MHCクラスII抗原がすべての細胞株で確認されたが、細胞表面には発現しておらず、抗原提示細胞としての機能はないと考えられた。癌遺伝子(c-fos、c-myc、c-H-ras)の発現は、細胞株間で異なっていたが、造腫瘍活性とは、明らかな関連は認められなかった。

ショープSCCに対するポリクローナル・キラー細胞株のTCRを解析した結果、これらの細胞が $\gamma\delta$ T細胞でありV領域遺伝子としてV γ 1.1とV δ 1を優位に発現していることが明らかになった。この細胞株から、HTLV-Iゲノムの挿入パターンを異にする3株のキラーT細胞株をクローニングし、この3株についてV γ とV δ 遺伝子の発現を検討したところ、いずれもV γ 1.1とV δ 1遺伝子を発現し、また、TCRによるエピトープ認識の特異性を規定するV-J結合部の塩基配列についても同一であった。このことから、3株のキラーT細胞株が、いずれも同一リガンドに対するものと考えられた。

[考察]

ショープ乳頭腫の自然消退を考える場合、腫瘍細胞自体の造腫瘍活性の消失とキラー細胞による腫瘍細胞障害作用を考慮する必要がある。今回検討したショープSCC細胞株の1つは、造腫瘍活性が消失していたが、この活性消失と癌遺伝子発現の間には明らかな相関は確認できなかった。一方、造腫瘍活性の最も強い細胞株で、CRPV発癌遺伝子が最も強く発現し、MHCクラスI抗原が著明に抑制されており、造腫瘍活性との関連が示唆された。担癌家兔の末梢血からショープSCCに対する $\gamma\delta$ 型キラーT細胞株が樹立されたことは、ショープSCCに対する抗腫瘍免疫を考える上で興味深い。 $\gamma\delta$ T細胞は、通常皮膚粘膜等に多く分布し、局所における免疫応答に関与していると考えられている。したがって、末梢血中のキラー細胞は、局所で刺激されて増殖したものが末梢血中に流入したのと考えられ、このようなキラー細胞がショープ乳頭腫の自然消退にも関与している可能性が考えられる。キラー細胞株で特定の可変部領域が優位に発現されていることも、ショープSCCの標的エピトープを考えるうえで重要である。

[結語]

- 1) ショープSCC細胞株の中で、造腫瘍活性の最も強い細胞株で、CRPVの発癌遺伝子が最も強く発現し、MHCクラスI抗原が著明に抑制されていたことから、これらの遺伝子発現と造腫瘍活性との関連が示唆された。癌遺伝子(c-fos、c-myc、c-H-ras)の発現とショープSCC細胞株の造腫瘍活性との関連は認められなかった。
- 2) ショープSCC細胞株に対する $\gamma\delta$ 型キラーT細胞株のTCRを解析したところ、それぞれ5つあるV γ /V δ のうち、V γ 1.1/V δ 1を優位に発現し、塩基配列を決定した3株ですべて同一のV-J結合部をもっていた。

学位論文審査の結果の要旨

本研究は、シヨープ乳頭腫・癌腫系における造腫瘍性と退縮現象を免疫学的並びに分子生物学的に検討したものであり、以下の研究成果を得ている。

- 1) 著者は、単一腫瘍由来で造腫瘍活性の異なるシヨープ扁平上皮癌細胞株4株を用い、ヌードマウスに移植後、造腫瘍活性が強いと考えられる細胞の遺伝子の発現をそうでないものと比較検討している。その結果、最も造腫瘍活性の強い細胞株ではシヨープ乳頭腫ウイルスの発癌遺伝子であるE6/E7遺伝子が最も強く発現し、また、主要組織適合遺伝子複合体(MHC)クラスI遺伝子の発現が最も著明に抑制されていた。この結果から、シヨープ扁平上皮癌細胞の造腫瘍活性にはMHCクラスI抗原の抑制が関与し、この抑制にはシヨープ乳頭腫ウイルスの発癌遺伝子が関与していると考えられた。一方、癌遺伝子(c-fos、c-myc、c-H-ras)の発現とシヨープ扁平上皮癌細胞株の造腫瘍活性との間に、相関は認められなかった。
- 2) 担癌家兎の末梢血から樹立されたシヨープ癌細胞特異キラーT細胞株のT細胞受容体を解析した結果、このポリクローナルなキラー細胞がすべて $\gamma\delta$ T細胞であること、特定のV領域遺伝子を優位に発現していることが明らかとなった。またV-J結合部の塩基配列を決定した3つのクローンがすべて同一塩基配列であったことから、担癌家兎の末梢血中には、腫瘍細胞の特定のエピトープを認識するキラー細胞が増加する可能性が考えられた。

以上のように本研究は、シヨープ乳頭腫・癌腫系における腫瘍退縮に、腫瘍細胞のMHCクラスI抗原の発現レベルと $\gamma\delta$ T細胞による細胞傷害作用が重要な役割を演じていることを明らかにした。この研究はヒトのウイルス発がんの予防ならびに治療を考える上で重要であり、博士(医学)の学位の授与に値すると認める。