(19)

氏名(生年月日)　宮園　裕子（ミヤ ゾノ ユウ コ）
本　　籍

学位の種類　博士（医学）
学位授与の番号　乙第1978号
学位授与の日付　平成12年4月21日
学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当（博士の学位論文提出者）
学位論文題目　**Effect of B7.1-transfected human colon cancer cells on the induction of autologous tumor-specific cytotoxic T cells（自己癌特異的細胞障害性T細胞の誘導におけるB7.1遺伝子導入ヒト大腸癌細胞の効果）**
論文審査委員　（主査）教授　林　直諒
（副査）教授　内山　竹彦，相川　英三

論文内容の要旨

〔目的〕

癌細胞が生態の免疫反応系から，攻撃を受けずに増殖する機構のひとつに，抗原特異的細胞障害性T細胞（CTL）の活性化に必要なcostimulatory signalがある．癌細胞にはこれが欠損していると考えられている．私は，B7.1分子の遺伝子をヒト大腸癌細胞癌株に導入し，より効果的なCTLの誘導が可能かどうか検討した．

〔方法〕

ヒト大腸癌細胞株（Cw2）にB7.1遺伝子をelectroporation法にて導入し，Cw2/B7.1を作製した．この癌患者のリンパ球を，Cw2またはCw2/B7.1と共にIL-2（10 U/ml）存在下で5日間培養し，そのキラー活性を^{51}Crでラベルした Cw2をtargetとして測定した．また，誘導されたCTLの特徴を磁気ビーズを用いた方法で検討した．さらに，HLAの異なるヒト大腸癌細胞株MTとORFを標的細胞として用い，誘導されたCTLのキラー活性の特異性を検討した．

〔結果〕

まず持続的にB7.1を表出する細胞（Cw2/B7.1）を作製した．次いでCw2とCw2/B7.1で刺激した細胞は，Cw2で刺激した場合10.2%，Cw2/B7刺激では62.7%であり，後者において有意なキラー活性の上昇を認めた．また，このCTLは，CD8除去することによりそのキラー活性は30.3%から1.3%と著明に低下した．さらに，HLAが異なる他の大腸癌細胞（MTとORF）に対しては殆どキラー活性を示さないことから，Cw2に特異的CTLであることが証明できた．

〔考察〕

ヒト大腸癌細胞株であるCw2を用いてB7.1遺伝子導入細胞を作製した．そのB7.1導入細胞を刺激細胞として用い，効果的に自己癌特異的CD8陽性のCTLを誘導し得た．この誘導されたCTLは腫瘍特異的であることから，安全に癌患者へ投与できると考えられる．

〔結論〕

今回の結果は，B7遺伝子導入癌細胞を用いて誘導したCTLを用いることで，新しい免疫療法を開発できる可能性を示唆しているものと考えられた．

論 文 審 査 の 要 旨

癌の免疫療法において抗原特異的細胞障害性T細胞（CTL）の活性化に必要なco-stimulatory signalがいくつか発見された．そのうちB7.1は大腸癌などで欠失していることが知られている．今回ヒト大腸癌細胞株（Cw2）の培養を行い，これにB7.1遺伝子をelectroporation法にて導入し（Cw2/B7），同じ患者末梢血リンパ球とともに培養し，そのキラー活性を測定した．対象として前者すなわち，遺伝子導入をしていないCw2株細胞を使用した．また，その患者と異なるHLAをもつ大腸癌細胞株を標的とし，誘導されたCTLのキラー活性の特異性を検討した．結果：B7のシグナルのないCw2の刺激ではキラー活性は10.2%に対し，Cw2/B7刺激では62.7%で明らかに活性の上昇が見られた．HLAの異なる大腸癌細胞の刺激ではほとんど活性が見られなかった．

以上からB7のシグナル導入によってCTLの活性化が見られ，HLAが異なるとこの活性化は認められなかった．この研究結果は，今後の癌免疫療法にとって，意義深いものである．

主論文公表誌

Effect of B 7.1-transfected human colon cancer cells on the induction of autologous tumor-specific cytotoxic T cells（自己癌特異的細胞障害性T細胞の誘導におけるB 7.1遺伝子導入ヒト大腸癌細胞の効果）

Journal of Gastroenterology and Hepatology Vol 14 No 10 997–1003頁（1999年10月発行）宮園裕子，鴨川由美子，梁　京賢，古川隆二，三橋　牧，山内克巳，亀岡信悟，林　直諒

副論文公表誌

1) A novel therapeutic approach for rectal varices: A case report of rectal varices treated with double balloon-occluded embolotherapy. Am J Gastroenterol　92(5): 883–886 (1997) Tomo Kimura, Ikuko Haruta, Yoshinori Isobe, Keiko Ueno, Yukihito Nemoto, Kayo Ishikawa, Yuko Miyazono, Kyoko Shimizu, Katsumi Yamauchi, Naoaki Hayashi
2) 免疫応答の調節機構．臨床医　24(3): 341–345 (1998) 山内克巳，鈴木智彦，宮園裕子，山口尚子
3) 肝臓癌患者におけるCTL療法の臨床応用．Biotherapy　11(3): 226–228 (1997) 山内克巳，春田郁子，宮園裕子，古川隆二，木村　知，清水　健，山口尚子，林　直諒，有賀　淳，高崎　健
4) 多彩な合併症を有した小児発症の家族性膵炎の1例．膵臓　13(4): 359–365 (1998) 鶴見直子，森吉百合子，白鳥敬子，土岐文武，清水京子，宮園裕子，林　直諒，上野恵子，梶ヶ谷保彦，河村　攻