

氏 名（本籍） 安 西 良 一

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 6 6 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 2 月 2 3 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 6 2 年 3 月 2 5 日
 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 マウス血行性転移モデルに対する mIL-12 の転移
 抑制効果と作用機序の解析

（ 主 査 ）

論 文 審 査 委 員 教 授 松 野 正 紀 教 授 名 倉 宏

 教 授 鈴 木 磨 郎

氏 名（本籍） 安 西 良 一

学位の種類 博 士 （医 学）

学位記番号 医 第 2669 号

学位授与年月日 平 成 6 年 2 月 23 日

学位授与の条件 学位規則第4条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 62 年 3 月 25 日
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 マウス血行性転移モデルに対する mIL-12 の転移
抑制効果と作用機序の解析

（主 査）

論文審査委員 教授 松 野 正 紀 教授 名 倉 宏

教授 鈴 木 磨 郎

論文内容要旨

【目 的】

IL-12はNKSFとも称され、EBvirusで形質転換したB細胞より抽出された比較的新しいサイトカインである。その作用としては、ヒト抹消血リンパ球からのIFN- γ 産生誘導、活性化T細胞やNK細胞の増殖及び活性を亢進するという報告がある。そこで本研究では、Genetics Instituteの小林博士より供与されたmIL-12の*in vivo*での効果を3種類の腫瘍細胞を用いたマウスの血行性転移モデルを用いて検討した。

【方 法】

BALB/c由来のRL σ 1とC57BL/6由来のEL-4は、静脈内接種により肝臓に多数の転移結節を形成し、BALB/c由来のColon26は肺に転移結節を形成する腫瘍細胞株である。これら3種類の腫瘍細胞 $0.5\sim 2.0\times 10^5$ 個を雄性同系マウス(6~8週齢)の尾静脈より接種し、14日目の肉眼的転移結節数を評価する転移モデルを作製し、以下のことにつき検討した。

- 1) mIL-12の1回投与量を、 $1.0\mu\text{g}$ 、 $0.5\mu\text{g}$ 、 $0.1\mu\text{g}$ とし、腫瘍細胞接種後1~5日と8~12日の週5回腹腔内に投与した時の転移結節数の比較。
- 2) mIL-12($0.5\mu\text{g}/\text{day}$)を前期(1~5日)投与と後期(8~12日)投与に分け比較。
- 3) hIL-2(10^4u)とMuIFN- γ (10^4u)の単独投与群及びhIL-2+MuIFN- γ 投与群とmIL-12($0.25\mu\text{g}$)単独投与群との間での転移抑制効果及び生存率を比較。
- 4) mIL-12の腫瘍細胞接種前投与による転移抑制効果。

次にmIL-12($0.25\mu\text{g}$)を2日間投与したマウスの脾、肝、胸腺、より比重遠心法にて単核球を分離後、phenotypeの変化をFACScanにて解析し、脾細胞と肝リンパ球のYAC-1に対する細胞傷害活性を ^{51}Cr release assayにて測定した。

【結 果】

RL σ 1, EL-4, Colon26腫瘍細胞の血行性肝及び肺転移に対し、mIL-12は劇的な転移抑制を示した。特に、 $1.0\mu\text{g}$ 、 $0.5\mu\text{g}$ 投与群では90%以上の、また $0.1\mu\text{g}$ 投与群でも約70%の転移抑制効果を認めた。mIL-12の投与時期としては、腫瘍細胞接種前と接種直後の5日間連日投与で、強い転移抑制作用を認めた。hIL-2とMuIFN- γ 投与群との比較では、hIL-2とMuIFN- γ 単独投与群で10~20%の、hIL-2+MuIFN- γ 投与群で約60%の抑制効果を認めたのに対し、mIL-12投与群では約90%の抑制効果を認めた。さらに、生存率についても、mIL-12投与群で著明な生

存期間の延長を示したが、hIL-2+MuIFN- γ 投与群では対照群と比較して2～3日の延命効果しか得られなかった。次に、mIL-12投与によるリンパ系細胞への影響を解析した結果、胸腺ではほとんど変化を認めなかったのに対し、脾と肝で単核球数の増加を認め、特に肝ではNK細胞の増加が著しく、かつ脾細胞よりも強いYAC-1に対する細胞傷害活性を認めた。

【考 察】

mIL-12は、マウスの血行性転移モデルにおいて、極めて強い転移抑制作用を有し、肝臓でのNK細胞の増加と活性化が重要なfactorであることを明らかにした。Colon26の肺転移抑制の作用機序は明らかではないが、ひとつの仮説としてmIL-12投与により肝臓のNK細胞が最も強く活性化され、これが末梢血中に流出し、肺での転移抑制作用をも担っているのではないかと考えている。今後、最適な投与量および投与法の確立、副作用の検討、既存の化学療法剤、BRM製剤との併用療法による効果の検討など研究課題は山積しているが、IL-12は転移阻止を目的とした免疫療法の臨床応用への可能性をもつことが示された。

審査結果の要旨

本論文では、RL σ 1, EL-4, Colon26 という3種類のマウス可移植性腫瘍細胞株を用いて血行性転移モデルを作製し、mIL-12の転移抑制効果と宿主免疫担当細胞に与える影響を検討している。IL-12はNKSFとも称され、EBvirusで形質転換したB細胞より抽出された比較的新しいサイトカインであり、その作用としては、ヒト末梢血リンパ球からのIFN- γ 産生誘導、活性化T細胞やNK細胞の増殖及び活性を亢進するという報告はあるが、動物実験での抗腫瘍効果に関する報告はほとんど無い。BALB/c由来のRL σ 1とC57BL/6由来のEL-4は、静脈内接種により肝臓に多数の転移結節を形成し、BALB/c由来のColon26は肺に転移結節を形成する腫瘍細胞株である。これら3種類の腫瘍細胞を雄性同系マウスの尾静脈より接種し、14日目の肉眼的転移結節数を評価する転移モデルを作製し、以下のことにつき検討している。1) mIL-12の1回投与量を、1.0 μ g, 0.5 μ g, 0.1 μ gとし、腫瘍細胞接種後1~5日と8~12日の週5回腹腔内に投与した時の転移結節数の比較。2) mIL-12 (0.5 μ g/day)を前期(1~5日)投与と後期(8~12日)投与に分け比較。3) hIL-2 (10⁴u)とMuIFN- γ (10⁴u)の単独投与群及びhIL-2 + MuIFN- γ 投与群とmIL-12 (0.25 μ g)単独投与群との間での転移抑制効果及び生存率を比較。4) mIL-12の腫瘍細胞接種前投与による転移抑制効果。

またmIL-12投与したマウスの脾、肝、胸腺より比重遠心法にて単核球を分離後、phenotypeの変化を解析し、脾細胞と肝リンパ球のYAC-1に対する細胞傷害活性を測定している。

その結果、RL σ 1, EL-4, Colon26腫瘍細胞の血行性肝及び肺転移に対し、mIL-12は劇的な転移抑制を示していることを見出し、転移抑制作用が投与量の増加に伴い増強し、既存のIL-2やIFN- γ に比べて極めて微量でその効果を発揮することを明らかにしている。さらに生存率についても、mIL-12投与群では著明に生存期間の延長をもたらすことが示された。次に、mIL-12投与によるリンパ系細胞への影響を解析した結果、胸腺ではほとんど変化を認めなかったのに対し、脾と肝で単核球数の増加を認め、特に肝ではNK細胞の増加が著しく、かつ脾細胞よりも強いYAC-1に対する細胞傷害活性を認め、転移抑制作用を担うリンパ球が肝臓に特異的に増加していることを示した。

以上より、本論文はmIL-12が劇的な転移抑制効果のあることを本邦で初めて明らかにし、IL-12が将来臨床的に癌の治療に応用される可能性を有する有力なサイトカインであることを提唱した極めてoriginalityの高い、また癌治療の新しい可能性を開いた学位論文にふさわしいものであると考えられた。