




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第437号	氏名	河野 正典
審査委員会委員	主査氏名	西園 晃 	
	副査氏名	橋原 久司 	
	副査氏名	秋阿 勉 	
<p><b>論文題目</b>                  Cryoimmunologic Antitumor Effects Enhanced by Dendritic Cells in Osteosarcoma                  (マウス骨肉腫に対する液体窒素処理および樹状細胞による抗腫瘍効果の増強)</p> <p><b>論文掲載雑誌</b>                  Clinical Orthopaedics and Related Research</p> <p>悪性骨腫瘍に対する機能温存のため再建術には、種々の方法が報告されているが、液体窒素処理骨を用いた再建法は有効な方法として臨床で応用されている。凍結処理した骨は腫瘍が死滅する一方、抗原性は残存するため生体内へ還納することで、免疫系を介した抗腫瘍効果が誘導されることが報告されている。今回骨腫瘍の凍結処理に抗原認識の中心的役割を担う樹状細胞を併せて投与することで、免疫学的反応の増強が認められるか否かの検討をマウスを用いて行った。</p> <p>使用した動物はマウス(C3H)とマウス骨肉腫細胞株(LM8)を用いた。マウスの皮下に LM8 細胞 <math>1 \times 10^5</math> 個を移植後2週間経過後に対照群として 1)腫瘍広範切除のみの群、2)非刺激樹状細胞のみ投与する群、3)液体窒素処理を行った腫瘍凍結組織を殿筋内へ還納する群、4)腫瘍凍結組織を殿筋内へ還納し非刺激樹状細胞を投与する群、5)腫瘍抽出液で刺激した樹状細胞を加えた群、6)腫瘍凍結組織を殿筋内へ還納し、腫瘍抽出液で刺激した樹状細胞を投与した群、以上6群に分け検討を行った。評価は腫瘍切除後28日目に行い、その項目は1)肺転移巣の面積、2)血清 IFN-<math>\gamma</math> および IL-4 値、3)転移巣の単位面積当たりの CD8 陽性 T 細胞および NK 細胞数とした。</p> <p>血清 IFN-<math>\gamma</math> 値は非刺激樹状細胞単独投与群、液体窒素による腫瘍凍結処理群と比較して両者併用群が有意に上昇していた。さらに凍結処理組織に腫瘍抽出液で刺激した樹状細胞を反応させた群はいずれの群よりも有意に上昇していた。肺転移巣の面積は腫瘍切除群が最も大きかった。樹状細胞単独投与群、液体窒素による腫瘍凍結処理群と比較して両者併用群が有意に縮小していた。CD8 陽性 T 細胞は樹状細胞単独投与群、液体窒素による腫瘍凍結処理群と比較して両者併用群が有意に集簇していた。さらに凍結処理組織に腫瘍抽出液で刺激した樹状細胞を反応させた群はいずれの群よりも有意に集簇していた。</p> <p>これまで臨床で行われてきた悪性骨腫瘍に対する液体窒素処理骨による再建術は、熱処理法などと異なり抗原性が保存されるという利点があり凍結した腫瘍骨を体内へ戻すことで、術後の抗腫瘍効果が増強することが見出されている。今回の検討で、腫瘍を凍結させた組織と腫瘍抽出液で刺激した樹状細胞を併用投与する事で高い抗腫瘍免疫効果を確認でき、液体窒素処理により認められた抗腫瘍効果に加え、樹状細胞特に腫瘍抽出液で刺激した樹状細胞を加えることで抗腫瘍効果の増強がみとめられたと考えられる。</p> <p>骨肉腫に対する治療は数多く報告されてきたが化学療法、放射線療法、手術療法といった標準的治療法に効果がないとされる患者に対し第4の治療法として臨床に応用できる有用な方法であると示唆され、よって審査員の合議により、本論文は学位(博士)に値するものと判定した。</p>			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 河野正典

## 論 文 題 目

Cryoimmunologic Antitumor Effects Enhanced by Dendritic Cells in Osteosarcoma  
(マウス骨肉腫に対する液体窒素処理および樹状細胞による抗腫瘍効果の増強)

## 要 旨

[諸言] これまで悪性骨腫瘍に対して液体窒素処理骨を用いた再建術を行ってきた。凍結処理した骨は腫瘍が死滅する一方、抗原性は残存するため生体内へ還納することで抗腫瘍効果が得られることが報告されている。そこで今回骨腫瘍の凍結処理に抗原認識の中心的役割を担う樹状細胞を投与することで免疫学的反応の増強が認められるか検討を行った。

[研究対象及び方法] マウス(C3H)とマウス骨肉腫細胞株(LM8)を用いた。マウスの皮下にLM8細胞 $1 \times 10^6$ 個を移植後2週間経過後にコントロール群として1) 腫瘍広範切除のみの群、対照群として2) 液体窒素処理を行った腫瘍凍結組織を殿筋内へ還納する群、3) 樹状細胞のみ投与する群、4) 腫瘍凍結組織を殿筋内へ還納し樹状細胞を投与する群、5) 樹状細胞に腫瘍ライセートを加えた群、6) 腫瘍凍結組織を殿筋内へ還納し腫瘍ライセートを反応させた樹状細胞を投与する群、以上6群に分け検討を行った。腫瘍切除後28日目に評価を行った。評価項目は1) 肺転移巣の面積、2) 血清IFN- $\gamma$ およびIL-4値、3) 転移巣の単位面積当たりのCD8陽性T細胞およびNK細胞数とした。

[結果] 血清IFN- $\gamma$ 値は樹状細胞単独投与群、液体窒素による腫瘍凍結処理群と比較して両者併用群が有意に上昇していた。さらに凍結処理組織に腫瘍ライセートと樹状細胞を反応させた群はいずれの群よりも有意に上昇していた。肺転移巣の面積は腫瘍切除群が最も大きかった。樹状細胞単独投与群、液体窒素による腫瘍凍結処理群と比較して両者併用群が有意に縮小していた。CD8陽性T細胞は樹状細胞単独投与群、液体窒素による腫瘍凍結処理群と比較して両者併用群が有意に集簇していた。さらに凍結処理組織に腫瘍ライセートと樹状細胞を反応させた群はいずれの群よりも有意に集簇していた。

[考察]...これまで臨床において悪性骨腫瘍に対し液体窒素処理骨による再建を行ってきた。本法は熱処理と異なり抗原構造が温存されるという大きな利点があり凍結した腫瘍骨を体内へ戻すことで術後の抗腫瘍効果が増強することを発見した。今回の検討では腫瘍を凍結させた組織と腫瘍ライセートを反応させた樹状細胞を併用する事で高い抗腫瘍免疫効果を確認した。いずれの結果も液体窒素処理にて抗腫瘍効果は認められるが、樹状細胞を投与しさらに樹状細胞に腫瘍ライセートを加えることで抗腫瘍効果の増強がみとめられたと考えられる。

[結語] 骨肉腫に対する治療は数多く報告されてきたが化学療法、放射線療法、手術療法といった標準的治療法に効果がないとされる患者に対し第4の治療法として臨床に応用できる有用な方法であると確信している。