

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 4NQO誘発腫瘍の移植性に対するphotodynamic actionに関する研究                                                                                                                                                                                                                                         |
| Author(s)    | 藤本, 二郎                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Citation     | 大阪大学, 1968, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/29545">https://hdl.handle.net/11094/29545</a>                                                                                                                                                                                               |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

|         |                                                         |
|---------|---------------------------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | 藤 本 二 郎<br>ふじ もと じ ろう                                   |
| 学位の種類   | 医 学 博 士                                                 |
| 学位記番号   | 第 1 3 9 5 号                                             |
| 学位授与の日付 | 昭 和 43 年 3 月 28 日                                       |
| 学位授与の要件 | 医 学 研 究 科 外 科 系<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                     |
| 学位論文名   | <b>4NQO 誘発腫瘍の移植性に対する photodynamic action<br/>に関する研究</b> |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教 授 陣内伝之助<br><br>(副査)<br>教 授 宮地 徹 教 授 北川 正保     |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

一般に、細胞の組成や機能のうちで、可視光線に依り強い影響を受けるものは少ない。しかし適当な色素の存在下では、ほとんどの生物系が可視光線に対して感受性を高めることが認められている。本研究においては増感剤 (photosensitizer) としてアクリジンオレンジを用い、その存在下で 4NQO 腫瘍細胞の移植性に対する可視光線照射の影響 (photodynamic action) を検討した。そしてこの現象を protective agent および核酸・蛋白の生合成の面から検討を試みた。さらに photodynamic action により inactivateされた 4NQO 腫瘍細胞により抗腫瘍免疫を生じうるかどうかを検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

4NQO 1.5-2.5 mg を含有するパラフィンペレットを作製し、これを数回に分け呑竜ラットの皮下に埋没し 130 日以後に発生した腫瘍、および、遠藤の発癌法 (1963) に準じ 4NQO の皮下注射により呑竜ラットに 120 日以後に発生した腫瘍を実験に用いた。これらの腫瘍はいずれも組織学的に fibroblastic sarcoma であって、Snell 法 (1953) の変法により容易に遊離細胞化できる。そして腫瘍細胞  $1 \times 10^5$  個の皮下注射により呑竜ラットに対して 100% の移植率を得ている。この腫瘍は脳内にも移植することができる。また TC 199 を培養液として組織培養に移すことも可能で、このものは in vivo に復元することができる。

アクリジンオレンジで処理した 4NQO 腫瘍細胞の吸収スペクトルを顕微分光光度計で測定したところ、細胞集団、核および細胞質のいずれも 500 n. m. の附近に極大吸収が認められた。そこで量子収率を考慮し、500 n. m. 附近に最大出力を有するような市販の蛍光灯 FL20BA-42 および FL20B-F を選び光源として実験に用いた。それぞれ 180 および 100 erg/mm<sup>2</sup>/sec なる光量率を得ている。

さて上記の遊離細胞を 37.5°C の恒常槽中で 60 分次の 4 様式の処理を行なった。すなわち Krebs-

Ringer 燐酸緩衝液 (KRPB) 中にて震盪したもの (C), KRPB 中で上記可視光線を照射したもの (CL), 10 $\gamma$ /ml のアクリジンオレンジを含む KRPB 中で震盪したもの (AO) および 10 $\gamma$ /ml のアクリジンオレンジを含む KRPB 中で上記可視光線を照射したもの (AOL) の4種である。これらの処理細胞を 1.5 $\times 10^7$  個ずつ各群10匹の体重約 100g の呑電ラットに皮下移植したところ, C群および CL 群では全匹 take し, 腫瘍の増殖能にも差異は認められなかった。AO 群は100% take するが増殖能は少し劣る。AOL 群は移植後60日間にわたり観察したが全匹腫瘍を発生しなかった。

次に 4NQO 誘発腫瘍の遊離細胞 3 $\times 10^7$  個について, 上記4通りの操作を行なった場合の酵素消費を Warburg 検圧計で測定した。Cにくらべは AO は酸素消費の減少を来すが, CL は酸素消費が増加し, AOL ではさらに著明な増加が認められた。一方, 嫌氣的条件下で AOL なる処理をした腫瘍細胞を移植したところ, 100%の移植率が得られた。従って腫瘍細胞が photodynamic action を受けているときに認められる著明な酸素消費の増加はこの現象が成立するために不可欠の要素と考えられる。

また好氣的条件下であっても, グルタミン酸ソーダをあらかじめ添加しておいて AOL なる処理を行なうと 6/8 なる移植率が得られた。

次いで photodynamic action を受けている 4NQO 腫瘍細胞の核酸 および蛋白の生合成を <sup>14</sup>C-formate を precursor として用い測定したところ, 好氣的条件下では AOL はCに比して核酸・蛋白の生合成は著明に抑制されるが, 嫌氣的条件下での AOL では著明な抑制はみられず, 移植実験の結果とよく合致する成績を得た。

次に, 好氣的条件下で AOL なる処理を行なった 4NQO 腫瘍細胞 1.5 $\times 10^7$  個を呑電ラットに皮下接種し, 32日目に 2 $\times 10^6$  個の未処理の腫瘍細胞を皮下に challenge したが, 抗移植性は認められなかった。しかるに, 同様の処理を行なった腫瘍細胞を1週2回ずつ4回にわたり合計 2.1 $\times 10^8$  個を皮下接種した後, 最初の皮下接種より26日目に 1 $\times 10^6$  個の腫瘍細胞で challenge したところ12匹中9匹は抗移植性を示した。この9匹に対して最初の接種より64日目に 1 $\times 10^7$  個の腫瘍細胞で challenge したところ, そのうち4匹は抗移植性を示した。しかも, 実験群に発生した腫瘍は対照群に比し, いずれも増殖能が小さいことが認められた。

#### 〔総括〕

1) 呑電ラットにおいて 4NQO を用い2種の方法で fibroblastic sarcoma を発生せしめた。このものは遊離細胞化して皮下および脳内に移植でき, また組織培養に移すことができる。

2) 移植性にほとんど影響をおよぼさないような濃度のアクリジンオレンジの存在下で, 好氣的条件下にある 4NQO 腫瘍細胞に対し, 移植性に全く影響のない光量の可視光線を照射すると, 腫瘍細胞の移植性は失なわれる。

3) 2) の場合著しい酸素消費の増加がみられるが, 4NQO 腫瘍細胞の核酸・蛋白の生合成をみると明らかに抑制されており, 移植実験の成績とよく一致する。また嫌氣的条件にすると腫瘍細胞の移植性はよく保たれる。

4) グルタミン酸ソーダは 4NQO 腫瘍細胞に対する photodynamic action において保護的な作用があると考えられる。

5) 2) のようにして移植性を失なわせた 4NQO 腫瘍細胞を用い、呑竜ラットを免疫しておく  
と 4NQO 腫瘍細胞の移植に対して抵抗性を示す。

#### 論文の審査結果の要旨

本研究は、4NQO により呑竜ラットに誘発した腫瘍を用いて、アクリジンオレンジを増感物質とする photodynamic action について検討したもので、この際、腫瘍細胞レベルで起こる 2, 3 の変化を明らかにするとともに、移植性は失なわれているが、抗腫瘍免疫を生ずる状態を作りえていることを確認したものである。