Osaka University Knowledge Archive

Title	細菌細胞壁構築成分の免疫アジュバント作用に関する研究 : 投与様式, 特に媒体について
Author(s)	木下, 文夫
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32081
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【3】

氏名・(本籍)	木下文夫（きのした ふみお）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 4243 号
学位授与の日付	昭和53年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**細菌細胞壁構築成分の免疫アジュバント作用に関する研究 ——投与様式，特に媒体について——**
論文審査委員	(主査) 教授 小谷 尚三 (副査) 教授 宮崎 正 助教授 猪木 令三 講師 下野 勉

論文内容の要旨

悪性腫瘍に対する治療法あるいは再発防止法として，免疫学的手段を利用する基礎的ならびに臨床的研究が活発に行なわれている。その中で，腫瘍特異抗原に対する免疫，特に細胞性免疫を強化するアジュバントとして注目を集めているものに，細菌細胞壁ペプチドグリカンあるいはその構築成分がある。この方面の研究の過去数年間の成果には目覚ましいものがあり，まずフランスのEllouz, Lederer, Chedidら，小谷ら，ついで東，山村らによって，細菌細胞壁ペプチドグリカンのアジュバント活性を担う最小構造単位が MurNAc-L-Ala-D-isoGln（略MDP）であることが，化学合成品を供試することにより，異論の余地なく明らかにされた。

ここで問題となるのは，細菌細胞壁の系譜に属するアジュバントは，抗原と共に鉱物油を用いた油中水型乳剤として生体に投与するのでなければ，少なくとも細胞性免疫を誘導，強化する作用が十分には発揮されず，一方この型での投与では，注射局所や所属リンパ節への傷害作用を始めとする「副作用」が強く，とうていヒトに利用できない点である。

この研究では，細菌細胞壁系統のアジュバント（合成MDP，同誘導体および細胞壁を酵素処理して得たペプチドグリカンサブユニットのモノマー，ダイマーやポリマー）の免疫強化作用，特に細胞性免疫を誘導する作用を効果的に発揮させ，しかも「副作用（投与局所および所属リンパ節への傷害作用を指標として）」の少ない投与方法，特に投与媒体について，モルモットを供試し卵白アルブミンをテスト抗原として，いろいろの角度から検討を加えた。

得られた研究成果は，次の様に要約される。

1．油中水型乳剤では，Drakeol 6-VRやn-ヘキサデカンなどの鉱物油を用いた場合に，アジュバ

ント効果が最も発現しやすいが，注射局所と所属リンパ節のいずれにも強い傷害作用が見られた。そこで，「副作用」の発現には，鉱物油が注射部位に代謝されずに長期間留まることが関係しているのではないかと考え，代謝可能な植物油，動物油を用い油中水型乳剤を作製して供試したが，天然のままのものでは有効なものは見つからなかった。しかし，サメ肝油由来のスクアレンの水素添加油であるスクアランでは，かなりの程度に鉱物油を代用し得る効果が見られ，しかも「副作用」も比較的軽微であった。

2．多重型乳剤は，油中水型乳剤に比べて長期間安定であるとされ，また粘度が低く取扱いが容易である。そこで，各種の油で多重型乳剤を作製し，媒体としての有用性を検討した。その結果，この型でも植物油は無効であるが，スクアランは鉱物油を用いた場合に劣らない効果を発揮した。しかし，注射局所や所属リンパ節の腫脹は相当なものであり，「副作用」の点からは完全に満足できる媒体とは言えなかった。

3．アジュバントの媒体として従来より使用されることの多い，もう一つの乳剤である水中油型乳剤を，Drakeol 6-VRを用い，ムラミン酸残基のC-6位にアシル基を導入した6-0-アシル-MDPをテストアジュバントとして作製し検討した。油含有量の低い油滴付着型のものは無効であったが，油含有量の高い場合には，アシル基が高位脂肪酸で親脂性が高いもの，例えば6-0-ステアロイル- あるいは6-0 -ドコサノイル-MDPでは，比較的明確なアジュバント効果が見られた。しかし，鉱物油を用いた油中水型乳剤としての投与には，遠く及ばなかった。

4．別のアプローチとして，抗原とアジュバントをリポソームの形で投与することを試みた。合成レシチンとコレステロール（モル比で1:1）で作製したリポソーム懸濁液の場合，6-0- アシル-MDPの親脂性が強くなるにつれて，例えば6-0- ラウロイル-，6-0-ステアロイル-，6-0- ドコサノイル-MDPが強いアジュバント効果を示し，しかも「副作用」が軽微であることが明らかになった。ジセチルリン酸，ホスファチジン酸あるいはステアリルアミンなどを加えたリポソームも供試したが，荷電物質添加による利点は認められなかった。また，各種の動物の赤血球膜から抽出した全脂質画分で調製したリポソームについてもテストしたが，特に優れた効果は認められなかった。リポソームを媒体として用いる場合の問題点は，アジュバントとした例えば6-0- ステアロイル-MDPは，その約半分がリポソームに「取り込まれる」が，テスト抗原である卵白アルブミンの方は，使用した量の約1/10しか「取り込まれない」ことである。そのために遠心処理したリポソームは，元の懸濁液に比べるとはるかに効果が低い。しかし，これは投与量を増すごとによって補い得ることがわかった。

5．最後に，アジュバントと抗原をリン酸緩衝生理食塩水(pH7.0, 1/15M)に懸濁した型で腹腔内注射を試みた。MDPやペプチドグリカンサブユニットポリマーでは，大量を用いた場合にも全く効果がないのに，6-0-(2-テトラデシルヘキサデカノイル)-MDPでは，強いアジュバント効果の発現が見られた。

アジュバント作用の発現には，供試動物の種や系統，また抗原の種類が大きく影響することが知られているので，今後これらの点について検討を重ねる必要があろう。

論文の審査結果の要旨

この研究は，基礎および応用の両面から最近活発な研究が行われている細菌細胞壁ペプチドグリカン構築単位の免疫強化作用を，強い「副作用」を伴なうことなく効果的に発揮させる投与様式について，系統的かつ詳細な検討を行ったものである。その結果，合成した6-0-ステアロイル-N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミンを，レシチンとコレステロールで作ったリポソームにテスト蛋白質抗原と共に「取り込ませて」投与すると，投与局所及び所属リンパ節に強い反応をひき起こすことなく，細胞性免疫を誘導し，抗体生産を高める明確なアジュバント作用が結果するなど，注目すべき事実が明らかにされた。

木下文夫君の研究は，免疫アジュバントに関する研究を一段と飛躍させるのに役立つ，貴重な成果を収めたもので，歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。