



Title	N-アセチルムラミルジペプチドとその関連化合物のアジュバント活性
Author(s)	杉村, 和久
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32113
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	杉 村 和 久
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4 2 2 7 号
学位授与の日付	昭和 53 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	N-アセチルムラミルジペプチドとその関連化合物のアジュバント活性
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 堀 三津夫 教授 天野 恒久

論文内容の要旨

〔目 的〕

1942年 Freundにより鉱物油に結核死菌体を浮遊させた所謂“Freundの完全アジュバント”(FCA)が強力なアジュバント活性を有することが見い出された。その後東らにより結核死菌体の主たるアジュバント活性因子は細菌細胞壁であり、その化学構造は“ミコール酸—アラビノガラクトン—ムコペプチド”複合体である事、特にその中のムコペプチド部分がアジュバント活性発現に重要な役割を果たしている事が明らかにされた。更に1974年、Ellouzらはムコペプチド部分より分離精製したムラミルジペプチド (MurNAc-L-Ala-D-isoGln; MDP) がアジュバント活性を発揮する為の最小構造単位である事を合成標品を用いて明らかにした。一方、東らによってBCG細胞壁 (BCG-CWS) を生食水にoil-in-waterの形で浮遊させた鉱物油処理BCG-CWSがモルモット及びマウスの同系腫瘍の系で著しい抗腫瘍活性を示す事が見い出された。最近臨床的にもヒトの肺癌及び癌性胸膜炎の免疫療法に有効である事が報告されている。

本研究は以上の事実に基づいて、上記ムラミルジペプチドの各種誘導体及び関連化合物について種々の免疫系 (immune system) におけるアジュバント活性を検討した。

〔方 法〕

1. 体液性抗体産生に対するアジュバント効果; i) in vivo免疫系; 細菌 α -アミラーゼ (Ba A) 或はDNP-Lys-Ficollを抗原とし種々の合成ペプチドと共に腹腔内に免疫し、その後の血中抗体価又は抗体産生細胞数を測定した。ii) in vitro免疫系, Marbrookの方法に準じ、羊赤血球 (SRBC) 或はDNP-Lys-Ficollに対する免疫応答への合成ペプチドのアジュバント活性を検討した。

2. Cell-mediated cytotoxicity (CMC) に対するアジュバント効果; 同種抗原として masto-cytoma細胞 (H-2^d) を用い, リン酸緩衝食水 (PBS) に浮遊させた種々の合成ペプチドと共に C57BL/6 マウス (H-2^b) の腹腔内に免疫した。11日後に脾細胞をエフェクター細胞として CMC 活性を Brunner らの方法により測定した。

3. 遅延型過敏症及びヘルパー T 細胞の誘導に及ぼす効果; Hartley 系モルモットに 50 μ g の monoazobenzenearsonate-N-acetyl-L-tyrosine (ABA-Tyr) を抗原とし, 種々の合成ペプチドと共に Freund の不完全アジュバント (FIA) に油中水エマルジョンとしたものを足蹠に免疫した。2 週間後に ABA-B α A で皮膚試験をおこない, 24 時間, 48 時間後の皮膚反応を測定した。更にこれらのモルモットに合成抗原である 2,4-dinitro phenyl- ϵ -aminocaproyl-L-tyrosine-3-azobenzene-4'-arsonic acid [DNP- ϵ ACP- (ABA)-Tyr] 1mg を FCA にて皮下及び腹腔内に免疫した。2 週及び 3 週後の血中に於ける抗 DNP 抗体量を測定し, ABA-Tyr 特異的ヘルパー T 細胞の誘導能を調べた。

4. 脾細胞に対するマイトジェン活性; 正常 C57BL/6 マウスの脾細胞 2×10^6 コに種々の合成ペプチドを加え, Falcon 2058 プラスチックチューブで培養開始後 24 時間目に 0.5 μ Ci の ³H-チミジンを添加し, その 20 時間後における脾細胞への取り込みを測定した。

〔成績及び結論〕

1. 細菌細胞壁のアジュバント活性を有する最小構造単位は MurNAc-L-Ala-D-isoGln であり, Lactyl-L-Ala-D-isoGln がアジュバント活性を示さない事より, N-アセチルムラミン酸の重要性が示唆された。

2. MurNAc-L-Ala-D-isoGln は体液性免疫及び遅延型過敏症の誘導に対して著明なアジュバント活性を示した。しかし細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T 細胞) の誘導に関して, in vitro の系で活性が認められるものの, in vivo の系では全く認められず, また抗腫瘍活性もみられなかった。

3. 水溶性である MurNAc-L-Ala-D-isoGln (MDP) に lipophilic な脂肪酸 (ステアリン酸) を導入した 6-O-stearoyl-MDP は, 種々の免疫系において MDP とほぼ同様な活性を保持するが, 総炭素数 70—90, α 位に C_{22~24} の分岐を, β 位に水酸基を有する超高級脂肪酸である ミコール酸を結合させた 6-O-mycoloyl-MDP は, 体液性免疫応答に対してほとんどアジュバント活性を示さず, 一方 in vivo に於ける cytotoxic T 細胞の誘導を著明に促進する事を見出した。

4. 合成ペプチド, MDP, 6-O-stearoyl-MDP 及び 6-O-mycoloyl-MDP はいずれも脾細胞に対するマイトジェン活性は認められなかった。

5. 以上の結果は, 水溶性である MDP に超高級脂肪酸 (ミコール酸) を導入することにより, アジュバント活性発現の質的転換を可能にすると共に, BCG-CWS のアジュバント活性及び抗腫瘍活性発現の為に細胞壁中の他の構成成分である ミコール酸やアラビノガラクトンが補助的ではあるが重要な役割を果している事を示唆している。

論文の審査結果の要旨

細菌細胞壁のアジュバント活性最小構造単位であるN-アセチルムラミルジペプチド (MDP) とその関連化合物のアジュバント活性を種々の免疫系を用いて検討した。

MDPは体液性免疫、遅延型過敏症の誘導に対し著明なアジュバント活性を示すが、*in vivo*の系で細胞傷害性T細胞の誘導に関し活性が認められない。

MDPに超高級脂肪酸 (ミコール酸) を導入した6-O-ミクロイル-MDPは、体液性免疫に対するアジュバント活性は極めて弱い、遅延型過敏症及び*in vivo*に於ける細胞傷害性T細胞の誘導を著明に促進する事を見出した。