

Title	BCG cell-wall skeleton及びNocardia rubra cell-wall skeletonの抗腫活性：特に活性化macrophageの抗腫瘍作用，並びに発癌予防効果について
Author(s)	難波，学
Citation	大阪大学，1979，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32517
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【28】

氏名・(本籍)	難波 学
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4743 号
学位授与の日付	昭和54年10月27日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	BCG cell-wall skeleton及びNocardia rubra cell-wall skeletonの抗腫瘍活性 ——特に活性化macrophageの抗腫瘍作用, 並びに発癌予防効果について——
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 北村 旦 教授 浜岡 利之

論文内容の要旨

〔目的〕

BCG cell-wall skeleton (BCG-CWS) 及び Nocardia rubra cell-wall skeleton (N. rubra-CWS) の免疫学的アジュバント活性, 並びに抗腫瘍活性が種々の実験系で証明されつつある。これらの抗腫瘍活性の機構として, これまでリンパ球, 特にキラー T細胞の役割が明らかにされて来た。本研究では, BCG-CWS, N. rubra-CWSの抗腫瘍活性を活性化 macrophageの面から検討した。更に化学発癌剤によるラット実験的肺癌の系を用いて, 発癌予防効果の面からも検討した。

〔方法と成績〕

動物は近交系 ACI/Nラット, 雄, 9~10週令を用いた。BCG-CWS, N. rubra-CWSは山村, 東の方法により作製し, 鉱物油 (Drakeol6-VR) で処理後, 0.2% Tween 80含有生理的食塩水に混合して, 水中油型アジュバントとしたものを用いた。腫瘍細胞は, ACI/Nラットに3-methylcholanthreneで誘発した線維肉腫 (AMC-60) を同系ラットの腹腔内に継代移植した腹水腫瘍細胞を用いた。in vitro抗腫瘍活性テストのエフェクター細胞は, BCG-CWS, あるいはN. rubra-CWSの腹腔内投与後4日目に腹腔を5単位/mlヘパリン含有Eagle's minimum essential mediumで洗滌して得た腹腔渗出細胞 (peritoneal exudate cell, PEC) 及びそれらを2時間培養してプラスチック面に付着させた活性化 macrophageを用いた。培養は全て10%牛胎児血清含有RPMI-1640培養液を用い, 5% CO₂, 95%空気下, 37°Cに調整した炭酸ガス培養器中で行った。

I. BCG-CWS, N. rubra-CWS腹腔内投与により得た腹腔渗出細胞 (PEC) の抗腫瘍作用

1. 腫瘍細胞増殖阻害試験 (cytostatic test)

Falcon plastic dish(No 3001)を用いて、PEC、あるいはそれらから調製した活性化macrophageと腫瘍細胞を24時間培養し、培養終了5時間前に³H-thymidine 0.1 μ Ciを加えて、腫瘍細胞内に取り込まれた放射活性値を測定、腫瘍細胞単独培養時のそれに対する比率を比較した。PECの内、活性化macrophageが特に腫瘍細胞への³H-thymidineの取り込みを阻害した。

2. 腫瘍細胞傷害試験(cytolytic test)

Falcon plastic tube(No 2058)を用いて、PECあるいはそれらから調製した活性化macrophageと¹²⁵I-deoxyuridine 標識腫瘍細胞を24時間培養し、培養上清中に放出される放射活性比率を測定、比較した。PEC中の活性化macrophageに腫瘍細胞傷害能が認められた。

3. Winn test

PEC、あるいはそれから調製した活性化macrophageと 1×10^5 の腫瘍細胞を100:1の比率で混合し、正常ラット皮下に移植、2週間後に腫瘍生着率を検討した。PECの腫瘍生着阻止効果は活性化macrophageに由来する事が明らかになった。

II. BCG-CWS, N. rubra-CWSによる免疫療法実験

1. 固形腫瘍型

ラット後脚筋肉内に腫瘍細胞を移植し、移植後5日目より5日毎にBCG-CWS、あるいは、N. rubra-CWSの腫瘍内投与を反復した所、局所の腫瘍の退縮と所属リンパ節、肺への転移の防止が認められた。更にこの様な治療を受けた生存ラットの腹腔細胞には、cytolytic testで腫瘍細胞傷害能が誘導されていた。

2. 腹水腫瘍型

ラット腹腔内に腫瘍細胞を移植し、翌日より5日毎にBCG-CWS、あるいはN. rubra-CWSを腹腔内に投与した所、癌性腹水の貯溜が防止され、生存率の改善、生存期間の延長が認められた。

III. 化学発癌剤によるラット実験的肺癌に対するBCG-CWS, N. rubra-CWSの発癌予防効果benzo[a]pyrene 5mgとferric oxide 5mgを生理的食塩水0.2mlに懸濁し、エーテル麻酔下にACI/Nラットの気管内に毎週、計15回反復注入し、肺癌作成を試みた。動物が死亡後、肺、肝、脾腎、胃等の詳細な組織学的検討を行った。その結果、75%に肺癌の発生が認められ、全て扁平上皮癌であった。発癌剤投与開始1週目より、BCG-CWS, N. rubra-CWSを毎週、計15回、その後毎月1回静脈内に投与した所、肺癌の発生率はBCG-CWS投与群18%、N. rubra-CWS投与群33%と低下し、発癌までの潜伏期間もCWS投与群で延長した。

[総括]

I. ACI/Nラットと同系移植腫瘍(AMC-60)の系を用い、以下の2点を明らかにした。

1. BCG-CWS及びN. rubra-CWSの腹腔内投与により得た腹腔滲出細胞中の活性化macrophageが抗腫瘍作用を有する事を種々の実験系で示し、BCG-CWS, N. rubra-CWSの抗腫瘍活性の機構に活性化macrophageも重要な役割を演じている事を明らかにした。
2. 腫瘍細胞をラットに移植し、BCG-CWS, N. rubra-CWSを用いて免疫療法実験を行った。

筋肉内固形腫瘍においてはBCG-CWS, *N. rubra*-CWSの腫瘍内反復投与が, 腫瘍の退縮と転移の防止を, 腹水腫瘍においては腹腔内反復投与が癌性腹水の貯溜防止, 生存率の改善, 生存期間の延長をもたらす事を明らかにし, CWSの治療効果を更に明確にした。

II. benzo[a]pyreneの気管内反復注入により, ACI/Nラットに高率に肺癌を作成する事に成功したが, この系を用いて以下の点を明らかにした。

1. BCG-CWS, *N. rubra*-CWSの反復投与が肺癌の発生時期を遅延させ, 発癌率を低下させる事を示し, CWSの発癌予防効果を明らかにした。

論文の審査結果の要旨

BCG及び*Nocardia rubra*のcell-wall skeleton(CWS)の抗腫瘍活性の発現機構として, これまでリンパ球, 特にキラーT細胞の役割が明らかにされている。

本研究では, ラットにおける種々のin vitro, in vivoの系を用いて, これらCWSによる抗腫瘍効果発現にmacrophageの活性化が重要な役割を演じていることを明らかにすると共に, CWSによる免疫療法効果と活性化macrophageとの関連性を明らかにしている。更に化学発癌剤によるラット実験的肺癌の系で, CWSの発癌抑制効果を明らかにしたものである。

これらの研究成果は, 臨床応用への基礎研究として極めて有用であると考ええる。