



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32517">https://hdl.handle.net/11094/32517</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">大阪大学の博士論文について</a>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)	難 波 学
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 4 7 4 3 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 (Drakeol 6-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% CO<sub>2</sub>, 95% 空気下，37℃ 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<sup>3</sup>H-thymidine 0.1μCi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<sup>3</sup>H-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<sup>125</sup>I-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 $1 \times 10^5$ 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の肺癌に対するBCG-CWS, N. rubra-CWSの発癌予防効果be-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渗出細胞中の活性化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。