



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、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)	難波	學
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滲出細胞(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滲出細胞(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 0.1μCi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、癌性腹水の貯留が防止され、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る。