The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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

【28】

氏名・(本籍)	難波　学（なんぱ　まなぶ）
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. ruba-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. ruba-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%CO_2, 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(№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^{3}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^{3}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(№2058)を用いて，ＰＥＣあるいはそれらから調製した活性化macrophageと^{125}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1×10^{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る。