



Title	Vaccinia virusを用いた腫瘍特異免疫の誘導法 : 増強されたeffector機構の解析
Author(s)	清水, 敬生
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33306">https://hdl.handle.net/11094/33306</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)	清 水 敬 生
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 9 9 0 号
学位授与の日付	昭 和 58 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	<b>Vaccinia virus を用いた腫瘍特異免疫の誘導法：増強された effector 機構の解析</b>
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 加藤 四郎 (副査) 教 授 高橋 理明 教 授 濱岡 利之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

腫瘍特異免疫の増強法の一つに、腫瘍細胞をある抗原決定基で修飾して免疫する方法がある。この時宿主が予め修飾抗原に感作されていると、in vivoに於ける強い抗腫瘍免疫が誘導されることが明らかにされている。我々は修飾抗原として Vaccinia virus を用いた腫瘍特異免疫の増強法を開発した。即、Vaccinia virus で免疫したマウスに Vaccinia virus 感染同系腫瘍細胞を 3 回免疫することにより、その後の腫瘍生細胞の攻撃接種に耐える強力な抗腫瘍免疫が誘導出来た。本研究の目的は、Vaccinia virus を用いて in vivo に於ける抗腫瘍抵抗性を獲得した免疫マウスの effector 機構を in vitro で解析することである。

### 〔方法及び成績〕

#### ① 動物及び腫瘍：

C3H/HeN マウス（6～8 週齢，♀）を使用。腫瘍は C3H/He 系マウスに自然発生し同系マウスの腹腔内に継代移植されてきた X5563 骨髄腫及び C3H/He 系由来の四塩化炭素誘発腫瘍 MH134 腹水肝癌を用いた。

#### ② virus 及び virus による腫瘍細胞の修飾：

Vaccinia virus 池田株を使用。腹腔内に継代移植した X5563 及び MH134 腫瘍細胞を採取し、赤血球を溶解除去した後に MOI (multiplicity of infection) 10 で virus と混合、37℃、4 時間 incubate することにより腫瘍細胞の感染を行った。この際蛍光抗体間接法で腫瘍細胞表面に Vaccinia virus 特異抗原が出現することを確認している。

### ③ 免疫マウスの作成

C3H/HeNマウスに150RX線照射後、Vaccinia virus  $10^7$  PFUを接種 (priming) し、3週後にvirus感染腫瘍細胞 (X5563又はMH134)  $10^7$  個を腹腔内に1週間隔で3回免疫することにより免疫マウスを作成。このようなマウスはその後の腫瘍生細胞 $10^6$ 個の背部皮内攻撃に対して強い抵抗性を示すことを昨年教室の呉が既に発表している。この免疫マウスの脾細胞及び血清を用いて、in vitroに於けるeffector機構の解析を行った。

### ④ $^{51}\text{Cr}$ -release assay

免疫マウスより採取した脾細胞 $5 \times 10^6$ 個を腫瘍細胞 $1 \sim 3 \times 10^5$ 個でin vitroに於いて感作し5日後に生じたeffectorを、 $^{51}\text{Cr}$ をラベルした腫瘍細胞(target)と種々の比率で4時間培養し上清に遊離した $^{51}\text{Cr}$ をカウントし、キラー活性を測定した。

### ⑤ cold target inhibition assay

上記の $^{51}\text{Cr}$  release法で生じたeffectorを、 $^{51}\text{Cr}$ でラベルしていない腫瘍 (cold target) と20時間incubateした後に、 $^{51}\text{Cr}$ ラベルした腫瘍細胞と4時間incubateする方法で、effectorの腫瘍に対する特異性を調べた。

### ⑥ 補体依存性殺細胞試験 (CDC)

免疫マウスの血清を腫瘍生細胞及び補体源 (ウサギ新鮮血清) と $37^\circ\text{C}$ 、45分間incubateした後に、trypan blueで死細胞を染色して腫瘍細胞の死亡率をカウントし、血清中の抗腫瘍抗体価を測定した。

### ⑦ 抗X5563免疫マウスに於けるeffector機構：

X5563腫瘍系に於いては、virusで免疫した後にvirus感染X5563腫瘍細胞で免疫した、いわゆる免疫マウスの脾細胞中に強い抗X5563killer活性が認められた。免疫をvirus感染腫瘍細胞で行っても、virusによるprimingを行わないと十分なkiller活性は認められない。またvirus非感染X5563細胞で免疫した場合はvirusによるprimingの有無にかかわらず、killer活性は認められなかった。次にこのkiller活性を示すeffectorを抗Thy-1, 2+Cで処理したところkiller活性は完全に消去され、これがT cellであることが判明した。さらにこの抗X5563 killer T cell の特異性を調べるために cold target inhibition assayを行ったところ、抗X5563 killer活性は、X5563細胞をcold targetとした場合にのみ消去されたため、抗X5563 killer T cellはX5563に対して特異的であるといえる。一方CDC、及び蛍光抗体法の結果、抗X5563免疫マウスの血清中には抗腫瘍抗体は検出されなかった。

### ⑧ 抗MH134免疫マウスに於けるeffector機構：

X5563腫瘍系の場合と同様に $^{51}\text{Cr}$  release法を行ったところ、E/T比を高くしても抗MH134免疫マウスの脾細胞中には抗MH134killer活性は認められなかった。一方CDCの結果、血清中には高い抗MH134抗体価が検出された。さらにC3Hの同系腫瘍X5563及びMM102乳癌細胞をtargetにしてCDCを行ったところkillingは認められず、抗MH134抗体は、MH134に対して特異的であることが証明された。

〔総括〕

腫瘍抗原はそれぞれの腫瘍系で性格が異なる為、それに対する免疫応答も異なってくる。effector

機構を互に異にする二つの腫瘍系で共に強い抗腫瘍免疫誘導の増強を認めたことは、Vaccinia virusを用いたこの腫瘍特異免疫増強法が原理的に種々の腫瘍系に対してあてはまる方法であることを示唆する。

### 論文の審査結果の要旨

予めX線照射し、種痘ウイルス(VV)を接種したマウス(C3H)を、同系可移植性腫瘍細胞であるMH134(M)又は、X5563(X)にVVを感染させたもので免疫すると、それぞれの腫瘍細胞の移植攻撃に対して、明瞭な抑制効果のあることが示されている。本研究は、このような処理をしたマウスにおける免疫反応をしらべ、VV感染M免疫マウスと、VV感染X免疫マウスにおいて、それぞれの腫瘍細胞に対する免疫反応が、異っており、前者では、抗M抗体が、後者では、抗XキラーT細胞活性が、特異的に、誘導されていることを見出したものである。腫瘍免疫学の立場から、価値ある論文と認める。