

Title	紫外線不活化ワクチニアウイルスを用いた抗腫瘍免疫に関する研究
Author(s)	若宮, 伸隆
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35222">https://hdl.handle.net/11094/35222</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【40】

氏名・（本籍）	わか 若	みや 宮	のぶ 伸	たか 隆
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7231	号	
学位授与の日付	昭和61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	紫外線不活化ワクチニアウイルスを用いた抗腫瘍免疫に関する研究			
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)

浜岡ら(1979)は、マウスのハプテン化同系腫瘍細胞(X5563)を免疫材料として用いた場合に誘導される抗腫瘍免疫が、予め抑制T細胞を抑制し、次にハプテンで免疫することにより、増強されることを見出している。私達は、このプロトコールにそい、ハプテンにかえて、ワクチニアウイルス(VV)を、また同系腫瘍細胞としてX5563及びMH134を用いた場合に、明瞭な抗腫瘍免疫が誘導されること、さらに誘導された免疫が腫瘍特異性のあることなどを見出している。本研究の目的は、VVの人癌への応用を考慮して、紫外線不活化VVを用いる抗腫瘍免疫誘導効果を生VVを用いた場合の効果と比較しようとするものである。

(方 法)

実験動物及び腫瘍：C3H/HeNマウス(5-8週令, ♀)を用いた。同系可移植性腫瘍として、C3H/He由来のX5563骨髄腫及びC3H由来のMH134肝癌を用いた。ウイルス：ワクチニアウイルス池田株(VV)を用いた。ウイルス材料は、発育鶏卵漿尿膜に、VVを感染して作製した(CAM-VV)。精製ウイルスは、VV感染HeLa細胞を用いて、Joklikらの蔗糖密度勾配遠心法に準じて、精製した(L-VV)。これらのウイルスを紫外線照射により不活化し、それぞれを不活化CAM-VV(UV-CAM-VV)、不活化精製VV(UV-VV)として用いた。VV修飾腫瘍細胞免疫材料の作製：VVをX5563及びMH134腫瘍細胞に、MOI(Multiplicity of infection)10で、感染させ、4時間後、細胞致死量X線照射したものを免疫材料とした。又、UV-CAM-VVとUV-VVを用いた場合にも腫瘍細胞に、MOI10相当のウイルスを4時間吸着させたものを同様に処理して用いた。免疫方法及び腫瘍細胞の攻撃接種：150RX線照射したマウスに、

同日  $1 \times 10^7$  PFU (plaque forming unit) のCAM-VV又は、 $1 \times 10^7$  PFU相当のUV-CAM-VVを腹腔内に、接種した(VVによるPriming)。3週後に、免疫材料として作製した腫瘍細胞  $1 \times 10^7$  個を、腹腔内に、1週間隔で3回接種した。CAM-VVを用いた場合には、最終接種1週間後に、 $1 \times 10^5$  個の腫瘍細胞の腹腔内攻撃接種を行った。その後4週間以上観察し、腫瘍死の有無を調べた。また、L-VVを用いて、マウスにL-VV又はUV-VVでPrimingし、3週後にそれぞれL-VV感染又はUV-VV吸着、X5563, MH134 (X線致死線照射)  $1 \times 10^7$  個と同様に免疫した。免疫終了後、1週後に腫瘍細胞数を変えて、皮下攻撃接種(X5563)又は、腹腔内攻撃接種(MH134)し、Reed-Muench法により、50%腫瘍死をもたらす攻撃腫瘍細胞数(TLD<sub>50</sub>)を算定した。

#### (結 果)

##### 1. UV不活化CAMウイルスによる抗腫瘍免疫

X5563については、未処置マウス群(5匹)では、 $1 \times 10^5$ の腹腔内攻撃接種により、全例3週以内に、腫瘍死した。免疫マウス群であるCAM-VV免疫群(10匹)、及びUV-CAM-VV免疫群(10匹)の何れも、 $1 \times 10^5$ 個の攻撃接種に抵抗した。また、MH134については、同様に未処置では、全例腫瘍死したが、免疫マウス群であるCAM-VV免疫群(10匹)及びUV-CAM-VV免疫群(10匹)は、何れも全例  $1 \times 10^5$  個の攻撃接種に抵抗した。

##### 2. UV不活化精製ウイルスによる抗腫瘍免疫

未処置マウス群におけるX5563のTLD<sub>50</sub>は、 $10^{2.6}$ であった。一方、L-VV免疫マウス群におけるTLD<sub>50</sub>は、 $10^6$ であり、TLD<sub>50</sub>で比較すれば、 $10^{3.4}$ の差が認められた。又、UV-VV免疫群でもTLD<sub>50</sub>を指標とした抗腫瘍免疫誘導能において、L-VV、UV-VVの間に差は認められなかった。又、未処置マウス群におけるMH134のTLD<sub>50</sub>は、 $1 \times 10^1$ で、L-VV免疫群及びUV-VV群のTLD<sub>50</sub>は、 $10^{6.5}$ であり、X5563と同様に、抗腫瘍免疫誘導能においては、L-VV、UV-VVの間に差は、認められなかった。さらに、TLD<sub>50</sub>で比較すれば、未処置群と免疫群の間に、 $10^{5.5}$ の差が認められた。

#### (総 括)

VVを用いた抗腫瘍免疫の誘導において、マウスとその同系可移植腫瘍(X5563とMH134)の系で、50%腫瘍死に要する攻撃腫瘍細胞数(TLD<sub>50</sub>)を算定して比較を試みた。その結果、UV-VVとL-VVは、その有効性において全く差異がないことを見出した。VVを用いて誘導された抗腫瘍免疫の程度は、未処置マウスに対するTLD<sub>50</sub>と比べて、X5563の系では、 $10^{3.4}$ 倍、MH134の系では $10^{5.5}$ 倍であった。

### 論文の審査結果の要旨

Hamaokaら(1979)の開発したマウスのハプテン化同系移植癌細胞ワクチン接種方法の系において、ハプテンに代るにワクチニアウイルス(VV)を用いても腫瘍細胞の移植攻撃に対する明瞭な抵抗性を誘導し得ることが示されている(Wuら1981)。本研究は、生VVに代るに紫外線不活化VVを用いた場合の有効性を、マウスの50%腫瘍死をもたらす攻撃腫瘍細胞数(TLD<sub>50</sub>)を算定して比較し、生VVを用いた場

合と同程度の移植抵抗性の誘導されることを見出したものである。人癌への応用も期待し得る有用な知見であり、学位論文として価値あるものとする。