



Title	凍結破壊悪性腫瘍細胞接種によるマクロファージの活性化および機能の変化に関する研究
Author(s)	辻野, 元博
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37093
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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)	辻	の	もと	ひろ
	辻	野	元	博
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	9 1 3 3		号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日			
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系専攻			
	学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	凍結破壊悪性腫瘍細胞接種によるマクロファージの活性化および機能の変化に関する研究			
論文審査委員	(主査)			
	教授 作田 正義			
	(副査)			
	教授 八木 俊雄	助教授 白砂 兼光	講師 三木 靖夫	

論文内容の要旨

悪性腫瘍に対する凍結療法は、低温による組織傷害作用を治療に応用したもので、凍結壊死による原発巣の直接的な破壊を目的とする局所療法の一つである。それに加えて術後に生体の免疫能が亢進し、転移巣においても治療効果が認められるという免疫療法としての可能性が示され注目を集めている。しかし、逆に免疫能の低下を示す報告もあり、一定の評価が得られていない。

そこで、本論文では凍結療法後の生体の免疫能の変化を知る目的で、凍結破壊した悪性腫瘍細胞を接種したマウスを用い、免疫応答の中心的役割を担うマクロファージ (Mφ) の活性化の機序や活性化に伴う機能の変化を中心に検討、解析した。

実験には BALB/c マウスおよびその同系腫瘍 Meth-A (メチルコラントレン誘発線維肉腫) を用いた。Meth-A を液体窒素中で 5 分間凍結した後、室温にて自然融解する操作を 2 回繰り返す、これを凍結破壊 Meth-A (以下、Cryo-Meth-A) とした。また、対照としてマイトマイシン C (MMC) 処理 Meth-A (以下、MMC-Meth-A) を使用した。MMC-Meth-A は Meth-A を MMC 溶液中で培養し増殖能を失わせ、抗原性だけを持たせたものである。これらの各処理細胞をマウス 1 匹あたり 1×10^6 個を腹腔内に接種し、経日的に免疫能の変動を検討した。

Cryo-Meth-A あるいは MMC-Meth-A を接種後 14 日目にマウス右下肢皮下に Meth-A を移植すると、Cryo-Meth-A 群、MMC-Meth-A 群ともに正常無処置マウス対照群に比べて Meth-A の増殖が抑制され、両群マウスには抗腫瘍活性の獲得が認められた。

また、各処理細胞を接種後 14 日目に脾臓を摘出し、脾細胞の抗腫瘍活性を Winn 中和試験にて測定した。Cryo-Meth-A 群の脾細胞は正常マウス対照群の脾細胞と比べ、有意に Meth-A の増殖を抑制した。ま

た、MMC-Meth-A群にはCryo-Meth-A群よりも強い抗腫瘍活性が認められた。この抗腫瘍活性を担うエフェクター細胞はCryo-Meth-A群ではM ϕ とナチュラルキラー(NK)細胞であり、MMC-Meth-A群ではM ϕ とキラーT細胞(CTL)であった。両群ともに亢進していたM ϕ cytostatic 活性はその接種後の経日的な変化を調べると、MMC-Meth-A群では接種後7日目ですでに高い活性が認められるのに対し、Cryo-Meth-A群では14日目になってようやく活性の亢進が認められた。また、各処理細胞接種後経日的にM ϕ の各種機能の変化を測定すると、Cryo-Meth-A群の接種後14日目のM ϕ はインターフェロン(IFN)産生能、インターロイキン1(IL-1)産生能、プロスタグランジンE₂(PGE₂)産生能、貪食能が亢進し、MMC-Meth-A群のM ϕ は腫瘍壊死因子(TNF)産生能、Ia抗原陽性率が亢進していた。すなわち、両群M ϕ は抗腫瘍活性以外の機能はまったく異なっており、両群のNK細胞、CTLの活性化の様相の相違もM ϕ の機能の差異による可能性が示唆された。

一方、正常マウスの脾細胞とCryo-Meth-Aとの混合培養上清中には α -IFN活性が認められた。また、このIFNはM ϕ から産生されていることも明らかとなった。つまり、Cryo-Meth-Aは*in vitro*において α -IFNインデューサーとして働くことが示された。さらに処理細胞接種後10日目に抗 α -IFN抗体をマウスに腹腔内投与すると14日目のM ϕ cytostatic 活性およびNK活性はCryo-Meth-A群のみが低下した。一方、Cryo-Meth-A群では抗 α -IFN抗体投与により弱いながらもCTL活性が出現した。この際、M ϕ のIa抗原陽性率は亢進しており、 α -IFNはCTLの抑制に関与している可能性が示された。すなわち、Cryo-Meth-A群では α -IFNがM ϕ およびNK細胞の活性化を誘導し抗腫瘍活性を発揮させる一方、Ia抗原の発現を抑制し、CTLの活性化をおさえるという両面の役割を果たしている可能性が示唆された。

以上より、Cryo-Meth-A接種によりM ϕ は特有の免疫応答で活性化され、特徴のある様々な機能を持つようになるかと推察された。すなわち、凍結処理により修飾を受けた腫瘍抗原は修飾を受けていない腫瘍抗原とは異なった免疫応答を引き起こすことが示された。

従って、凍結療法は単に原発巣の治療だけでなく、非特異的免疫療法としての役割を持っているものと考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は凍結破壊した悪性腫瘍細胞(以下Cryo群)の接種による抗腫瘍効果をMMC処理悪性腫瘍細胞(以下MMC群)と対比し、宿主免疫反応の立場から実験的に検討したものである。

その結果、Cryo群およびMMC群ともに抗腫瘍活性がみられたが、その活性は異なった抗腫瘍免疫機構に基づいたものであることが明らかとなった。すなわち、Cryo群では主にM ϕ およびNK細胞により、またMMC群では主にM ϕ とCTLによる抗腫瘍活性によるものであった。両群の活性化機構の違いは各々のM ϕ の活性化の違いに基づいたものであることが示された。さらに、Cryo群におけるM ϕ の腫瘍細胞障害能の活性化には α -IFNが関与している可能性が示されたが、一方この α -IFNはM ϕ のIa

抗原発現を抑制するという二面性を有していることが示唆された。

この研究の結果は癌の凍結療法に伴う抗腫瘍性免疫機構の一端を明らかにするとともに、より有効な免疫療法への期待が得られたものと考えられる。よって、本研究は歯学博士の学位請求に十分値するものと認められる。