OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	マウス同系腫瘍におけるワクチニアウイルス修飾腫瘍細胞ワクチンの作製方法と抗腫瘍効果に関する研究
Author(s)	伊藤, 哲也
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37100
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【18】

氏名・(本籍)	伊藤哲也
学位の種類	医学博士
学位記番号	第9082号
学位授与の日付	平成2年3月24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	**マウス同系腫瘍におけるワクチニアウイルス修飾腫瘍細胞ワクチンの作製方法と抗腫瘍効果に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 上田 重晴 (副査) 教授 羽倉 明　教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

〔目 的〕

マウスとその同系移植腫瘍の系において，浜岡ら（1979）は，ハプテンで免疫したマウスにハプテン化腫瘍細胞を免疫することによって同系腫瘍に対する特異的抗腫瘍免疫を誘導することに成功した。呉（1981），上田ら（1984）は，このプロトコールに従い，ハプテンの代わりにワクチニアウイルス（ＶＶ）を用いても明確な抗腫瘍免疫が誘導されることを見い出した。さらに若宮ら（1986）は，ワクチン作製上，ウイルスについて検討し，紫外線不活化ＶＶ（ＵＶ－ＶＶ）でも生ＶＶと同様の効果があることを見い出した。これらの実験で我々は細胞致死量X線を照射し，ワクチンとして用いているが，Wallackら（1986）は，メラノーマ患者にＶＶ感染メラノーマ細胞破壊産物を超音波で処理しこれをワクチンとして用いて良い成績をあげている。そこで本研究はＶＶ修飾腫瘍細胞ワクチン作製時の，腫瘍細胞処理の条件について検討するため，上記プロトコールにおいて，X線照射したもの，超音波にて処理したもの，パラホルムアルデヒドにて固定したもの，膜分画のみ精製したものを用いて免疫し，それらの抗腫瘍効果を比較検討した。

〔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をHeLa 細胞に感染させ Joklikらの蔗糖密度勾配遠心法に準じて精製した（ＶＶ）。またＶＶを紫外線照射にて不活化した（ＵＶ－ＶＶ）。

ＵＶ－ＶＶ吸着腫瘍細胞ワクチン（ＵＶ－ＶＶ　ＴＣＶ）の作製：腫瘍細胞にＭＯＩ（multiplicity of infection）１０相当のＵＶ－ＶＶを２時間吸着させ，細胞致死量Ｘ線照射した。

ＶＶ感染腫瘍細胞破壊産物ワクチン（ＶＯＶ）の作製：Wallackらの方法に従い，腫瘍細胞にＭＯＩ１０でＶＶを感染させ，２４時間培養し，その感染破壊産物を集めて超音波処理した。

ＵＶ－ＶＶ吸着腫瘍細胞パラホルムアルデヒド固定ワクチン（ＰＦ　ＴＣＶ）の作製：ＵＶ－ＶＶ　ＴＣＶのＸ線照射のかわりに２％パラホルムアルデヒドで１時間（ＰＦ　ＴＣＶ（１ｈ），あるいは３ケ月（ＰＦ　ＴＣＶ（３ｍ））固定した。

ＵＶ－ＶＶ吸着腫瘍細胞膜分画ワクチン（ＵＶ－ＶＶ　Ｍｆｒ　）の作製：腫瘍細胞にＵＶ－ＶＶを４時間吸着し，その後，ホモジネートし　糖密度勾配遠心法にて膜分画を精製した。また無処理の腫瘍細胞膜分画（Ｍｆｒ）とＵＶ－ＶＶの混合物（ＵＶ－ＶＶ＋Ｍｆｒ）もワクチンとして用いた。

免疫方法と腫瘍細胞の攻撃接種：マウスに１５０ｒａｄｓＸ線照射と10^{7}ＰＦＵ（Ｐｌａｑｕｅ　Ｆｏｒｍｉｎｇ　Ｕｎｉｔ）相当のＵＶ－ＶＶを腹腔内接種した（プライミング）。この３週間後から種々のワクチンを１週間毎に３回免疫し，さらに１週間後に種々の細胞数の腫瘍細胞を腹腔内接種し，５０％腫瘍死をもたらす攻撃腫瘍細胞数（TLD_{50}）を算定した。

〔成　績〕

未処理群のTLD_{50}と免疫群のTLD_{50}の比でワクチンの効果を比較した。ＭＨ１３４においては，ＵＶ－ＶＶ　ＴＣＶで$10^{6.0}$，ＶＯＶで$10^{4.9}$，ＰＦ　ＴＣＶ（１ｈ）で$10^{5.9}$，ＰＦ　ＴＣＶ（３ｍ）で$10^{5.3}$，ＵＶ－ＶＶ　Ｍｆｒ　で$10^{4.1}$，Ｍｆｒで$10^{0.3}$，ＵＶ－ＶＶ＋Ｍｆｒで$10^{3.9}$であった。

Ｘ５５６３においては，ＵＶ－ＶＶ　ＴＣＶで$10^{6.0}$，ＶＯＶで$10^{3.9}$，ＰＦ　ＴＣＶ（１ｈ）で$10^{5.9}$，ＰＦ　ＴＣＶ（３ｍ）で$10^{4.4}$，ＵＶ－ＶＶ　Ｍｆｒで$10^{3.8}$，Ｍｆｒで$10^{2.0}$，ＵＶ－ＶＶ＋Ｍｆｒで$10^{4.0}$であった。

これらのことから，ＵＶ－ＶＶ　ＴＣＶ，ＰＦ　ＴＣＶ（１ｈ）が，ＰＦ　ＴＣＶ（３ｍ），ＶＯＶ，ＵＶ－ＶＶ　Ｍｆｒ に比し，抗腫瘍効果の強いことがわかった。

また，ＵＶ－ＶＶ　Ｍｆｒ とＵＶ－ＶＶ＋Ｍｆｒ は，ほぼ同等の効果があった。

〔総　括〕

ＵＶ－ＶＶ　ＴＣＶやＰＦ　ＴＣＶ（１ｈ）では，細胞構造がほぼ完全に保存されている。これらのワクチンが最も効果的であったことは，腫瘍関連移植抗原（ＴＡＴＡ）とウイルス抗原が，無傷な細胞膜上に共存する状態が，抗腫瘍免疫を誘導するのに有利に働くことが示唆された。

次に細胞構造を保たないワクチンにおいては，ＶＶ感染腫瘍細胞全体のホモジネートであるＶＯＶと，ＵＶ－ＶＶ吸着腫瘍細胞の膜分画であるＵＶ－ＶＶ　Ｍｆｒ とがほぼ同等の抗腫瘍効果があったことからワクチンの主たる有効分画は膜分画にあることが示唆された。

また，未処理の腫瘍細胞膜分画とＵＶ－ＶＶの単なる混合であるＵＶ－ＶＶ＋Ｍｆｒ とＵＶ－ＶＶ　Ｍ

fr とが，同等の抗腫瘍効果があったことから，ＵＶ－ＶＶは無傷の腫瘍細胞膜のみならず，精製された細胞膜分画にも，作用し，抗腫瘍効果を発揮させ得ることがわかった。

論文の審査結果の要旨

ワクチニアウイルスで腫瘍細胞の表面を修飾し，これを免疫原として用いることによって，腫瘍細胞に対する免疫を誘導する研究が，微生物病研究所感染病理学部門で行われてきた。

これの臨床応用を考えて行われた本研究は，Ｃ３Ｈ／ＨｅＮマウスとＸ５５６３，ＭＨ１３４腫瘍細胞の組み合わせからなるマウス同系腫瘍モデル系を用いて，免疫原としてのワクチニアウイルス修飾腫瘍細胞がいかなる条件下にある時に安全性と有効性が確保できるかを検討した研究であって，紫外線不活化ワクチニアウイルスで腫瘍細胞を修飾した場合，有効な免疫原性は細胞膜分画にあり，細胞構造が保存されている場合に最も有効に抗腫瘍免疫が誘導されることを明らかにしたものである。今後，腫瘍に対する免疫療法の研究に寄与するところは大きく，学位論文に値するものと考える。