

氏 名 (本籍)	こ 神	や 谷	ひ 英	ひ 彦
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	第	1973	号
学位授与年月日	昭 和 63 年 2 月 24 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
最 終 学 歴	昭 和 53 年 3 月 山口大学文理学部理学科生物学専攻卒業			

学位論文題目 The “double grafted tumor system”, proposed to find effector cells in the analyses of anti-tumor effect of BRMs.
(“二重移植腫瘍系”における抗腫瘍剤の評価とエフェクター機構の解析)

(主 査)
論文審査委員 教授 菅 村 和 夫 教授 橋 武 彦
教授 涌 井 昭

論 文 内 容 要 旨

目 的

これまでにさまざまな抗腫瘍剤の腫瘍内投与による抗腫瘍効果ならびに宿主における免疫誘導作用について検討してきた。その中で免疫療法剤（BRM）で治癒したマウスは同一腫瘍を拒絶するのに対し、化学療法剤で治癒したマウスは増殖抑制を示すものの拒絶は認められず、BRMと化学療法剤では宿主における免疫誘導能に違いのある事を見出してきた。すなわち、BRMには原発巣を治癒させると同時に全身的免疫を誘導する作用を持つ事が明らかである。このような作用を有する薬剤を見出す動物モデルとして“double grafted tumor system”を考案し、各薬剤の作用を比較検討した。

方 法

“double grafted tumor system”（D-tumor）：BALB/C マウスの右、左両側腹部にMeth A 線維肉腫を 1×10^6 個、 2×10^5 個をそれぞれ同時に皮内移植し、薬剤を3日目より右腫瘍（原発巣と想定）内へ投与し、左遠隔腫瘍（取り残し癌あるいは転移巣と想定）の増殖経過を21日目まで観察した。“single separately treated system”（S-tumor）：左側腹部にのみMeth A 細胞を 2×10^5 個を皮内移植し、右側腹部皮下に同一スケジュールで薬剤を投与した遠隔腫瘍、増殖経過を21日目まで観察した。この二つの実験系を用いBRM（PSK, OK 432 IFN α /D）および化学療法剤（MMC, NCS）の左遠隔腫瘍に対する作用を比較検討した。

結 果

D-tumor および S-tumor の両系における左遠隔腫瘍（L-tumor）に対する各薬剤の作用に以下のパターンが見られた。(1)PSK：D-tumor の系においてL-tumor の治療ならびに増殖抑制を認める。しかしS-tumor の系においてはL-tumor に対して何ら影響を及ぼさない。(2)OK 432：PSKと同様にD-tumor の系ではL-tumor に対して増殖抑制（治癒例は認めない）を示し、S-tumor の系では増殖抑制を認めない。(3)IFN α /D：D-tumor の系においては、PSKと同様にL-tumor の治癒ならびに増殖抑制を認める。しかしS-tumor の系においてもL-tumor に対し増殖抑制（治癒例は認めない）を認める。その治癒率ならびに増殖抑制率はD-tumor の系の方が強く現われた。(4)MMC：D-tumor および S-tumor の両系においてL-tumor の増殖抑制を認める（治癒は認めない）。またこの増殖抑制の程度は両系でまった

く同程度で、さらに用量依存的であった。(5)NC S : D-tumor および S-tumor の両系において L-tumor の増殖抑制は認めない。各薬剤で治癒したマウスの spleen リンパ球の *in vivo* エフェクター活性を adoptive transfer による治癒率で比較すると IFN α A/D (4/5, 80%), PSK (6/8, 75%), OK 432 (1/6, 17%) および MMC (2/6, 33%) と各薬剤処置により spleen 中に誘導されるエフェクター活性の強さと本系における遠隔左腫瘍に対する効果との間に相関性が見出された。さらに PSK 処置 spleen では Lyt-1⁺2⁻ T cell がエフェクター活性を担っていることが示された。しかし所属リンパ節リンパ球には *in vivo* エフェクター活性は認められなかった。spleen および左右所属リンパ節細胞の FACS 解析では PSK 処置の有無との関係は細胞数に違いがあるのみで、phenotype の比率に大差は見られなかった。*in vitro* ⁵¹Cr-release assay における spleen およびリンパ節細胞の cytolytic 活性は NK sensitive 細胞である YAC-1 に対しては認めたが、Meth A を含む同系ならびに異種異系のターゲット細胞に対しては活性を示さなかった。本系における M ϕ の関与については silica あるいは carrageenan の i. p. 処置により影響は無く、腹腔内 M ϕ の関与は無いものと考えられる。本系における T cell の関与については athymic nude mice を用いて検討したところ、PSK 処置側腫瘍の治癒も左遠隔腫瘍の治癒も認められず、本系においては T cell の関与が必須であることが示唆された。また血清中には腫瘍増殖に直接関与する様なファクターは認められなかった。PSK 処置固形腫瘍中の腫瘍内浸潤リンパ球にエフェクター活性が認められた。

ま と め

1) D-tumor および S-tumor の比較により化学療法剤と免疫療法剤の作用を明確に区別できた。2) adoptive transfer 実験により各薬剤処置 spleen のエフェクター活性と本系における作用に相関性が見られた。3) 本系における作用機序に T cell の関与が示唆された。4) 所属リンパ節リンパ球は細胞増殖が認められたがエフェクター活性は認められなかった。血中には腫瘍増殖抑制に関与するファクターは認められなかった。腫瘍内浸潤細胞にエフェクター活性を認めた。

以上より本系における遠隔腫瘍に対する作用機序として、腫瘍—リンパ節（抗原を認識した細胞の増殖）—胸管—動脈—脾臓（エフェクター活性の獲得、増殖）—静脈—全身、腫瘍局所（M ϕ を介しての非特異的腫瘍細胞破壊）が考えられる。

審査結果の要旨

如何に固型腫瘍を治癒させ、遠隔地の転移腫瘍の増殖を抑えるかが、癌の治療にとって重要であるかは言をまたない。本論文では新しく考案した動物モデル "double grafted tumor system (D-tumor)" を用いて、免疫賦活剤の原発巣内投与により原発巣を治癒させると共に全身的な腫瘍免疫を誘導させ遠隔地の転移巣をも治癒させることを明らかにした。"D-tumor" とは BALB/c マウスの右側腹部に同系の Meth-A 線維肉腫を 1×10^6 個、左側腹部に 2×10^5 個をそれぞれ同時に皮内接種し、薬剤を3日目より右側の大きな腫瘍（原発巣と想定）内に投与し、投与していない左側遠隔腫瘍（転移巣と想定）の増殖経過を21日目まで観察する方法である。薬剤が直接左側腫瘍までいって効果をあげている可能性があるので対照として、左側腹部にだけ 2×10^5 個の Meth-A 肉腫を接種し、3日目から右側腹部皮下に同一スケジュールで薬剤を投与し、21日間観察する "single separately-treated system (S-tumor)" を用いた。その結果担子菌製剤 PSK は D-tumor 系では左側腫瘍の治癒並びに増殖抑制がみられるのに対し、S-tumor 系では全く増殖抑制が認められず、PSK が完全に宿主に働いて遠隔腫瘍を治癒させていることを示した。同じ免疫賦活剤である溶連菌製剤は右側腫瘍は治癒させるが、左側腫瘍では増殖抑制がやや認められる程度で、抗転移作用は弱いことを示した。また IFN は D-tumor 系では PSK と同様左側腫瘍の治癒並びに増殖抑制が認められ、更に S-tumor 系でも増殖抑制が認められることから、IFN は宿主を介した作用と直接作用の両方から左側遠隔腫瘍の増殖をおさえていることを示した。一方、化学療法剤であるマイトマイシンは D-tumor 系、S-tumor 系両方で全く同程度に左側腫瘍の増殖をおさえていることから、薬剤の直接作用により抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。

更に本論文では特に全身的な腫瘍免疫能を高めることによって遠隔腫瘍を治癒させる PSK に関して、その作用機序を解明している。すなわち PSK を腫瘍内に投与することにより、まず局所リンパ節で Lyt-1 細胞が増加し、引続き脾臓では Lyt-1 細胞が adoptive transfer 実験により Meth-A に対する抗腫瘍エフェクター細胞活性を増強させていることを見出した。更に PSK 処理固型腫瘍内に浸潤しているリンパ球に同様のエフェクター活性があることを見出している。

以上はじめて免疫賦活剤を腫瘍内に投与することにより遠隔腫瘍の増強をも抑えることを見出し、臨床的にも応用できる実験系の開発として、医学博士の授与に値するものと認める。