

氏名(本籍)	いわさきあきお 岩崎明郎(茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博乙第1798号
学位授与年月日	平成14年2月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	マウス膀胱腫瘍モデルを用いた Bacillus Calmette-Guerrin (BCG) の長期抗腫瘍免疫効果の検討
主査	筑波大学教授 医学博士 林 英生
副査	筑波大学教授 医学博士 金子道夫
副査	筑波大学講師 医学博士 坪井康次

論文の内容の要旨

(目的)

表在性膀胱癌に対するBCG膀胱内注入療法は臨床的に確立した治療法である。1976年以来一般的に行われてきた抗癌剤の膀胱内注入療法に比較して、BCGが膀胱癌に対して長期間にわたる再発予防効果を示すことが確認されている。しかしながら、BCGの抗腫瘍効果の本能あるいは作用機序については未だ不明な点が多い。先の報告では、マウス膀胱腫瘍細胞株であるMBT2とBCGを*in vitro*で混合培養するとBCGはMBT2の増殖に直接的な影響を及ぼさないが、時間の経過とともにBCGはMBT2に付着し、さらに細胞内に侵入すること、またMBT2とBCGの混合液を皮下移植したマウスにおいてMBT2の増殖が完全に抑制されることを見いだしている。本論文では、BCGのMBT2に対する抗腫瘍効果の持続性について検討し、この抗腫瘍効果の持続が長期に亘る再発予防効果発現機序に関与していると推察し、その検証を行った。

(材料・方法)

1. マウス膀胱癌細胞MBT2に対するBCGの抗腫瘍効果の測定

実験動物としてC3H/HeNマウス雌を使用した。癌細胞株としてC3Hマウス由来の膀胱移行上皮癌株であるMBT2細胞、ならびに同じくC3Hマウス由来の扁平上皮癌株であるSql1979細胞を供試し、RPMI培地にて5%CO₂存在下で継代培養した。培養細胞の一定数を皮下の接種し、またはMBT2とBCGの混合液をマウス皮下に接種し、腫瘍の増殖は接種後形成された腫瘍の体積を計測し、算出した。BCGはTokyo172株を使用した。

2. 抗腫瘍効果の持続性の測定

MBT2とBCGの混合液接種でMBT2の増殖を抑制あるいは拒絶したマウス個体に対し初回接種後3週間及び5週後にMBT2を再接種し、腫瘍の増殖を計測した。さらにMBT2を*in vitro*にてBCGとあらかじめ混合培養したもの(以下BCG前治療MBT2とした)を使用し、これを、初回接種後4週間あるいは8週後に再接種した。なお、BCG前治療MBT2は、BCGとMBT2とそれぞれ24時間、48時間、72時間混合培養し、MBT2にBCGを加えてすぐに洗い流したものを0時間培養群とした。

3. マウス脾細胞を用いた細胞障害活性の測定

MBT2とBCGの混合液を接種し、腫瘍の増殖を抑制ないし拒絶したマウスより脾細胞を分離し、エフェクター細胞とした。MBT2、BCG前治療MBT2ならびにSql1979を標的細胞とした細胞傷害活性試験をCrystal violet assay

により行った。

(結果)

1. マウス膀胱癌細胞 MBT2 に対する BCG の抗腫瘍効果

MBT2をマウス皮下に接種すると腫瘍は3週目頃から急速に増殖し、4週目では $1.5 \times 10^4 \text{mm}^3$ までの大きさに増殖した。これに対して、MBT2とBCGの混合液を接種したものでは、腫瘍の増殖は全く見られず、増殖は抑制された。

2. 抗腫瘍効果の持続性

BCGとMBT2の混合液接種を受けたマウスに、MBT2細胞のみを単独再接種した場合には、腫瘍の増殖は抑制されず、初回接種と同程度に増殖した。しかし、再接種細胞としてBCGとあらかじめ混合培養したBCG前治療MBT2を接種した場合は、24時間混合培養群、48時間混合培養群、72時間混合培養群では、いずれも腫瘍の増殖が抑制された。0時間培養群では腫瘍は抑制されなかった。なお、BCG前治療MBT2を無処理のマウスに接種した群は腫瘍が生着し、増殖した。

3. マウス脾細胞を用いた細胞傷害活性

MBT2とBCGの混合液を接種し、腫瘍の増殖を抑制・拒絶したマウスから調整した脾細胞は、BCGで前治療を施行したMBT2に対してのみ細胞傷害活性を示し、MBT2、Sql979ならびにBCGで前治療を施行したSql979に対しては細胞傷害活性を示さなかった。

(考察)

現在までにBCG膀胱内注入療法の臨床的ならびに基礎的研究において、BCGが膀胱粘膜にTリンパ球浸潤をもたらし、尿中にインターロイキン-2およびインターフェロン- γ 上昇が認められ、尿路上皮細胞のMHCclass IIの持続的な発現を誘導することが明らかになっている。このことは、何らかの免疫学的機序がBCGによる長期再発予防効果に関与している可能性を示唆している。今回施行したMBT2最接種試験の結果は、BCGのMBT2に対する抗腫瘍効果が持続していること、さらにこの抗腫瘍効果発現のためにはMBT2と共にBCG前治療が必要であることを示唆している。また、MBT2を拒絶したマウス脾細胞を用いた細胞傷害試験の結果から、脾細胞中に抗腫瘍効果を担う担当細胞が存在することが確認された。この機序としてBCGがMBT2に付着し取り込まれることが抗腫瘍効果の必要条件であると考えられた。

(結論)

BCGのMBT2に対する抗腫瘍効果がある程度期間持続している事実が確認された。この機序としては、BCGを取り込んだMBT2細胞に対する細胞性免疫が惹起されることによるもので、MBT2細胞そのものに対するものではないことが考えられた。今後、細菌免疫学的見地からの、BCGの膀胱癌に対する作用機序の研究が重要と考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

表在性膀胱癌に対するBCG膀胱内注入療法は臨床的に確立された治療法であるが、BCGの抗腫瘍効果の本態あるいは作用機序については未だ不明な点が多い。本研究では膀胱腫瘍細胞株であるMBT2をマウス個体に接種し、その増殖を指標に、BCGの免疫的刺激効果について検討している。斬新な新知見をえるまでには至っていないが、BCGが腫瘍細胞内に生存することで、腫瘍細胞が何らかの新しい表層抗原を発現し、それが宿主の脾細胞の細胞毒活性を促進することを示唆する結果を得ていることは、評価できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。