

# 腫瘍の移植免疫に関する実験的研究

京都大学結核胸部疾患研究所外科学部（指導：教授 長石忠三・講師 岡田慶夫）

北 野 司 久

## 〔内 容 抄 録〕

実験動物を腫瘍組織で感作したのち、同じ腫瘍を再移植すると、移植腫瘍の発育に対する抵抗性が招来されることが報告されている。

そこで、著者は、そのような抵抗性が動物の部位の如何により異なるかどうか、また、どのような機構により抵抗性が招来されるか等の問題を解明しようとして本研究を行なった。

実験動物としては、DDD-系およびC3Hのマウスを用い、それらを宿主として継代移植したEhrlich腹水癌および同系統に発生せしめたMethylcholanthrene腫瘍の移植免疫について検討した。

第1篇では、Ehrlich腹水癌で全身性に感作したマウスでは、同じ腫瘍の再移植に対する発育抑制現象が招来されること、および局所性感作の場合には、発育抑制現象が動物の部位により異なることを、リンパ節内移植法により証明した。この現象には、リンパ球の関与が重大意義を持つと考えられる。

そこで、第2篇では、著者が考案した独自のDiffusion Chamberを用い、Ehrlich腹水癌で全身性に感作したマウスに同じ腫瘍を移植する場合にみられる発育抑制現象は、主としてリンパ球を担い手とする細胞性抗体によるものなることを証明した。しかし、リンパ球の腫瘍細胞への直接的な接触がみられない場合でも、腫瘍細胞の発育抑制現象が認められる。

つぎに、第3篇では、ChemotumorであるMC腫瘍

で全身性に感作したマウスでは、同じ腫瘍の再移植に対して発育抑制現象が招来されること、および局所性感作の場合の抑制効果は動物の部立により異なることを重ねて証明した。一方、このような現象に関与するものとしては、免疫学的因子、すなわち、iso-antibodyが考えられ、その担い手としては移植部の組織学的所見からリンパ球を重視すべきであるとの結論に達した。

さらに、第4篇では、Diffusion Chamber法を用い、MC腫瘍で全身性に感作したマウスに同じ腫瘍を移植する場合にみられる移植腫瘍の発育抑制現象は、リンパ球を担い手とする細胞性抗体による免疫現象であることを証明した。リンパ球の腫瘍細胞への直接的な接触がみられない場合でも、移植腫瘍の発育抑制現象が認められることは第2篇と同様である。

以上により、実験動物を腫瘍組織で全身性または局所性に感作する場合には、腫瘍の移植免疫が全身性または局所性に成立すること、そのような免疫現象には、リンパ球を担い手とする細胞性抗体がつよく関与することが明らかになった。

しかし、リンパ球が直接腫瘍細胞に接触しない場合でも移植腫瘍の発育抑制現象が認められた事実から、感作リンパ球は、標的細胞に直接的に密着してこれを破壊するだけでなく、いわゆる拡散物質を放出することによっても、同様の作用を営むものと考えられる。

## 〔第1篇〕 Ehrlich癌のマウスの皮下ならびにリンパ節内移植 に対する免疫の影響

### 〔目 次〕

緒 言

第1章 実験材料ならびに実験方法

第2章 実験成績

I. Ehrlich癌の移植に対する全身性感作の影響

A 背部皮下に移植する場合

- B リンパ節内に移植する場合
  - C 感作動物における血清の変化
  - D 感作動物におけるリンパ性臓器の変化
  - E 感作リンパ球と腫瘍細胞とを混じて移植する場合
- II. Ehrlich 癌の移植に対する局所性感作の影響
- A  $^{60}\text{Co}$  を照射した Ehrlich 癌で予め局所感作を行なった場合の抗移植性
  - B 生きた Ehrlich 癌で予め局所感作を行なった場合の抗移植性

第3章 綜括ならびに考按

結論

## 緒 言

腫瘍に特異的な抗原が存在することは Foley<sup>19)</sup> により初めて指摘せられ、その後 Prehn<sup>44)</sup>, Révész<sup>47)</sup>, Klein<sup>35), 36)</sup> 等により確かめられている。

Foley<sup>19)</sup> は、C3H マウスの皮下に Methylcholanthrene を接種して腫瘍を作り（以下これを MC 腫瘍と略称する）、これを中枢側で皮膚とともに緊縛することにより腫瘍が萎縮し、マウスは自己の MC 腫瘍に対して免疫性を獲得することを知った。しかし、同様な操作を行なっても、C3H-系マウスの乳癌の場合には免疫は成立しなかったという。同じ頃、J. C. Fardon および J. E. Prince<sup>29)</sup> もまた、マウスの乳癌に同様な操作を行なっているが、宿主マウスに腫瘍免疫を獲得せしめることはできなかったという。

また、Klein<sup>35)</sup> は、マウスの足に作った MC 腫瘍を切除し、これに大量の X 線を照射したものをマウスに反復注射して免疫を獲得せしめている。そして、同系統の純系動物に継代移植して保存してあった MC 腫瘍をこの個体に移植すると明らかに抗移植がみられることを指摘している。

その後、D. E. Weiss<sup>64)</sup> P. Alexander<sup>1)</sup>, M. E. Phillips<sup>43)</sup> 等の実験により、腫瘍組織で感作したマウスでは、その腫瘍の再移植のさいに抗移植性がみられることが重ねて証明されている。

著者は、Ehrlich 腹水癌により予め感作されたマウスが、その腫瘍の再移植のさいに抗移植

性を示すか否か、いいかえると、再移植された Ehrlich 腹水癌の発育が何等かの免疫学的機構により抑制されるか否かについて検討し、併せて発育抑制に抗体がどのように作用するかについても分析的に検討した。

## 第1章 実験材料ならびに実験方法

1) 実験動物：京大純系動物センターから供給された DDD-系および C3H-系マウスで、体重 20~25 gm、生後 2 カ月のものを使用した。

2) 移植腫瘍：大阪大学微生物研究所から供与された Ehrlich 腹水癌を使用した。本腫瘍は、DDD-系および C3H-系マウスの腹腔内に、1 週間毎に継代移植して保存し、感作や再移植には腹腔内移植後 1 週間のものを用いた。なお、Ehrlich 癌で予め感作されていない場合には、マウスは同癌の腹腔内移植後 10~14 日、平均 12 日で腫瘍死している。

3) 動物の感作：感作に用いる抗原としては、同じ系統のマウスに継代移植した Ehrlich 腹水癌細胞を用いた。

採取した Ehrlich 腹水癌細胞を、0.5%ヘパリン加生理食塩水で 4 回洗滌したのち、京都大学化学研究所  $^{60}\text{Co}$  の照射装置（毎秒約 30 R）を用いて 15,000 R 照射したものに、等量の生理食塩水を加えてホモジナイズし、これを抗原液とした。

感作は、1 回量 0.15~0.2 cc の抗原液を腹腔および背部皮下に分注することにより行なった。局所的な感作の目的には、抗原液 0.15 cc を右側大腿および右側足蹠に分注する方法を試みた。このような操作を週 1 回、連続 4 週間行ない、最終注射後 1 ないし 2 週間目に、Ehrlich 癌細胞の移植を行ない、その抗移植性について検討した。

4) 移植および採血：背部皮下に移植する場合には、非麻酔下で目的とする部位に腫瘍細胞を移植した。リンパ節内に移植する場合には、ラボナールの腹腔内注射による全身麻酔下で、目的とする部位に皮膚切開を加えて肘リンパ節または鼠蹊リンパ節を露出せしめ、ツベルクリン注射器で腫瘍細胞を移植した。実験に適した移植腫瘍の細胞数を定める目的で、種々の個数の腫瘍細胞を健常マウスの背部皮下や鼠蹊リンパ節内に移植して検討した。これにより、マウスを腫瘍死せしめることなく 4 週間以上にわたって腫瘍の成長を観察するには、皮下移植の場合には  $10^7$  個の腫瘍細胞の移植が、リンパ節内移植の場合には  $10^3$ ~ $10^4$  個の腫瘍細胞の移植が適当であることを知った。

採血は、尾部血管の切断あるいは心臓穿刺より行なった。

5) 成績の判定：抗移植性効果の判定は、実験動物の生存日数、腫瘍の成長曲線および移植後4週間目に摘出した腫瘍の重量でもって行なった。腫瘍の成長曲線は、腫瘍の長径および短径の平均値の径時的消長でもって表わした。摘出標本については、重量を測定したのち、型のようにしてホルマリン固定を行ない、パラフィンで包埋して、組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して、組織学的に検討した。

一方、オートラジオグラフ<sup>6)</sup>による検索にあたっては、日本放射性同位元素協会から購入した<sup>3</sup>H-thymidine を用いた。

血清分画は、濾紙電気泳動法により血清蛋白を分画し、デンストメーターにより測定して、A/G 値その他を決定した。

## 第2章 実験成績

### I Ehrlich 癌の移植に対する全身性感作の影響

#### A 背部皮下に移植する場合

##### 1) 感作による延命効果

抗原液を週1回、連続4週間投与して全身性に感作した DDD-系 マウス 6 匹を感作群とし、

生理食塩水のみを注射した DDD-系マウス 6 匹を対照群とした。10<sup>7</sup> 個の腫瘍細胞を両群のマウスの背部皮下に移植する場合の両群の生存日数および腫瘍の成長曲線は、表 1 の通りである。

対照群では 3 週間前後にすべてのマウスが腫瘍死しているにもかかわらず、感作群では全例が 6 ~ 7 週間生存しており、本実験により明らかに延命効果が認められた。また、感作群の中には移植腫瘍があまり増大せず、3 カ月間も生き延びたもの(表 1 の鎖線)がみられた。それらは 3 カ月目に屠殺して剖検した。

#### 2) 腫瘍の発育に対する抑制効果

1)と同様な方法で全身性に感作したマウスの背部皮下に、10<sup>7</sup> 個の腫瘍細胞を移植し、その後 4 週間にわたって観察したのちに動物を屠殺して、それぞれの体重および腫瘍の重量を測定した。その結果は、表 2 の通りである。

感作群および対照群では、腫瘍の平均重量はそれぞれ 2.17 gm および 5.07 gm で、両者の間に明らかな差違が認められる。腫瘍の重量と体重との比率をみても、両群の平均値は、それぞれ0.08および0.19となっている。すなわち、

表 1 全身性に感作した場合における背部皮下移植の成績

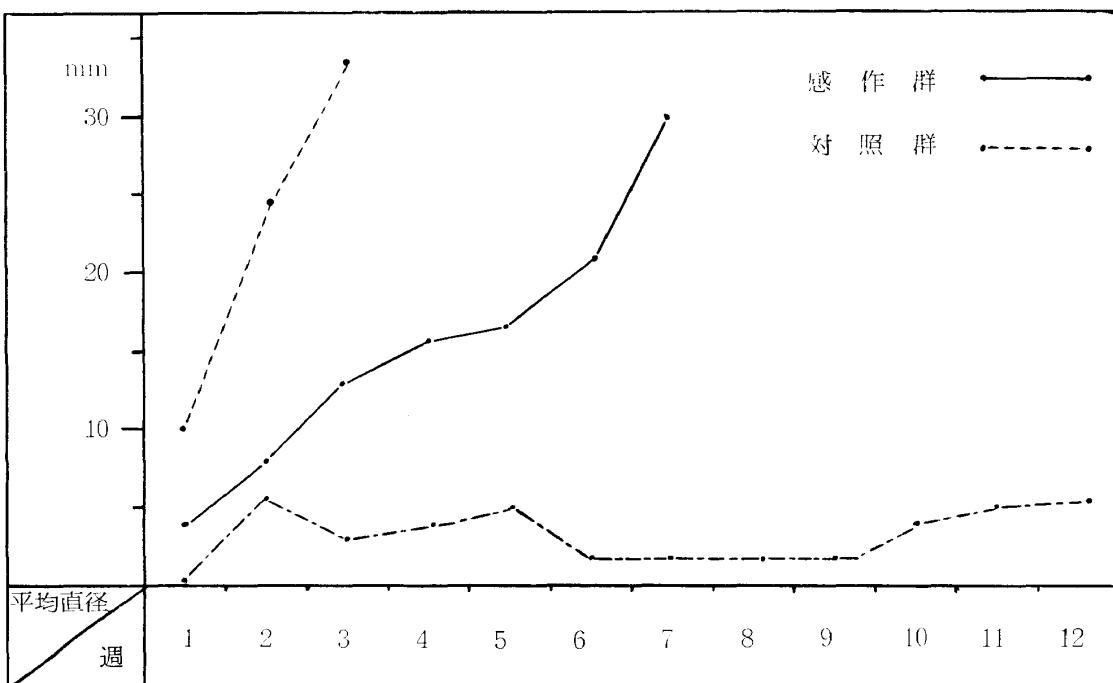


表2 全身性に感作した場合における背部皮下移植の成績

	マウス番号	腫瘍の重量	体 重	腫瘍の重量/体重
感 作 群	1	2.51	25.00	0.10
	2	2.33	23.92	0.09
	3	1.48	28.61	0.05
	平均	2.17	25.84	0.08
対 照 群	1	5.74	32.27	0.18
	2	8.78	31.42	0.28
	3	3.50	25.25	0.14
	4	5.00	31.20	0.16
	平均	5.07	30.03	0.19

単位：gm

Ehrlich 癌で予め全身性に感作された群では、対照群に比べて再移植された同腫瘍の発育に対する抑制効果が認められる。

3) 移植腫瘍の組織像

対照群では図1のように、背部皮下に移植された腫瘍細胞は石垣状に密に配列しており、間質に乏しい。腫瘍が成長増大すると中心壊死が招来されることが多い。これに対し、感作群では、移植された腫瘍細胞の配列は疎であり、細胞間の間質も豊富で、局所的にリンパ球の浸潤が認められる。図2は、感作群のうち、延命効果や腫瘍の発育抑制効果が最も著明に認められたものの組織像で、腫瘍細胞の配列は疎であり、

間質も豊富である。腫瘍細胞のなかには、異常な細胞分裂により形成されたと思われる巨細胞が多数認められる。また、腫瘍塊の週辺部のみならず、中心部附近でも、リンパ球の著明な浸潤がみられ、あたかもリンパ球の細胞群のなかに腫瘍細胞の集団が島嶼状に散在しているかのような像を呈している。

以上のように、Ehrlich 癌の背部皮下への移植のさいには、全身性に感作した動物では明らかな抗移植性がみられ、組織学的には腫瘍部におけるリンパ球の著明な集積が認められる。

B リンパ節内に移植する場合

1) 全身性感作動物のリンパ節内に移植する場合の抗移植性

週1回、連続4週間にわたって Ehrlich 癌を注射し、全身性に感作した DDD-系マウスを用いた。感作の終了後、鼠蹊リンパ節や肘リンパ節内に、 $10^3$  個の腫瘍細胞を移植し、4週間後に腫瘍の有無を検し、重量を測定した。その成績は表3の通りである。

対照群では10個所の移植部のうち6カ所に移植が成立したが、感作群では移植の成立したものは1例もみられなかった。

同様の実験を、さらに C3H マウスの左右の鼠蹊リンパ節を用いて行なった。その成績は表4の通りである。

対照群では16個のリンパ節内に移植したとこ

表3 全身性に感作した場合におけるリンパ節内移植の成績

	移植部位	マウス番号	1	2	3	4	5	腫瘍の発生率	腫瘍の平均重量
感 作 群	鼠 蹊 リンパ節	腫瘍の有無	(-)	(-)	(-)	(-)		0/8	0
		腫瘍の重量	.030	.034	.036	.026			
	肘 リンパ節	腫瘍の有無	(-)	(-)	(-)	(-)			
		腫瘍の重量	.024	.023	.029	.025			
対 照 群	鼠 蹊 リンパ節	腫瘍の有無	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	6/10	0.378
		腫瘍の重量	.535	.032	.113	.314	.062		
	肘 リンパ節	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)		
		腫瘍の重量	.305	.348	.656	.029	.034		

単位：gm

表 4 全身性に感作した場合における左右鼠蹊リンパ節内移植の成績

		マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	8	腫瘍の発生率	腫瘍の平均重量
感 作 群	左 側	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	4/16	0.360
		腫瘍の重量	.476	.282	.214	.042	.020	.047	.046	.032		
	右 側	腫瘍の有無	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)		
		腫瘍の重量	.053	.032	.049	.043	.022	.471	.039	.030		
対 照 群	左 側	腫瘍の有無	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	12/16	0.750
		腫瘍の重量	.647	.042	.932	.083	.518	.022	.663	1.200		
	右 側	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)		
		腫瘍の重量	.677	.574	.605	.950	.657	.023	.019	1.500		

単位：gm

る、12個(75%)に移植が成立したにもかかわらず、感作群では16個中、僅か4個(25%)に移植が成立したにすぎない。移植腫瘍の重量平均は、対照群では0.75 gm. であるのに対し、感作群では0.36 gm. であり、後者では明らかに発育抑制効果が認められた。

以上により、リンパ節内に腫瘍を移植する場合にも感作動物では明らかに抗移植性がみられることが判明した。

2) 皮下に移植する場合との比較

リンパ節内に移植する場合と同様に、全身性に感作した DDD-系マウスを用い、その背部の皮

表 5 皮下移植と鼠蹊リンパ節内移植との比較

		マウス番号	皮下腫瘍	リンパ節腫瘍
感 作 群	1	1.1	1.2	
	2	0.8	1.6	
	3	1.6	1.7	
	4	0.6	1.2	
	平均	1.02	1.44	
対 照 群	1	2.3	2.8	
	2	0.9	2.4	
	3	0.3	1.7	
	4	0.7	1.8	
	平均	1.06	2.06	

単位：gm.

下や鼠蹊リンパ節内に、それぞれ  $10^4$  個の腫瘍細胞を移植し、両者の発育状態を比較検討した。その成績は表 5 の通りである。

感作群、対照群ともに、リンパ節内へ移植された腫瘍の方が、皮下へ移植されたそれに比べて、成長がよいようである。とくに、対照群では、皮下腫瘍の成長に比べて、リンパ節腫瘍の成長速度ははるかに速やかである。

リンパ節内に移植された腫瘍についてみると、感作群および対照群の腫瘍の重量の平均は、それぞれ 1.44 gm および 2.06 gm であり、感作群の腫瘍の発育は、対照群の場合に比べて強く抑制されることが判明した。

3) 移植腫瘍の組織像

図 3 a のように、移植された腫瘍細胞はリンパ節の中央部であって、周囲のリンパ組織内に向って浸潤性に増殖している。リンパ球が腫瘍の周囲を取りかこんでおり、腫瘍の中心部は壊死におちいっていることが多く、腫瘍の周辺部に近づくにしたがって生活力の旺盛な腫瘍細胞が多くみられ、さらに末端部では図 3 b のように、腫瘍細胞がリンパ組織内に向って浸潤性に増進している。

感作群における移植腫瘍とリンパ組織との接触部では、図 4 および図 5 のように、腫瘍細胞の配列は疎となり、その間に間質の増殖やリンパ球の強い浸潤が認められる。症例によって

は、腫瘍細胞の異常分裂により巨核の細胞が形成されている。

これに対し、対照群の場合には、**図6**のように、腫瘍細胞が石垣状に密に配列しており、腫瘍細胞間にリンパ球が浸潤している所見はほとんど認められない。

以上の1), 2), 3)の成績から判るように、全身性に感作した個体のリンパ節内に Ehrlich 癌を移植する場合にも明らかに抗移植性が認められる。このような抗移植性は皮下移植の場合におけるものと同様な機構によるものと考えられる。

C 感作動物における血清の変化

Ehrlich 癌による感作により血清蛋白の如何なる分画が変動するかを濾紙電気泳動法により検討した。

グロブリン分画は、腫瘍形成、炎症、壊死、組織崩解などの種々の条件に影響されるものと思われる。この関係から、対照群としては、無処置の正常群および背部皮下に Ehrlich 癌を移植した担癌群の2群を設定した。

血清蛋白分画については、**図7**のように、感作群や担癌群では、正常群に比べて、アルブミンの減少や  $\gamma$ -グロブリンの著明な増加が認められる。 $\alpha$ -および  $\beta$ -グロブリンは正常値を示すか、またはやや増加している。ことに、感作群では、この傾向は著るしく、各群の A/G 比

表6 血清の変化 (A/G 値)

感作群		担癌群		正常群	
マウス番号	A/G 値	マウス番号	A/G 値	マウス番号	A/G 値
1	0.63	1	0.70	1	1.62
2	1.06	2	0.92	2	0.97
3	0.96	3	1.00	3	0.85
4	0.37	4	0.63	4	1.12
5	0.78	5	0.52	5	0.82
6	0.51	6	0.42	6	1.19
7	0.37	7	1.09	7	0.87
8	0.65	8	1.10	8	1.14
9	0.78	9	1.07		
10	0.56	10	1.02		
平均	0.65	平均	0.85	平均	1.07

の平均値は、**表6**のように、感作群では最も低く、0.65で、担癌群では0.85、正常群では最も高く、1.07である。

D 感作動物におけるリンパ性臓器の変化

感作動物におけるリンパ性臓器の細胞分裂の頻度を知る目的で、 $^3\text{H}$ -thymidine の labeling index を求めた。

まず、対照として、正常マウスの静脈内または腹腔内に、 $^3\text{H}$ -thymidine を注射して、各臓器における labeling index を求めた。それによると、リンパ性臓器(胸腺、脾臓、リンパ節、骨髄)に最も多くとりこまれ、ついで肝臓、腎臓に多く、脳や心筋にはほとんどとりこまれないようである。

つぎに、Ehrlich 癌を注射した感作マウスおよび生理食塩水のみを注射した非感作マウスの腹腔内に、 $0.5\sim 1.0\mu\text{c}/\text{gr}$  の  $^3\text{H}$ -thymidine を1回注射し、脾臓や鼠蹊リンパ節におけるリンパ球の labeling index を求めたが、感作群と非感作群との間には著明な差は認められなかった。ただし、臓器による差があるようであり、リンパ性臓器のなかでもリンパ節よりも脾臓の方が labeling index が高く、 $15\sim 20\%$ を示し、リンパ節の方は $5\sim 10\%$ であった。この値は、繰返して  $^3\text{H}$ -thymidine を注射することにより10%内外上昇せしめることが出来る。**図8**は脾臓のオートラジオグラフである。多数の胸腺型リンパ球(弱くラベルされたもの)に混って、リンパ節型リンパ球(強くラベルされたもの)が僅かながら認められる。**図9**はリンパ節のオートラジオグラフである。脾臓の場合に比べて、リンパ節型リンパ球が多く認められる。labeling index は脾臓のものよりは低い。

E 感作リンパ球と腫瘍細胞とを混じて移植する場合

**表7**のように実験群を設定した。

リンパ球様細胞としては、脾臓からのもの(これをMと略称)と鼠蹊リンパ節からのもの(これをLと略称)との2種を使用した。細胞数としては、 $6.13\times 10^6$ 個と $6.13\times 10^5$ 個との二つの場合について実験を行なった。腫瘍細胞についても、 $1\times 10^3$ 個の場合と $1\times 10^5$ 個の場合

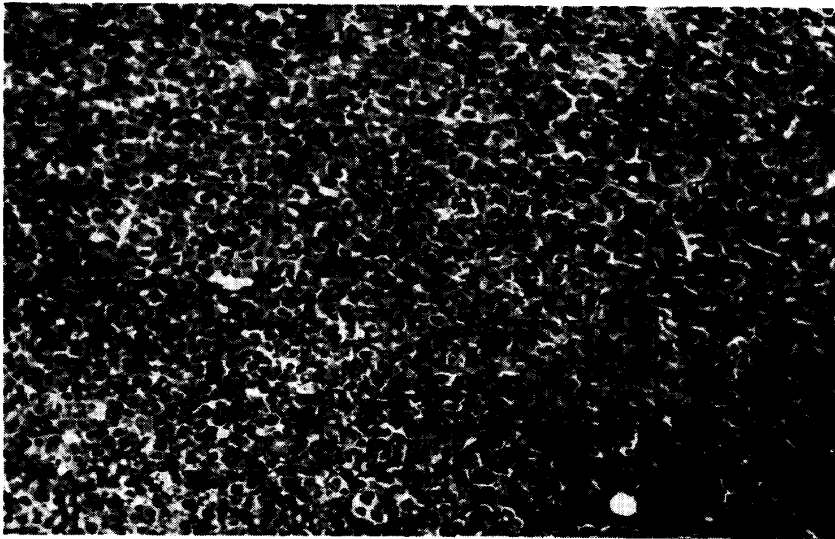


図1 対照群（非感作群）の背部皮下に移植された腫瘍。腫瘍細胞が石垣状に密に配列している。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

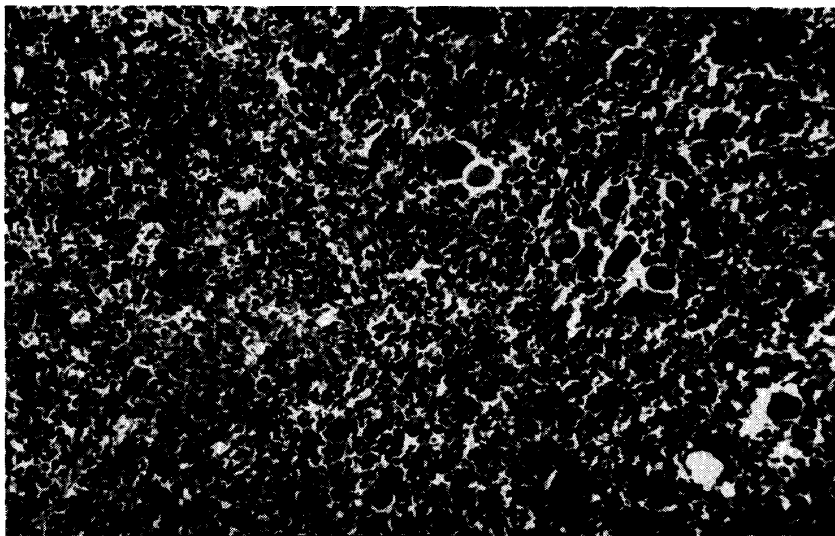
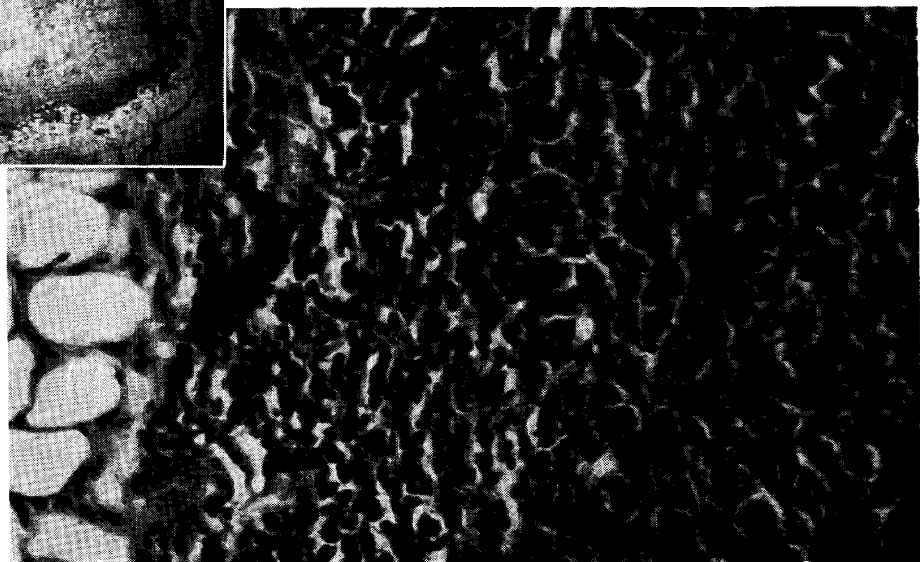


図2 全身性に感作したマウスの背部皮下に移植された腫瘍。腫瘍細胞の配列が疎となり、リンパ球の浸潤が強い。また、腫瘍細胞由来の巨細胞が多数認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)



図3 (a)リンパ節内の移植腫瘍。薄く染まった中央部が移植腫瘍の中心壊死であり、その周囲を腫瘍細胞がとり囲み、最外側は濃く染まったリンパ球である。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×2.5), (b)(a)の強拡大で、周辺のリンパ球は腫瘍組織(右側)内に侵入しており、巨核の腫瘍細胞を認める。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)

(a)



(b)

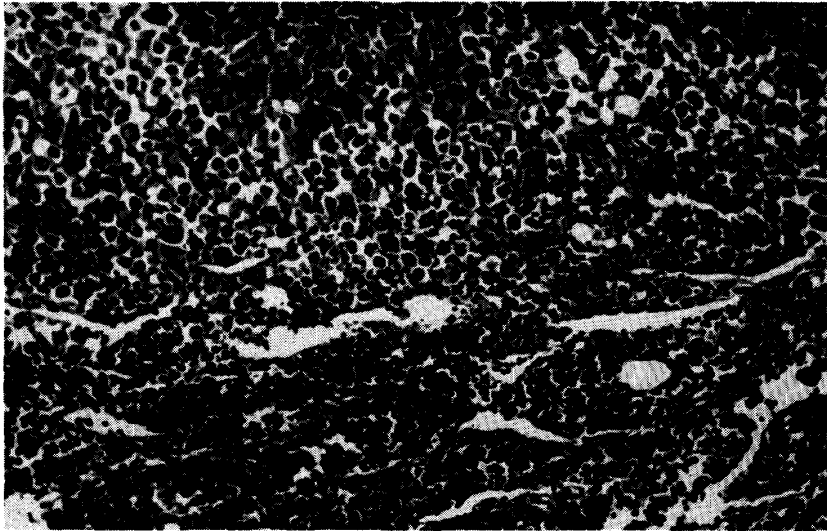


図4 感作群のリンパ節内に移植された腫瘍。上半分は腫瘍細胞群でリンパ球の接触部において腫瘍細胞の配列は疎となり、リンパ球浸潤が著明である。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

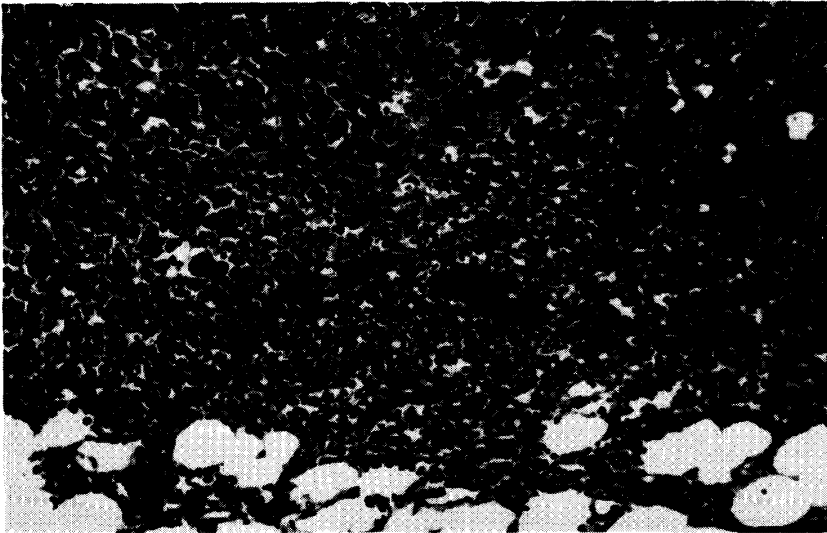


図5 感作群のリンパ節内に移植された腫瘍。左上部が腫瘍細胞。右下部がリンパ節組織で、白く抜けている部分は脂肪組織である。核のみが異状に大きくなった腫瘍細胞も見られ、腫瘍組織の中にリンパ球がかなり多く浸潤している。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

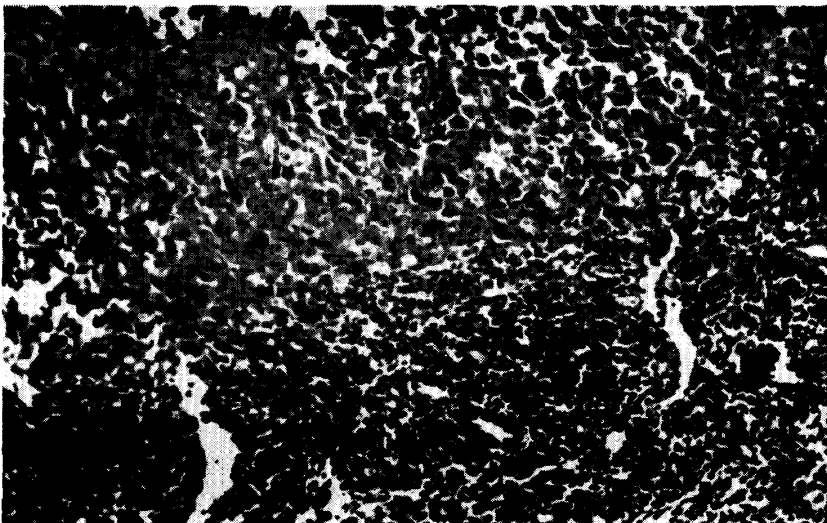


図6 対照群(非感作)のリンパ節内に移植された腫瘍。上部は腫瘍組織で、下部はリンパ節組織である。腫瘍組織内へのリンパ球の浸潤は殆んど認められない。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)



**表7** 感作リンパ球様細胞と腫瘍細胞とを混じて移植した場合の成績

	腫瘍細胞数	リンパ球様細胞の種類及びその細胞数	腫瘍発生率
実験群	1×10 <sup>3</sup>	M 6.13×10 <sup>6</sup>	0/4
	1×10 <sup>3</sup>	M 6.13×10 <sup>5</sup>	0/4
	1×10 <sup>3</sup>	L 6.13×10 <sup>6</sup>	2/4
	1×10 <sup>3</sup>	L 6.13×10 <sup>5</sup>	2/4
	1×10 <sup>5</sup>	M 6.13×10 <sup>6</sup>	4/4
	1×10 <sup>5</sup>	M 6.13×10 <sup>5</sup>	4/4
	1×10 <sup>5</sup>	L 6.13×10 <sup>6</sup>	4/4
	1×10 <sup>5</sup>	L 6.13×10 <sup>5</sup>	4/4
対照群	1×10 <sup>3</sup>	生理食塩水	3/4
	1×10 <sup>5</sup>	生理食塩水	4/4

M：脾臓， L：リンパ節

についてそれぞれの実験を行なった。

それらの成績は、表7の通りで、10<sup>3</sup>個の腫瘍細胞を脾臓由来のリンパ球様細胞と混じて移植する場合には、リンパ球数が6.13×10<sup>6</sup>個のときにも、6.13×10<sup>5</sup>個のときにも、腫瘍の発生はみられなかった。鼠蹊リンパ節由来のリンパ球様細胞と混じて移植する場合には、いずれの細胞数のときでもそれぞれ4匹中2匹に腫瘍の発生をみた。

一方、10<sup>5</sup>個の腫瘍細胞を移植する場合には、脾臓由来あるいはリンパ節由来のいずれのリンパ球様細胞と混じて、あるいは、リンパ球数が6.13×10<sup>6</sup>個のときであっても、6.13×10<sup>5</sup>個のときであっても、2～3週間のうちに、全例に腫瘍の発生をみた。

同じ感作リンパ球様細胞であっても、脾臓由来のものの方がリンパ節由来のものよりも、腫瘍の発育をよりつよく抑制することが判明した。

## II Ehrlich 癌の移植に対する局所性感作の影響

### A <sup>60</sup>Co を照射した Ehrlich 癌で予め局所感作を行なった場合の抗移植性

局所の感作により、所属リンパ節と他のリンパ節との間に抗移植性に差がみられるか否かについて検討した。

まず、DDD-系マウスの右側大腿や右側足蹠に、抗原液 0.15 cc を、週1回あて、連続4週間にわたって注射して感作した。そして、感作した側の鼠蹊リンパ節内と感作しなかった肘リンパ節とに、それぞれ10<sup>3</sup>個の腫瘍細胞を移植して、それらの部位における腫瘍の発育状態を比較観察した。その成績は表8の通りである。

<sup>60</sup>Coの照射を受けて生活力を失った腫瘍で感作する場合には、感作局所の所属リンパ節とその他のリンパ節との間には、抗移植性の差はほとんど認められない。

### B 生きた Ehrlich 癌で予め局所感作を行なった場合の抗移植性

一般に死滅した細胞で感作する場合よりも、生きた細胞で感作する場合の方が、抗体価の上昇がより著るしいと考えられるので、生きた腫

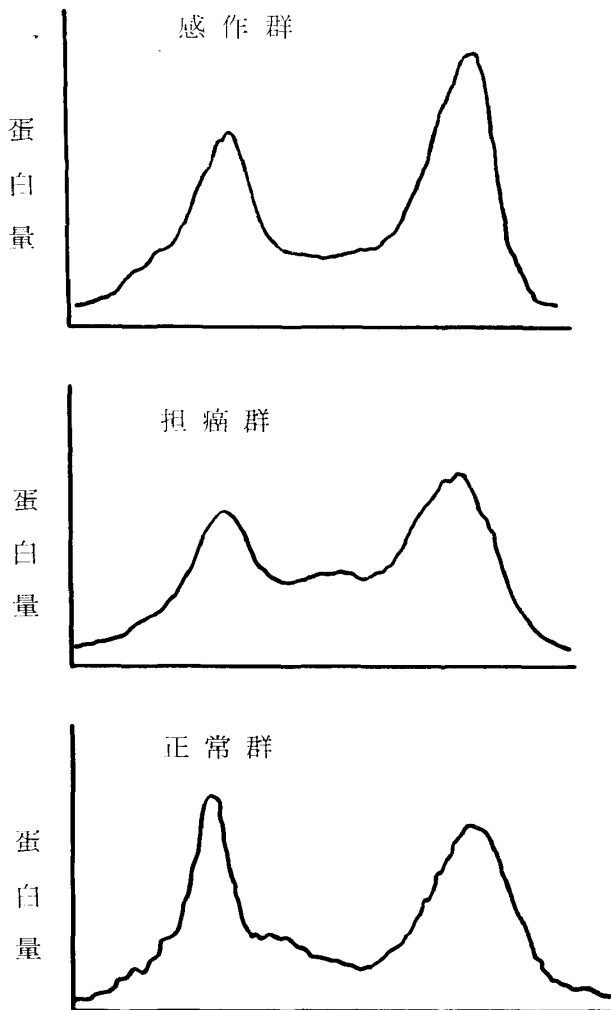


図7 浮紙電気泳動法による血清蛋白分画

表 8  $^{60}\text{Co}$  照射 Ehrlich 癌で感作した場合における所属リンパ節内移植の成績

移植部位	マウス番号	1	2	3	4	腫瘍重量の平均
鼠蹊リンパ節 (感作部位)	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(+)	2.93
	腫瘍の重量	2.32	2.62	3.20	3.58	
肘リンパ節 (非感作部位)	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(+)	2.25
	腫瘍の重量	2.06	1.75	1.78	3.41	

単位 : gm

瘍細胞で感作する場合についても検討した。

DDD-系マウスの右側足蹠に生きた Ehrlich 癌細胞  $10^6$  個を移植し、10日目に移植が成立したことを確かめたのち、右足を切断し、さらに3日後に、両側鼠蹊リンパ節に  $10^3$  個の腫瘍細胞を移植した。表9はその成績である。

感作側、対照側のいずれにおいても、8個所

中3個所に移植が成立した。しかしながら腫瘍の大きさを比較すると、感作側および対照側の腫瘍の重量の平均は、それぞれ 0.139 gm および 0.392 gm であり、対照側の腫瘍の重量は約3倍となっている。このような成績から、感作側のリンパ節では、腫瘍の増殖を抑制する何等かの機転が働くものと考えられる。

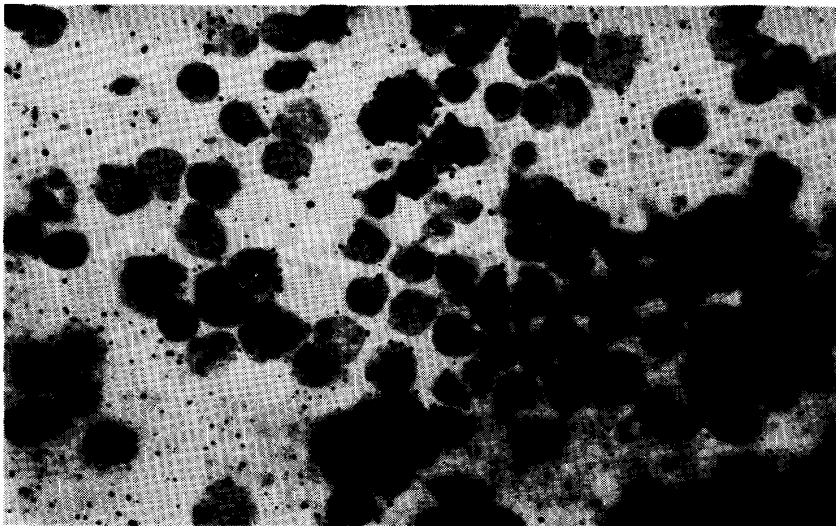


図8 感作した脾臓のスミアのオートラジオグラフ。かなり多数の胸腺型リンパ球の中にリンパ節型リンパ球(写真の上部)が1個存在している。Harris の Hematoxylin-Eosin 染色。  
(対物レンズ×20)

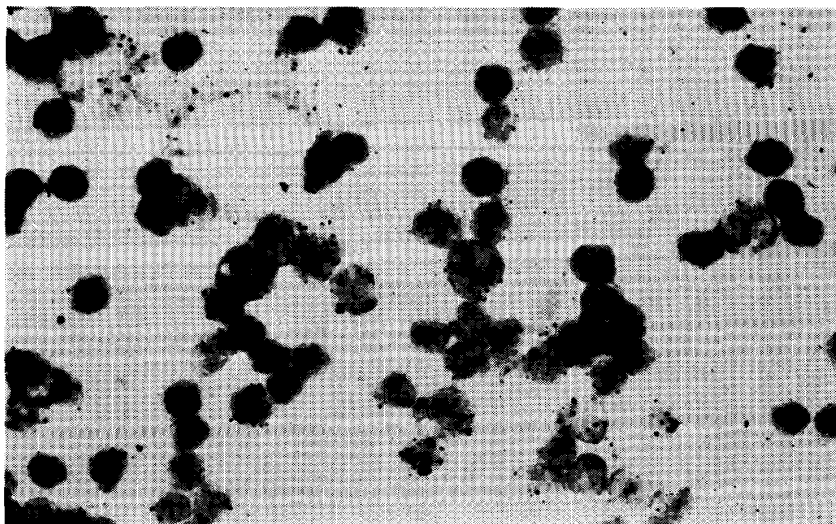


図9 感作した鼠蹊リンパ節のスミアのオートラジオグラフ。 $^3\text{H}$ -thymidine をとりこんだ胸腺型リンパ球は減り、逆にリンパ節型リンパ球が多い。Harris の Hematoxylin-Eosin 染色。  
(対物レンズ×20)

表 9 生きた Ehrlich 癌で感作した場合における所属リンパ節内移植の成績

マウス番号		1	2	3	4	5	6	7	8	腫瘍発生率	腫瘍重量の平均値
感作側 リンパ節	腫瘍の有無	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	3/8	0.139
	腫瘍の重量	.115	.035	.032	.036	.032	.168	.136	.027		
非感作側 リンパ節	腫瘍の有無	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	3/8	0.392
	腫瘍の重量	.502	.028	.242	.031	.023	.029	.434	.032		

単位：gm

### 第3章 総括ならびに考按

1) 腫瘍の移植免疫：腫瘍の移植免疫の研究は古くから、広く行なわれているが、本研究が始まったのは、1906年に、Ehrlich<sup>18)</sup> が動物実験で腫瘍の移植が失敗し、同一の腫瘍を再移植したところ、動物が強い抵抗性ないし免疫性 (immune) を示したと報告してからである。以来、この現象の理論や応用について多くの人々から注目されるようになっていく。

Haaland<sup>25)</sup> (1909), Contamin<sup>16)</sup> (1910), Mottran & Russ<sup>40)</sup> (1917), Chamber & Scott<sup>15)</sup> (1922), Goldfeder<sup>22)</sup> (1954) らは、X線で予め照射した腫瘍組織を動物に移植することにより、同一腫瘍の再移植のさいに強い抵抗性を作り得ることを報告している。

Révész<sup>46,47)</sup> (1955, '60) は Ehrlich 癌の発育にあたって、X線照射を行なった腫瘍細胞がこれにどのような影響を及ぼすかをみるために、生きた Ehrlich 癌の細胞とX線を照射した癌細胞との混合物をマウスの背部の皮下に移植して、その発育状態を観察した。5,000 R を照射した癌細胞は、Ehrlich 癌の発育に対して、ときには抑制的に働き、ときには促進的に働くようである。Ehrlich 癌の細胞の増殖が盛んでない場合には、抑制的に作用するのであって、これは動物の“immunization”によると考えられている。一方、癌細胞の増殖が盛んな場合には、促進的に作用するのであって、これは <sup>60</sup>Co 照射で死滅した癌細胞が腫瘍の発育を刺激する物質を放出するか、あるいは、照射後に生活力を回復した癌細胞が増殖するためであると、考えられている。

その後、Donaldson & Mitchell<sup>17)</sup> (1959) らは、Swiss 系マウスをX線照射 Ehrlich 癌細胞で感作することにより同じ腫瘍の再移植のさいに、免疫動物の生存期間を延長せしめうることを、その効果は Pre-immunization においてより著明であるが、Post-immunization ではあまり意味がないこと、および 4,000 R 以上のX線照射を行なった Ehrlich 癌細胞は分裂増殖しないこと等を指摘している。

Mckee, Garcia, Troek, Schultz<sup>38)</sup> (1959) らは、Ehrlich 腹水癌細胞にX線を2,000~8,000R照射して生活力を減弱せしめた癌細胞を、C57 BL マウスの腹腔内に注射することにより感作すると、その後同じ腫瘍を再移植するさいに、強い抵抗性がみられることを見つけている。しかし、再移植のさいに完全な抵抗性を発現せしめるためには、照射細胞の注射を、少なくとも5回以上行なうこと、および2,000~8,000R照射癌細胞の1割は生活力を回復して増殖を始め、マウスを倒すことがあることを指摘しており、さらに、抵抗性を示す因子は補体結合反応で測定出来る抗体であると述べている。

著者は、Ehrlich 癌細胞に予め <sup>60</sup>Co を15,000R照射したホモジネートを用いて動物を4回感作し、その免疫動物に腫瘍細胞を移植するさいの増殖態度を示標として、抗移植性の分析を試みた。その成績は、表1および表2の通りである。腫瘍の背部皮下移植にあたって全身性に感作した免疫動物では明らかに抗移植性が存在していることが判明したわけである。

2) 抗体の性状：前述の諸実験により腫瘍の移植免疫の成立が証明されたが、それではどの

ような抗体が作用して抗移植性を示すのであろうか。

Klein<sup>34)</sup> は、Methylcholanthrene でマウスに肉腫を作り、血清を含まない感作リンパ球細胞は、*in vitro* では、肉腫細胞と中和反応を呈したと報告している。その後、さらに Sjögren<sup>35)</sup> とともに、同種移植や同系移植のさいに、感作リンパ球と肉腫細胞を *in vitro* で incubate したのち、その肉腫細胞をマウスに移植して抗移植性が生ずることを認め、この免疫反応には細胞性因子 (Cellular factor) が関与しているといっている。

Alexander<sup>2)</sup> らは、同様な実験を benzopyrene でラットに肉腫を作り、感作リンパ球として脾細胞を用いて行なった。そして、同系移植や自家移植のさいの免疫反応には、リンパ球が作用するといっている。

著者は、感作リンパ球として、脾細胞のそれと、鼠蹊リンパ節のそれとの2種を用い、一定数の Ehrlich 癌細胞と感作リンパ球細胞とを混じてマウスの背部皮下に移植した。腫瘍細胞と感作リンパ球細胞の作用とを *in vivo* で観察したわけである。その成績は表7の通りである。

すなわち、腫瘍細胞に比べて感作リンパ球数を増大 ( $10^2 \sim 10^3$ ) せしめる場合には抗移植性が認められ、そのさいの抗移植性はリンパ節由来の感作リンパ球細胞よりも脾臓由来のものにより強いことが明らかにされたわけである。

志摩、大林<sup>53)</sup> らは、担癌マウスの腹腔滲出細胞と Ehrlich 癌細胞とを混合してマウスの背部皮下に移植することにより、移植腫瘍の増殖が抑制されることを認め、これは担癌生体に生じた免疫学的機構に参与する細胞性因子の作用によるものと推測している。

著者の実験成績は、Klein, Sjögren, Alexander, 志摩らのそれと一致しており、Ehrlich 腹水癌の移植免疫においても、リンパ球を担い手とする細胞性抗体が働くものと考えられる。

3) リンパ節内移植: Siegler, Koprowska<sup>52)</sup> らは、移植性腹水癌に対する宿主の反応の検討

にあたり、腫瘍が宿主の腹腔内で広く増殖し、流血中にも多数の腫瘍細胞が現われたのに対し、リンパ節、脾臓、胸腺および骨髄などのリンパ性臓器は、腫瘍の増殖に対して強い抵抗を示した事実を観察している。また、Berg<sup>10)</sup> は、乳癌患者の腋窩リンパ節の sinus histiocytosis の検討にあたって、histiocytosis の強いものは予後がよく、弱いものは予後が悪いことを知り、sinus histiocytosis は予後の重要因子であると報告している。その後、Black, Speer<sup>14)</sup> らもまた、癌患者のリンパ節の sinus histiocytosis について検討し、これが宿主の抵抗性をあらわす示標となることを報告している。

著者<sup>31)</sup> は、さらにこれを進めて、抗移植免疫の成立を、宿主動物の一定の組織、すなわち、リンパ節内移植法を考案した。

本法を行なうにあたっては、免疫現象の強弱に応じた適当な移植腫瘍の細胞数を決定することが最も大切である。

また、リンパ節内移植による腫瘍免疫の検出法には、つぎの利点がある。

(i) 皮下移植の場合に比べて移植腫瘍の発育が良好である。(ii) 移植腫瘍の肉眼的観察やその摘出が容易である。(iii) 同一個体で対照実験を併せ行なうことができる。

Ehrlich 癌を用いたリンパ節内移植法による移植免疫実験のうち、全身性感作の場合の成績は、表3および表4の通りで、感作動物では免疫学的な抗移植性が明らかに認められる。局所性感作の場合の成績は、表8および表9の通りで、死んだ癌細胞で感作する場合よりも生きた癌細胞で感作する場合により著明な発育抑制効果が認められる。

本成績から、著者のリンパ節内移植を応用することにより、全身性感作の場合のみならず、局所性感作の場合においても、Ehrlich 癌の移植免疫の成立を証明しえたものと考えられる。

## 結 論

<sup>60</sup>Co 照射後の Ehrlich 腹水癌で予め感作したマウスに、同じ腫瘍を再移植する場合に、抗移植性がみられるかどうか、みられるとするな

らば、抗体がどのように作用するか等の問題について検討し、以下の結論を得た。

1. 全身性に感作したのち皮下に移植する場合には、延命効果や移植腫瘍の発育抑制効果が認められる。
2. 全身性に感作したのち、リンパ節内に移植する場合にも、移植腫瘍の発育抑制効果が認められる。
3. 全身性感作による移植腫瘍の発育抑制効果は、背部皮下に移植する場合よりも、リンパ節内に移植する場合の方により著明である。
4. 組織像をみると、全身性感作群では、腫瘍細胞の配列が疎で、間質の増加やリンパ球の浸潤等が認められる。これに対し、対照群では、腫瘍細胞は石垣状に密に配列しており、腫瘍の大半は中心性壊死像が認められる。
5. 全身性に感作することにより、血清蛋白分画には、アルブミンの減少、 $\gamma$ -グロブリンの著明な増加、 $\alpha$ -および $\beta$ -グロブリンの若干の増加等の諸変化が招来される。このことから、抗体成分の電気泳動的な存在位は $\gamma$ -グロブリン

ンを中心として、部分的には $\alpha$ -および $\beta$ -グロブリンにまで及ぶものと推定される。

6.  $^3\text{H}$ -thymidine の labeling index については、全身性感作群と非感作群との間に著明な差違は認められない。すなわち、いずれの場合にも、 $^3\text{H}$ -thymidine の labeling index が低かった事実より、感作することにより、とくに細胞内の DNA 合成、あるいは細胞増殖が行なわれていないと考えられる。
7. 感作リンパ球と腫瘍細胞と混じて移植する場合には、腫瘍細胞数に対する感作リンパ球数の割合を増すと抗移植性が認められ、そのさいの抗移植性は、リンパ節由来の感作リンパ球よりも脾臓由来のものに強い。このことは、抗移植性なる免疫現象には、リンパ球を担い手とする細胞性抗体が関与していることを意味する。
8. 局所性感作においては、 $^{60}\text{Co}$  照射した癌細胞で感作するよりも生きた癌細胞で感作する場合に、所属リンパ節に、より著明な移植腫瘍の発育抑制効果が認められる。

## 〔第2篇〕 腹腔内挿入 Diffusion Chamber 内での Ehrlich 癌の発育に及ぼす免疫の影響

### 〔目 次〕

緒 言	
第1章 実験材料ならびに実験方法	
第2章 実験成績	
I SM (5 $\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での Ehrlich 癌の発育	
II HA (0.45 $\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での Ehrlich 癌の発育	
第3章 総括ならびに考按	
結 論	

### 緒 言

Diffusion Chamber とは、ある一定の大きさ以下の粒子だけの通過をゆるすような膜によって外界と境されている小形の容器である。生物学的な目的に用いられているものは普通両側に2枚の半透過膜を備え、細胞成分の通過はゆる

さないが体液成分は通過せしめうるものである。この中に組織片を入れて動物の腹腔内または皮下に挿入すれば移植組織に対する宿主の影響を分析的に観察することができる。

Algire<sup>3)</sup> や Gabourel<sup>20)</sup> が免疫学や血清学の領域においてこの方法を用いて以来、この方法は多くの人々によって工夫を加えられ、広く用いられるようになった。Millipore Filter 膜のような均一な孔径を持った合成膜が利用出来るようになったことは、この方法を発達させる契機となっている。本法を応用して腫瘍の移植免疫の研究を行なった人々としては、Algire, Prehn あるいは Weaver<sup>4,5)</sup> らがある。彼等の研究によると、細胞成分の通過を許さない Diffusion Chamber 内に腫瘍細胞を入れて動物の体内に移植しても、宿主動物は腫瘍によって

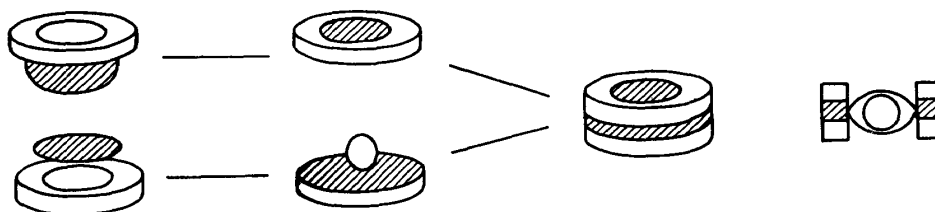
感作されないということが判明している。

著者は、第1篇において、Ehrlich 腹水癌で感作したマウスにおいては、同じ腫瘍の再移植に対して、発育抑制現象が認められることを証明した。そのような現象に関係するものとしては、免疫学的因子、すなわち、iso-antibody が考えられるが、移植部の組織学的所見からしてリンパ球をその担い手として重視すべきであるとの結論に達した。そこで、第2篇においては、Diffusion Chamber を用いて、Ehrlich 腹水癌で感作したマウスに同じ腫瘍を移植したさいに見られる発育抑制現象は、宿主動物の細胞が腫瘍細胞に直接作用して招来されるのかどうかについて検討する。さらに、細胞の関与があるとすれば、どのような種類の細胞が関与し、また、細胞性抗体や血清抗体がどのように腫瘍細胞に作用するのかについても、同じく Diffusion Chamber を用いて分析的に検討する。

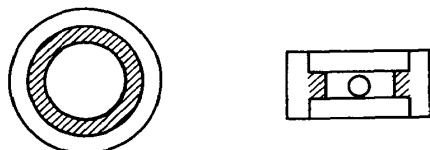
### 第1章 実験材料ならびに実験方法

#### 1) 実験動物：京大純系動物センターから供給され

##### 1. Algire の原法



##### 2. Gabourel の方法



##### 3. 京大胸部研法

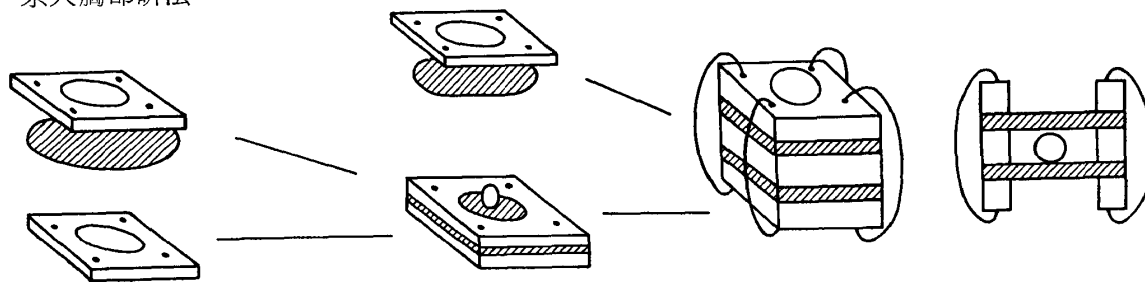


図 1 Diffusion Chamber 作製法

た DDD-系マウスで、体重 20~25gm, 生後 2 カ月のものを使用した。

2) **Millipore Filter の選択**：Millipore Filter (以下これを M. F. 膜と略称する) は Millipore Filter Corporation, Bedford, Massachusetts の製品を使用した。M.F. 膜は、孔の大きさによって 9 種に分けられているが、本実験には孔径  $5\mu$  の SM 型と孔径  $0.45\mu$  の HA 型のものを使用した。前者は細胞の通過をゆるすが後者は許さない。著者の実験によると、孔径  $0.80\mu$  の AA 型の M. F. 膜までが細胞の通過を許すようである。

3) **Diffusion Chamber の作成**：(以下 Diffusion Chamber を D.C. と略称する) 著者は、Algire の方法および Gabourel の方法を改良し、小型化した容器を作製した。すなわち、図 1 のように、厚さ 1.0~1.5mm 一辺の長さ 12mm の正方形のアクリライトのプレートの中央に直径 7mm の円形の孔を穿ったものを組合せる方法を考案し、この方法を京大胸部研法と呼んでいる。

D.C. 材料の消毒法としては、アクリライトのプレートは 70% アルコールまたは、ヒビテンアルコールに 30 分間浸した後に、生理食塩水で 3 回洗い、M.F. 膜

は滅菌シャーレーの中に入れて殺菌灯に1時間さらして滅菌した。

D.C. の作製法は図1に示すように、まず、プレートの上に M.F. 膜をのせ、さらにその上にプレートをのせて接着剤 (M.F. 膜を1%の割合にアセトンに溶かした液) でプレートと M.F. 膜を密着し、Chamber の主体を作る。これに2~3滴の Hank 氏液を落して漏れないことを確認したのち、Ehrlich 癌細胞  $2\sim 4 \times 10^4$  個を容れ、さらに、Chamber 内一杯に Hank 氏液を追加し、蓋に相当する M.F. 膜をのせ、その上からプレートをのせて四隅を絹糸で結んで固定する。そして、接着部をかいして物質の出入を防ぐためにプレートの端を接着液につけて密着する。

出来上がった D.C. は Hank 氏液のはいったシャーレーの中に入れてそのまま  $37^\circ\text{C}$  の恒温室内に保存し、出来るだけ早く実験に使用するように務めた。

D.C. 作製にさいして、とくに注意すべきことは以下の諸点である。

(i) 標的細胞の量が多過ぎないこと。(ii) D.C. に十分 Hank 氏液に浸しておくこと。(iii) M.F. 膜はもろいので破損せぬようよく注意し、M.F. 膜以外の部分から物質の出入を防ぐためにプレートを密着させること。

D.C. をマウスの腹腔内に挿入するにあたっては、ラボナールによる全身麻酔を行ない、腹部の正中切開を加え、可及的に腹部内臓を傷つけぬよう注意しながら、1匹あたり1個の D.C. を挿入する。マウスの腹腔内に挿入された D.C. 内での、Ehrlich 腹水癌細胞の成長をみると、最初は1層の膜状に増殖するが、次第に

Chamber の周囲に接する部分から層の厚さを増し、終に Chamber 全体を厚い細胞層で満すようになる。

Chamber に対する異物反応や Chamber 挿入による感染の頻度を検討する目的で、空の D.C. をマウスの腹腔内に挿入して観察した。D.C. を挿入されたマウスは10カ月を経過しても元気に生きており、抗生物質を使うことによりほぼ確実に感染を予防することが出来る。D.C. 腹腔内挿入後12~24時間で死亡したマウスもみられたが、それらは麻酔が過度であったり、出血が多量であったりしたためである。

4) 動物の感作：抗原液の作製および感作方法は第1篇と同じである。

実験方法は、図2のように、週1回の割合で連続4週間感作を行ない、その後目的に応じた D.C. を腹腔内に挿入する。D.C. の挿入にあたっては、ラボナールの腹腔内注射による全身麻酔下に開腹して、腹腔内に D.C. を挿入し、腹腔および皮下にペニシリン注射を行なって感染を予防する。

D.C. を腹腔内に挿入してから、4週間経過した後屠殺して D.C. を取り出し、標的細胞の増殖の度合、標的細胞や D.C. に対する生体反応の状態、その他を肉眼的ならびに組織学的に観察した。組織学的検索にあたっては、摘出標本を M.F. 膜も含めて、ホルマリン固定し、型のようにしてパラフィン包埋を行ない、切片として、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して観察した。

5) 成績の判定：標的細胞は D.C. 内で塊状となって成長増大するから、その成長増大の度合は D.C. 内で占める腫瘍細胞塊の大きさでもって判定する。

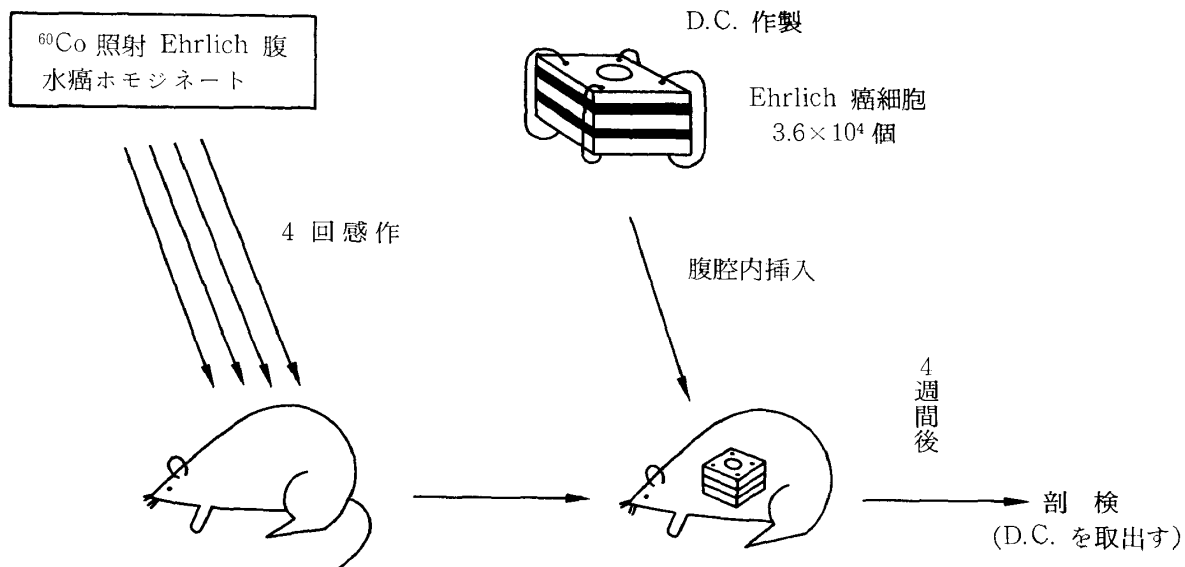


図2 実験モデル

M.F. 膜を D.C. の枠から切り離して、腫瘍塊を肉眼的に観察し、その大きさによって、成長の度合を(-)~(卍)までの6段階に分けて表示する。そして、腫瘍塊が D.C. 内に全く認められないものを(-), D.C. 内のほぼ1/5を占めるものを(+), 2/5を占めるものを(++)、3/5を占めるものを(卍), 4/5を占めるものを(卍), D.C. 全体をほとんど満しているものを(卍)と判定した。

## 第2章 実験成績

### I SM (孔径 5 $\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での Ehrlich 癌の発育

まず、体液も細胞もともに通過しうる孔径 5.0 $\mu$  の SM 型 M.F. 膜を用いて D.C. を作成し、両者がともに作用する場合における Ehrlich 癌の発育に関して観察を行なった。

抗原液で週1回、連続4週間全身性に感作した DDD-系マウスを感作群とし、生理食塩水のみを同じように週1回、連続4週間投与した DDD-系マウスを対照群として実験を行なう。使用するマウスは各群とも健常 DDD-系マウス8匹宛である。

#### 1) 実験成績

Ehrlich 癌細胞  $3.6 \times 10^4$  個をいれた D.C. を、マウスの腹腔内に挿入して4週間後に屠殺剖検して、D.C. 内の腫瘍細胞の発育増殖の様相を観察した。

その成績は表1の通りである。

腫瘍の発育が高度に抑制されて、ほとんど腫瘍塊が認められないもの〔分類(-)〕は、感作群および対照群において、ともに2例ずつみられ

表1 SM 型 (5 $\mu$ ) の D.C. の腹腔内移植の成績

マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	8	平均
感作群	(-)	(-)	+	+	+	++	卍	卍	+~++
対照群	(-)	(-)	+	++	卍	卍	卍	卍	++~卍

Target Cell の大きさ:

Chamber 内 0...(-) Chamber 内 3/5...卍  
 Chamber 内 1/5...+ Chamber 内 4/5...卍  
 Chamber 内 2/5...++ Chamber 内 5/5...卍

た。一方、発育の旺盛であったもの〔分類(卍)~(卍)〕は感作群では2例しかみられなかったのに反し、対照群では4例を数えた。また、腫瘍発育の平均をみると、感作群および対照群ではそれぞれ(+)-(++), (++)-(卍)であり、両群の間に若干の差が認められた。

#### 2) 組織像

この実験に使用した孔径 5.0 $\mu$  の SM 型の M.F. 膜は、図3、図4、図7、図8、図9、図10、図12に示した組織像からも明らかなように、各種体細胞の通過を許している。

組織像から推定すると、予め Ehrlich 癌細胞でもって全身性に感作したマウスの腹腔内に、Ehrlich 癌細胞をいれた D.C. を挿入した場合、はじめは、同細胞は増殖して腫瘍塊を作るが、宿主の細胞成分および体液成分の浸入により次第に変性崩壊するように思われる。その変性崩壊にあたっては、腫瘍細胞の配列は図3、図7、図8のように、疎かつ不規則になり、一部に巨細胞化した癌細胞の出現を認める。さらに、変性が進むと、腫瘍細胞の溶解が招来され、生活力を保っている腫瘍細胞は部分的に僅かに認められるだけになる。

このような変化の段階をよく示しているのが図5であって、SM 膜に接した部分の腫瘍組織は変性融解しており、腫瘍組織の中央部だけに生活力を保っている腫瘍細胞群が認められる。

D.C. 内の腫瘍の発育増殖が、とくに強く抑制されたと思われる症例では、腫瘍組織の壊死融解がより強く招来されている。図4および図6はこのような症例の組織像である。

生活力を保っていると思われる腫瘍細胞は、D.C. 内の中央に僅かに認められるだけである。また、このような像を呈する症例では、D.C. の SM 膜の表面には、リンパ球の浸潤がきわめて豊富であって、それに混じって、少数の赤血球や多核白血球がみられ、さらに、異物巨細胞が見出されることがある。以上により、本実験における D.C. 内での Ehrlich 癌発育抑制現象には、感作による免疫学的機構が大きな役割を演じていることが推察される。



これに対して、対照群では、**図9**、**図10**、**図12**のように、SM膜を通してリンパ球、赤血球、多核白血球等が侵入しており、D.C.内部でも**図11**のように多数の腫瘍細胞に混じって少数のリンパ球や多核白血球が認められる。しかし、SM膜の内外やD.C.内部にみられるリンパ球の数は、感作群に比べてはるかに少ない。一方、D.C.内の腫瘍組織は、**図9**のように、SM膜に接した部分においても生活力旺盛と考えられる細胞が多くみられ、むしろD.C.の中心部附近において、**図10**のように、中心壊死が招来されている像がしばしばみられる。さらに、**図9**および**図10**のように、反応性細胞浸潤の中に異物巨細胞がSM膜の表面に多数みられるが、巨細胞化した腫瘍細胞はほとんどみられない。

**II HA (孔径 0.45 $\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での Ehrlich 癌の発育**

つぎに、孔径 0.45 $\mu$  の HA 型 M.F. 膜を用いて D.C. を作り、その中の Ehrlich 癌の発育を検討した。このような chamber 内には体液は入りうるが、細胞の侵入は不能である。著者は Ehrlich 癌の発育に対する細胞性因子と体液性因子との関係を分析的に検討するために本実験を行なった。

**1) 実験成績**

Ehrlich 癌細胞  $3.6 \times 10^4$  個をいれた D.C. を、マウスの腹腔内に挿入し、4週間後に屠殺剖検して腫瘍の発育程度を観察した。

その成績は、**表2**に示す通りである。

感作群では(-)…1例、(+)…3例、(++)…3例であって、腫瘍発育の平均は(+)(+)である。これに対して対照群では、(###)…2例、(####)…4例、(#####)…1例であって、その平均は

**表2** HA 型 (0.45 $\mu$ ) の D.C. の腹腔内移植の成績

マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	平均
感作群	(+)	+	+	+	++	++	++	+~++
対照群	###	###	###	###	###	###	####	###

(###)であった。すなわち、chamber 内の腫瘍の発育は対照群に比べて、感作群において強く抑制されることが判明した。

**2) 組織像**

感作群においては、腹腔内に挿入した D.C. 内の腫瘍組織は、HA膜に接した部分の細胞が変性壊死に陥り、**図13**のように、D.C.の中央部附近に崩壊した細胞の核片らに混じって生き残った腫瘍細胞が、わずかにみられる。HA膜の表面には、宿主のリンパ球が多数集まっているが、**図14**にみられるように、HA膜内には細胞の侵入は全くみられない。また、**図15**のように、HA膜の表面に多数のリンパ球が集まり、D.C.内の腫瘍組織がほとんど完全に壊死に陥っている場合もみられる。なお、感作群において、マウスの腹腔内に挿入された D.C. が**図16**のように、厚い腹膜におおわれて、D.C.内の腫瘍細胞が強く壊死に陥っていることがある。このような現象は、D.C.内の腫瘍細胞が栄養障害に陥ったためではないかとも考えられるが、対照群では同様の現象はみられない。すなわち、対照群では腹膜におおわれた場合においても、内部の腫瘍細胞は増殖しており、腫瘍細胞の変性壊死はほとんどみられない。

感作群においても、D.C.内で腫瘍細胞の増殖がかなり著しいこともあり、**図17**もその1例であるが、そのような場合においてもリンパ球がHA膜の表面に集合している。そして、強拡大写真である**図18**でもみられるように、HA膜に接した部位の腫瘍細胞の配列が不規則かつ疎となり、一部には細胞の崩壊像もみられる。

**第3章 綜括ならびに考按**

**I Diffusion Chamber 法の歴史**

細胞や組織を生体内で培養しようという試みは、かなり古くから行なわれており、Sandison<sup>51)</sup> (1924)、Bisceglie<sup>13)</sup> (1933)らは、コロジオン裏を用いた Transparent chamber を考案して、生体内での細胞の培養を試みている。その後、化学工業の進歩により、0.01 $\mu$  から 5 $\mu$  大

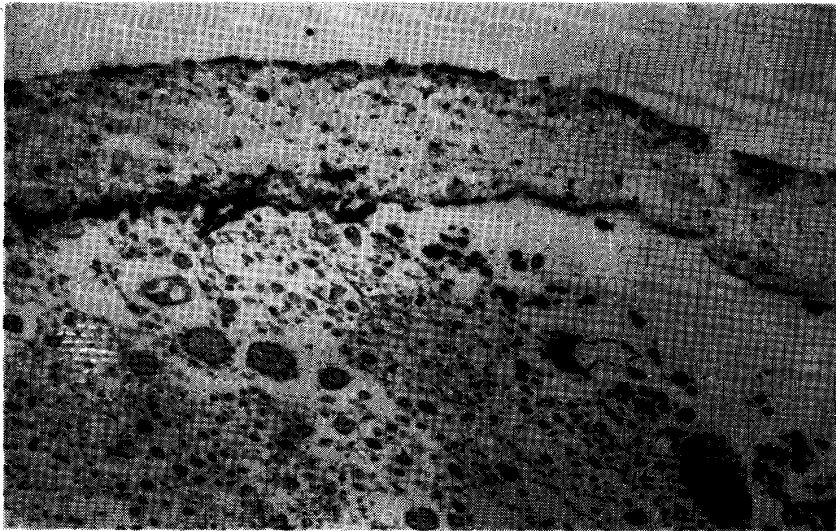


図3 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入したD.C.の組織像。上方に孔径 $5\mu$ のSM膜があり、下方にD.C.内の腫瘍組織の一部がみられる。腫瘍細胞は細胞間が疎になり、巨細胞化したものも認められる。SM膜には細胞の侵入がみられる。Hematoxylin-Eosin (対物レンズ $\times 10$ )



図4 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入したD.C.の組織像。左下方に生きた腫瘍細胞が認められるのみで、D.C.内の大部分は腫瘍細胞の崩壊やフィブリンによって占められている。SM膜の表面には多数のリンパ球が集まっており、さらに膜の内部にも侵入している。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ $\times 10$ )

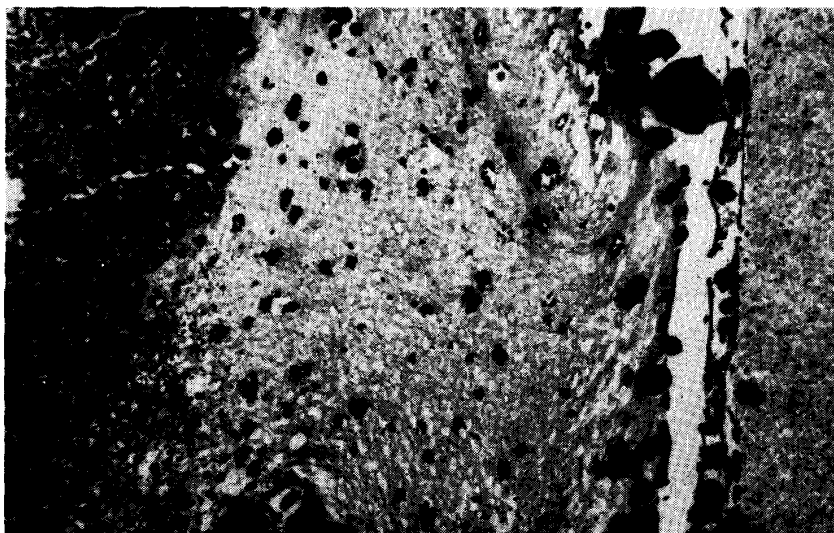


図5 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入したD.C.の組織像。右側にはSM膜の一部がみられ、それに接した部分の腫瘍組織は巾広く崩壊している。左側、すなわち、D.C.の中心部近くには生活力の旺盛な腫瘍細胞が認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ $\times 10$ )

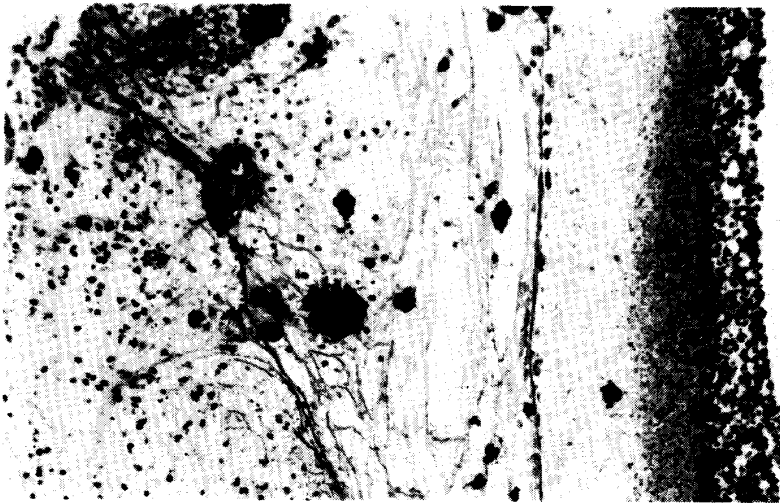


図6 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。右側の SM 膜の表面およびその内部には多数のリンパ球をはじめ、赤血球や白血球等が認められる。左上方の D.C. 内の一部には生きた腫瘍細胞が残っている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

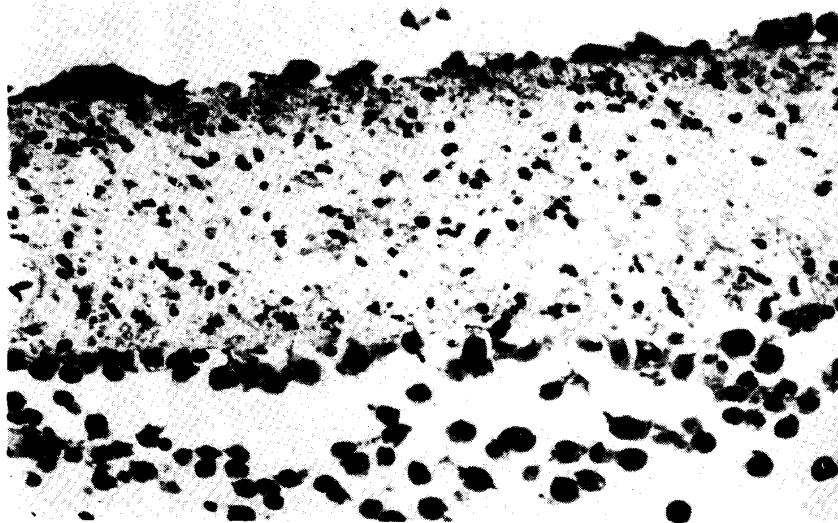


図7 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の SM 膜の組織像。SM 膜内には多数の細胞が侵入しており、その膜の表面(上方)には異物巨細胞も認められる。下方は D.C. の内部で腫瘍細胞は配列が不規則かつ疎になっている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)

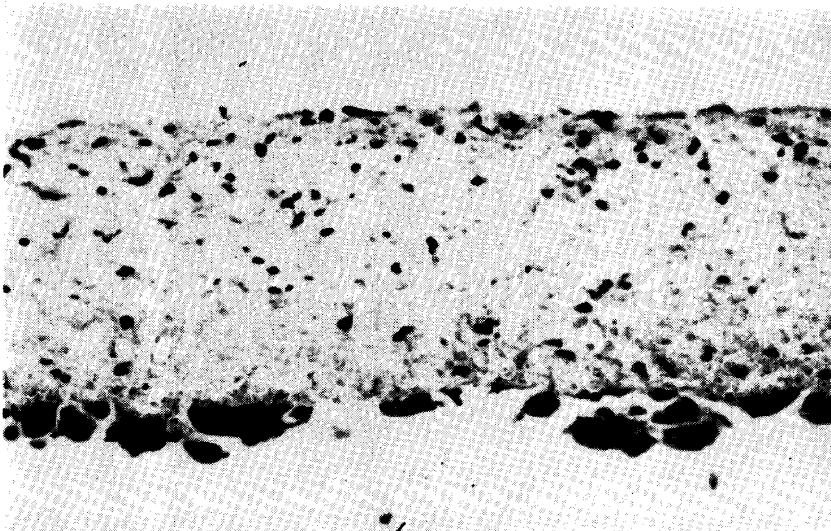


図8 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の SM 膜の組織像。下方は D.C. 内で、SM 膜に接したところに巨細胞化した腫瘍細胞が認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)

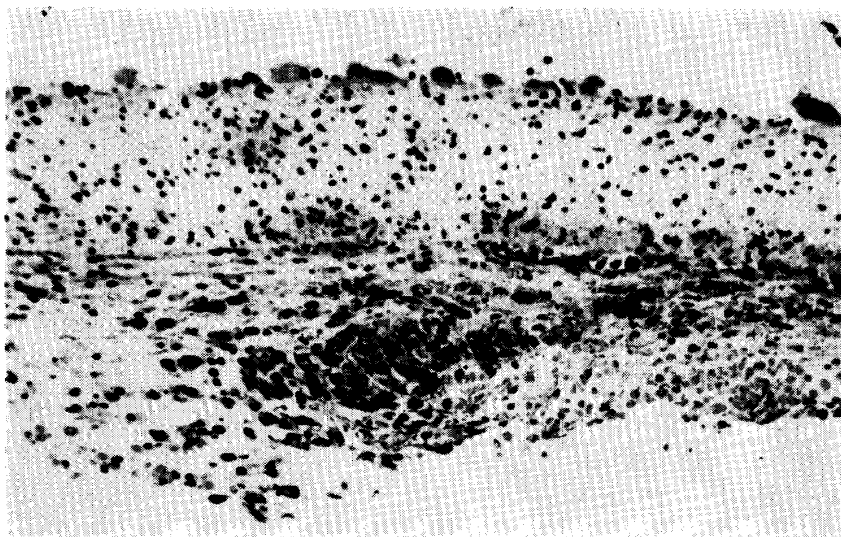


図9 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。下方は D.C. の内部で、生活力旺盛と思われる腫瘍細胞が SM 膜に接して多くみられる。SM 膜内には多数の細胞が侵入している。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

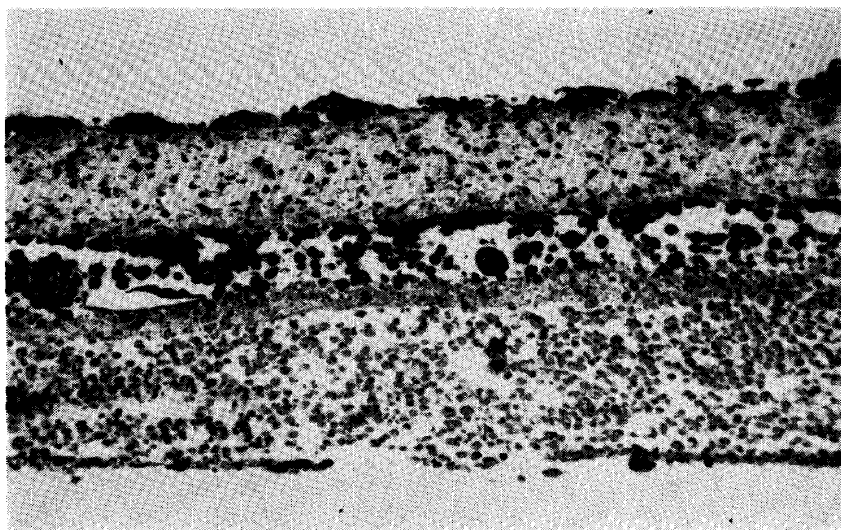


図10 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。SM 膜の表面には異物巨細胞も認められる。SM 膜よりも下方は D.C. の内部で、その中の腫瘍組織には中心壊死の傾向がみられる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

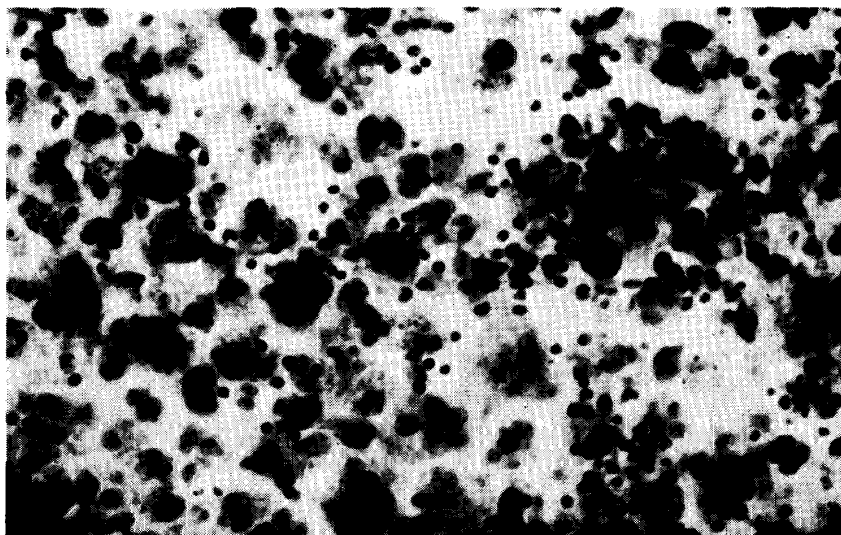


図11 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の SM 膜の内面。多数の腫瘍細胞及び少数のリンパ球が認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)



図12 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の SM 膜の組織像。中央部に SM 膜があり、その中には細胞が侵入している。膜の表面(上方)には異物巨細胞が、D.C. 内部(下方)には腫瘍細胞がみられる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)

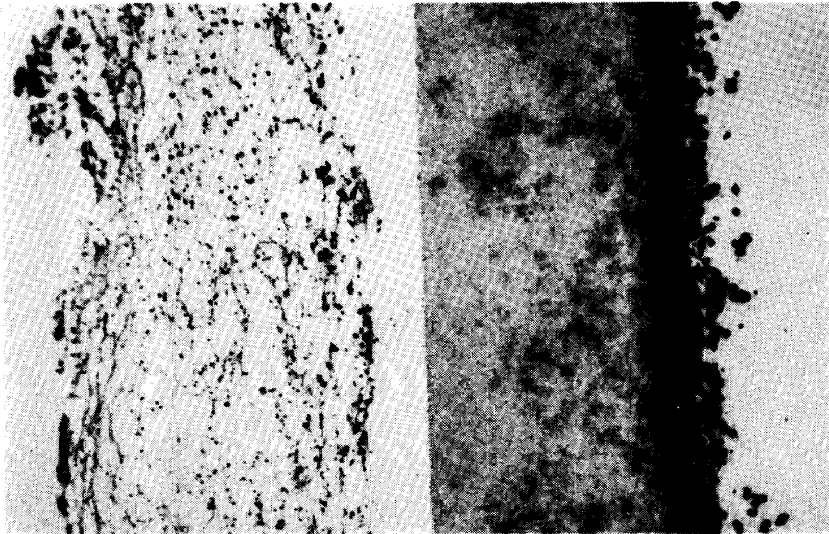


図13 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。左方には崩壊した腫瘍組織があり、その右方には孔径  $0.45 \mu$  の HA 膜がみられる。膜の外側(写真の右方)にはリンパ球が多数集まっている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

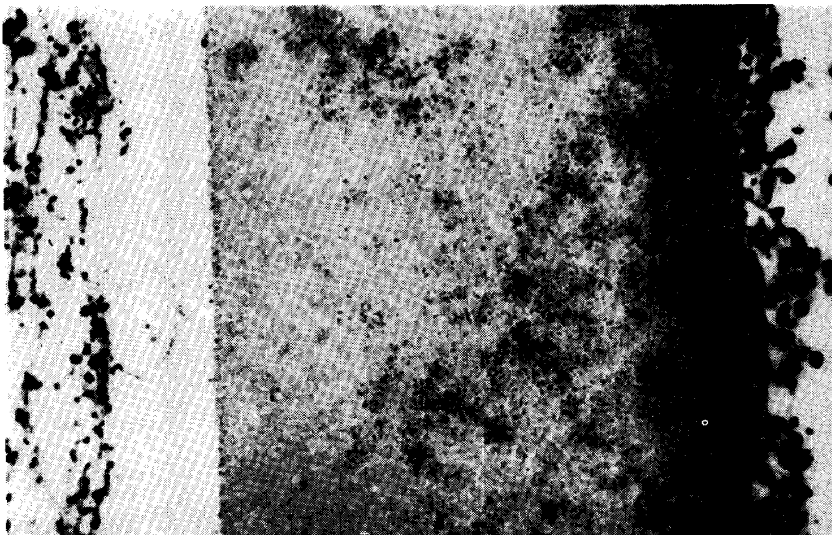


図14 図11の拡大。中央の HA 膜内には細胞は侵入していない。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)

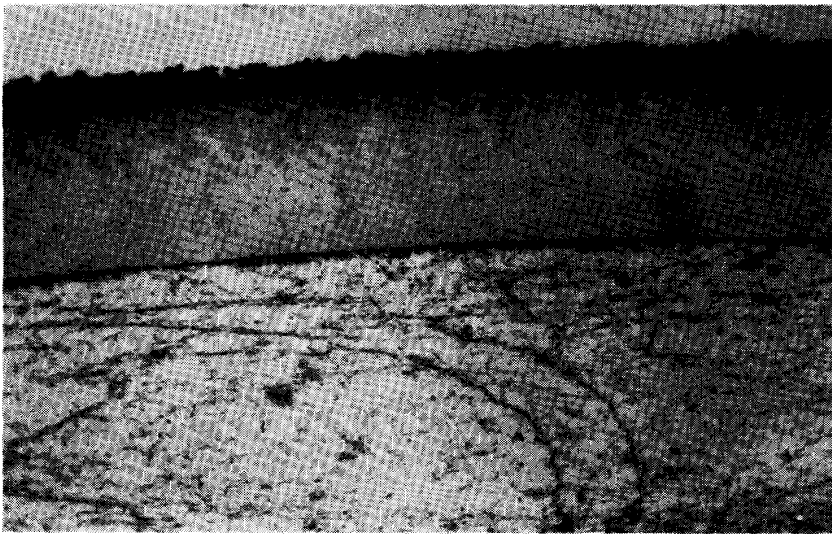


図15 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。上方は HA 膜でその表面には多数のリンパ球および若干の赤血球や白血球が集まっている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

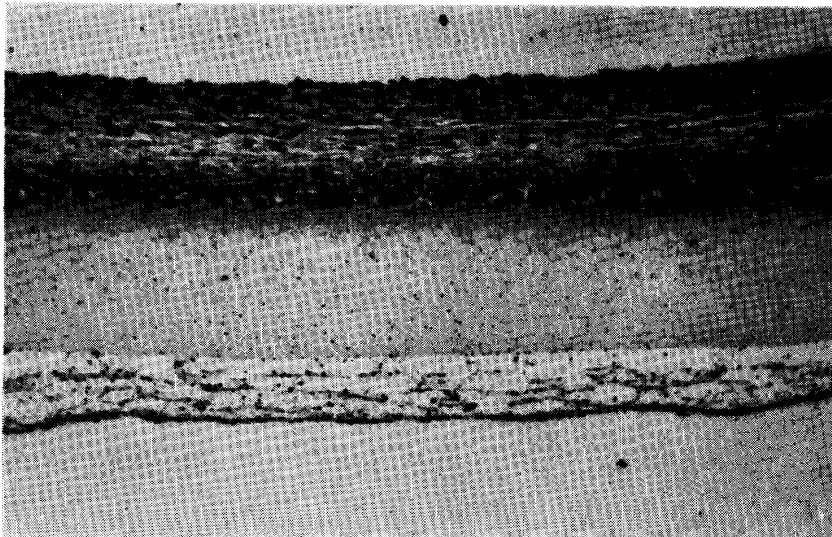


図16 感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の HA 膜の組織像。中央には HA 膜がみられ、その表面(上方)を宿主の腹膜が覆っている。D.C. の内部(下方)には崩壊した腫瘍組織がみられる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

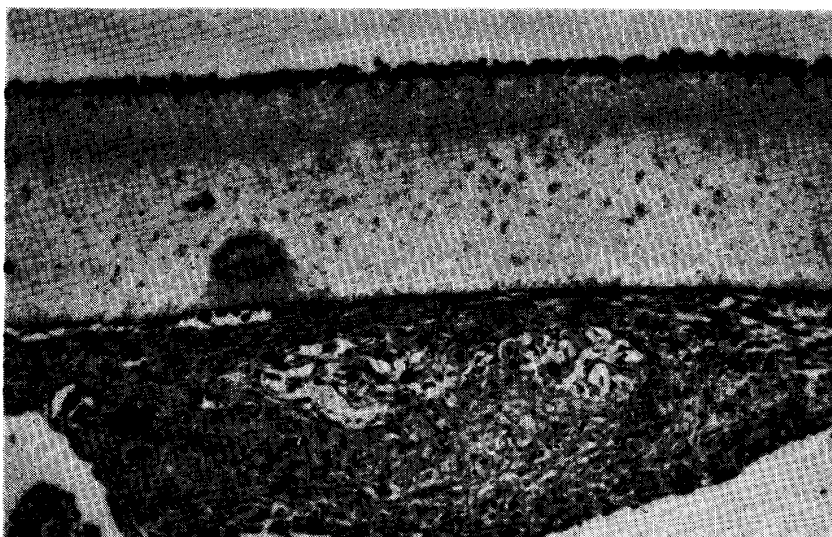


図17 全身性に感作したマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。上方は HA 膜で、その表面には宿主のリンパ球が集まっており、下方には D.C. 内の腫瘍組織がみられる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)

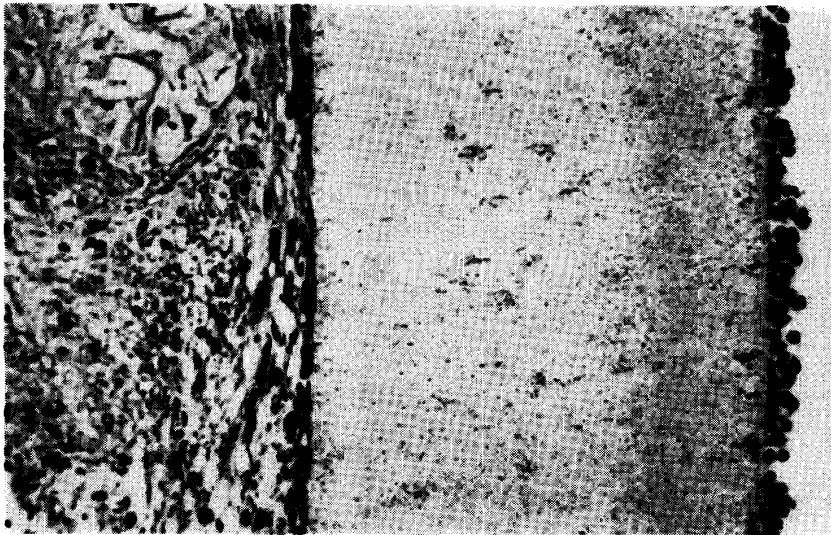


図18 図17の拡大。中央の HA 膜には細胞の侵入はみられない。左方は D.C. 内の腫瘍組織で、SM 膜に接した部位では腫瘍細胞の配列は疎となっている。右方の SM 膜の表面には多数のリンパ球および、少数の赤血球と白血球が認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)

の孔径をもつ、セルローズ質の膜 (Millipore Filter, 以下 M.F. と略称する) が自由に作れるようになってから、この M.F. 膜で作った Chamber, すなわち、Diffusion Chamber (以下 D.C. と略称する) による細胞や組織の生体内培養法が急速な進歩をとげた。そして、この方法の発展に最も大きな貢献をしたのは、Algire<sup>3,4,5)</sup> (1954, 1955), Gabourel<sup>20,21)</sup> (1959, 1961) らであって、以下彼等の D.C. の概要を紹介する。

(i) Algire の原法: Algire, Prehn, Weaver<sup>3)</sup> らは、図 1 のような D.C. を作った。それに用いられている 2 個のリングの大きさは、厚さ 1 mm, 外径 20 mm, 内径 10 mm である。作成にあたっては、それぞれのリングに M.F. 膜をはりつけておき、この両者の間に標的細胞を挿入してはり合わせる。完成した Chamber では、図のように、リングの中央に 2 枚の M.F. 膜で囲まれて、標的細胞をいれた狭い腔が出来る。

(ii) gabourel の方法: gabourel, Fox<sup>20)</sup> らは図 1 のように、3つの小房からなる拡散小室 (three compartment diffusion chamber) を考案した。彼等はこの方法は、標的細胞の漏出量を知るのに便利であると強調しているが、構造がやや複雑で、製作に熟練を要するようである。

本邦では、近年、栗屋<sup>9)</sup> (1965), 長谷川, 藤本<sup>26)</sup> (1966) らが、D.C. 法の技術を紹介しているが、それらは algire の原法あるいは gabou-

rel の方法を小型化したものである。そこで、われわれは、前述のように、それらを参考としてマウスにおける実験に好適な独自の D.C. を考案し、京大胸部研法<sup>32)</sup>と名づけた。われわれの方法には、(a) Algire の原法に比べて標的細胞を入れる小室の容積が数倍大きいこと、(b) Gabourel の方法に比して、D.C. の作製の操作が簡単であること、(c) リングと M.F. 膜の接着が密でスキ間からの漏出が皆無であること、(d) 容量が大きいので、標的細胞は栄養障害に陥ることなしに、2カ月間余り生存出来ること、(Algire の原法の場合は標的細胞の生存は1カ月前後である) 等の利点がある。

## II D.C. を用いての移植免疫に関する研究

Algire, Prehn, Weaver<sup>4,5)</sup> らは感作したマウスの腹腔内に、C3HBA 乳腺腫瘍、あるいはその他の組織をいれた HA 型の D.C. を移植した時、それらの組織が D.C. 内でもよく発育することを見いだした。さらに、彼等は、感作リンパ球を前述の標的細胞と共に Chamber にいれると、標的細胞は1週間以内に死滅することを見いだした。以上のことに基づき、Algire らは、標的細胞を死滅させるものは、感作されたリンパ球であり、標的細胞と感作リンパ球とが接触することにより両者とも死滅し、そのさい、拡散物質 (diffusible substances) が放出されて細胞の崩壊が起るのであると考えている。これは、D.C. 法を用いて、移植組織に対する細胞性抗体ならびに体液性抗体の態度を分析的に

検討しようとした最初の試みである。

その後、Amos, Wakefield<sup>6,7)</sup>らは、細胞を通さない M.F. 膜で作った D.C. にマウスの腫瘍細胞 (DBA/2 リンパ肉腫, C3H リンパ肉腫, Ehrlich 腹水癌等) をいれて、これをマウスの腹腔内に移植した。そして、彼等は、細胞を通さない D.C. 内に腹腔内の体液性抗体が侵入すること、Chamber 内の腹水腫瘍細胞は移植後 2~3 日目に減少して initial drop なる現象を示し、5~7 日目から再び急速に増加すること、および抗 DBA/2 リンパ肉腫血清を腹腔内に注射すると D.C. 内の DBA/2 リンパ肉腫はただちに、75%破壊され、抗血清の注射をくりかえせば、その間は腫瘍細胞の増殖が抑制されること等の多くの興味ある現象を観察した。また、補体の存在が腫瘍の増殖の抑制因子となりうることも述べている。

Gabourel, Fox<sup>20)</sup>らは、L-fibroblast と Sarcoma 180 を D.C. にいれてマウスの腹腔内に同種移植し、D.C. 内における細胞の増殖率を調べ、その平均 generation time は 2.5 日 (in vitro では 1~1.5 日) であることを報告している。さらに、Gabourel<sup>20)</sup> は細胞を通さない D.C. 内の L-fibroblast は同細胞で感作された C3H マウスの腹腔内では、その増殖の抑制をこうむること、および抗 L-fibroblast 血清の注射を受けたマウスの腹腔内においても強い増殖抑制を受けることを報告し、同種移植における体液性抗体の重要性を強調している。

そのほか、Biggs, Eiselein<sup>11)</sup>らは、異なった施設において植え継がれた 2 種の Ehrlich 腹水癌を用い、それぞれを D.C. にいれてマウスの腹腔内に挿入し、さらに、同一腫瘍を腹腔内に移植しているが、0.45  $\mu$  の M.F. 膜を用いた D.C. 用いる場合には、再移植に対して強い免疫学的抵抗性がみられるのに、0.1  $\mu$  の M.F. 膜を用いた D.C. を用いる場合には、何らの抵抗性もみられなかったと報告している。免疫学的抵抗性を示した Ehrlich 癌においては、電顕的にヴィールス様粒子を観察している。以上から、彼等は有効な抗原物質はヴィールス様粒子内に存在しており、0.1  $\mu$  の M.F. 膜を通過さ

せるとそれは除去されるのであろうと推定している。

田中, 折田<sup>58)</sup>らは、Ehrlich 癌を Cb 系マウスの背部皮下に移植し、移植後 2 週間目に局所リンパ節を剔出して、感作リンパ球様細胞を作り、これを D.C. 内にいれて、抗腫瘍性を検討した。すなわち、感作リンパ球様細胞は標的腫瘍細胞と接触しなくても、抗腫瘍性を発揮すると報告している。

著者は<sup>32)</sup>、<sup>60</sup>Co を照射した Ehrlich 腹水癌で全身性に感作したマウスの腹腔内に、同一腫瘍をいれた D.C. を挿入する場合、M.F. 膜の孔径には関係なく、感作群において、D.C. 内の腫瘍の増殖が抑制されることを認めた。また、挿入された D.C. の周囲にはリンパ球を主体とする宿主細胞が、非常に多くみられ、増殖抑制効果の強かった症例においては、D.C. の周囲にはリンパ球がとくに豊富に集まっていることが観察された。

Algire らは、彼等の D.C. を用いての研究の結果に基づき、腫瘍の同種移植にさいしては、リンパ球を担い手とする細胞性抗体が関与するであろうと推定している。しかし、著者の実験では、Algire らのそれと異なり、細胞の通過を許さない M.F. 膜を用いた場合でも、腫瘍の増殖抑制効果がみられたことである。すなわち、細胞の関与がないような条件下でも、腫瘍の増殖が抑制されることが認められた。同様の事実は、Amos や Gabourel をはじめ、田中, 折田らも認めている。このような事実から、感作されたリンパ球は、D.C. の周りに集まり、M.F. 膜の表面で抗体を含んだ拡散物質を放出して、腫瘍細胞の増殖を抑制するものと推定される。その拡散物質は、5~0.45  $\mu$  の M.F. 膜を通過するようであるが、Biggs らも同じような見解をのべている。

これに対して、最近 in vitro culture 法を用いて、免疫動物のリンパ系の細胞が標的腫瘍細胞に対して、agglutination を起すことが報告されて来ている<sup>6,49,50)</sup>。これに関して、早くから Rosenau, Moon<sup>48)</sup>らが C3H マウス由来の L 細胞で BALB/C マウスを感作して、感作



リンパ球を作り、この感作リンパ球のL細胞におよぼす影響について、組織培養法で観察している。すなわち、感作リンパ球が、L細胞の囲りに群集したのち、L細胞の細胞溶解を起し、L細胞の大半が破壊される事実を認めた。また、細胞溶解反応には感作リンパ球とL細胞が密着する必要があり、他方、赤血球凝集反応、ゲル内沈降反応、補体結合反応らの種々の方法を用いても免疫動物の血清中に抗体が証明出来なかったことから、このL細胞の細胞溶解現象はCellular現象として、重要であると主張している。

その後、Koprowski, Fernandes<sup>37)</sup>らも同様の事実を、モルモットの背髄組織(cord tissue)でラットを感作して作った感作リンパ球において認めており、これをcontactual agglutinationと名づけた。そして、彼は、このContactual Agglutination Testは組織培養系での免疫反応を探究するのに、すぐれた方法であると述べている。

また、Taylor, Culling<sup>54)</sup>らも同じことを確認し、agglutinationが起るためには、感作リンパ球が生きている必要があることを証明した。

田中、折田<sup>59)</sup>らは、in vitroでEhrlich癌担癌マウスの脾臓やリンパ節中のリンパ球様細胞に抗腫瘍性の存在を認め、これは、in vitroにおける免疫反応の一表現であると述べている。

in vitroにおいては、前記のような、感作リンパ球が標的腫瘍細胞の周囲に群集し、密着することにより、細胞溶解が起って、腫瘍細胞の増殖抑制が招来されるようである。しかし、著者の実験によれば、in vivoにおいては必ずしも接触の必要がないように思われる。すなわち、感作リンパ球は、出来るだけ標的腫瘍細胞に接近し、密着出来た場合にcontactual agglutinationを起して、その細胞の増殖を抑制する。他方、直接々触出来なかった場合、出来るだけ接近してから、抗体を含んだ拡散物質を放出して、標的腫瘍細胞の増殖を抑制するものと推定される。

## 結 論

Ehrlich癌で感作したマウスにおいては、同

じ腫瘍の移植に対して発育抑制現象がみられることは、すでに第1篇において述べた。本篇では、そのような腫瘍発育抑制現象が体液性因子によって招来されるのか、あるいは細胞性のもことによって招来されるのかに関して分析的に検討する目的で、D.C.腹腔内挿入法を用いて検討した。その結論を要約すると以下の通りである。

1. Ehrlich癌で全身性に感作したマウスの腹腔内に、細胞も体液もともに通過を許すSM型のM.F.膜を有するD.C.を挿入した場合、D.C.内の腫瘍の発育抑制がみられる。

2. Ehrlich癌で全身性に感作したマウスの腹腔内に、体液成分のみの通過を許すHA型のM.F.膜を有するD.C.を挿入した場合にもD.C.の腫瘍の発育抑制がみられる。

3. 感作群におけるD.C.内腫瘍組織の発育抑制は、SM型のものを用いた場合よりも、HA型のものを用いた場合において、より著明にみられる。

4. 無処置動物のD.C.内で増殖した腫瘍組織には、しばしば中心壊死がみられるが、M.F.膜に接する部位には生活力の旺盛な腫瘍細胞が認められる。それに反して、感作群では、中心壊死の像はみられず、むしろ、M.F.膜に接する部位で腫瘍細胞の配列が疎となり、細胞の崩壊がみられる。

5. D.C.に集まる宿主細胞としては、多数のリンパ球と少数の赤血球、白血球および異物巨細胞などがみられるが、リンパ球は、対照群よりも感作群において、はるかに豊富に集合する。そして、細胞の通過を許すM.F.膜を用いた場合には、リンパ球をはじめとして、赤血球や白血球がM.F.膜内に侵入し、さらに、D.C.内に及んでいる。

6. 感作群におけるD.C.内腫瘍細胞の増殖抑制は主として、リンパ球を担い手とする細胞性抗体によるもののように思われる。しかも腫瘍細胞の増殖が抑制される現象がみられる。このことから、リンパ球から拡散物質が放出されて、腫瘍細胞の崩壊が招来されると考えられ、また、拡散物質中に抗体が含まれていることが推定される。

## 〔第3篇〕 Methylcholanthrene 腫瘍のマウスの皮下ならびに リンパ節内移植に対する免疫の影響

### 〔目 次〕

緒 言

第1章 実験材料ならびに実験方法

第2章 実験成績

I Methylcholanthrene 腫瘍の移植に対する全身性感作の影響

A 背部皮下に移植する場合

B リンパ節内に移植する場合

C 感作されたリンパ球様細胞と腫瘍細胞とを混じて移植する場合

II Methylcholanthrene 腫瘍の移植に対する局所性感作の影響

第3章 総括ならびに考按

結 論

### 緒 言

第1篇および第2篇においては、Ehrlich 腹水癌を用いて腫瘍の移植免疫に関する検討を行なった。本篇では、発癌物質で発生させた Chemotumor を用いて同様の実験を試みた。

純系動物に発生させた Chemotumor を用いて腫瘍の移植免疫を検討する場合には、Ehrlich 癌の場合と異なって、腫瘍発生動物と移植動物との間の組織適合因子の差異を除外することが出来る。したがって、腫瘍に特異的な抗原を探究するにはそのような system を用いることがのぞましい。

そこで著者は、京大純系動物センターから供給を受けた DDD-系マウスの皮下に Methylcholanthrene を接種して腫瘍を発生せしめ、(以下これを MC 腫瘍と略称する)これを同系統のマウスに植え継ぎ、本実験に使用している。

腫瘍の移植免疫に関しては、1906年の Ehrlich の報告以来、多くの人々によって研究されているが、免疫遺伝学的研究の発達によって、実験に用いる動物と腫瘍とを厳重に選択することが要請されるようになった。すなわち、純系動物に Methylcholanthrene を接種して発生せ

しめた MC 肉腫を、組織適合性の一致した同系統の宿主に移植して、腫瘍の特異的な免疫現象がみられるかどうかを検討されるようになった。

Foley<sup>19)</sup> は、このような体系の実験により、はじめて MC 腫瘍に特異的な抗原が存在することを指摘し、その後、Prehn<sup>44)</sup>、Révész<sup>47)</sup> あるいは Klein<sup>35,36)</sup> 等によっても同様の事実が確認されている。

Foley<sup>19)</sup> は C3H マウスの皮下に MC 腫瘍を作り、それを中枢部において皮膚とともに緊縛して壊死に陥らしめると、そのマウスは自己の MC 腫瘍に対して免疫性を獲得することを知った。また、Révész<sup>47)</sup> は X線照射した MC 腫瘍細胞をマウスに反復注射して免疫を与えることが出来たと報告している。しかし、同様な操作を行なっても、リンパ腫や乳癌に対しては免疫は成立しなかったという。その後、Klein<sup>35,36)</sup>、Weiss<sup>64,65)</sup>、Old<sup>41)</sup>、Alexander<sup>1)</sup> 等の実験により、腫瘍組織で感作したマウスでは、その腫瘍の再移植にさいして抗移植性がみられることが重ねて証明されている。

著者は、DDD-系マウスに発生させた MC 腫瘍によって、同系統のマウスを感作し、感作された個体が、その腫瘍の再移植にさいして抗移植性を示すかどうか、いいかえれば、再移植された MC 腫瘍の発育が何等かの免疫学的機構により、抑制されるかどうかについて検討し、併せて発育抑制に抗体がどのように作用するかについても、分析的に検討した。

### 第1章 実験材料ならびに実験方法

1) 実験動物：京大純系動物センターから供給された DDD-系マウスで、体重 20~25 gm, 生後 2 カ月のものを使用した。

2) MC 腫瘍：MC 腫瘍は英国の L. Light & Co., Ltd. 製の 20-Methylcholanthrene をオリーブ油に

表1 Methylcholanthrene 皮下注射による腫瘍発生の時期と数

実験群	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>
使用したメチールコラントレン量 (mg)	0.1~0.5	0.1~0.5	0.5~1.0
使用マウス	6	9	9
腫瘍発生または同時期まで生存したマウス	4	8	7
腫瘍発生マウス	3	4	7
腫瘍発生までに要した日数	138日 3匹	104日 1匹 112日 2匹 128日 1匹	46日 2匹 84日 2匹 98日 2匹 113日 1匹
平均日数	138	114	85
観察した日数	210	210	144

溶かして、その 0.1 cc (MC 含量 0.5~1.0 mg) を健常マウスの背部皮下に注射して発生させた。表1は、皮下注射実験による MC 腫瘍の発生率を示している。

腫瘍発生の早いものでは、MC 注射後46日目に背部皮下に腫瘤を認めている。しかし、MC 腫瘍の発生時期は、MC 投与後平均3~4カ月であり、また、MC の投与量と腫瘍発生の状況との関係を見ると、0.5mg よりも 1 mg を注射した場合の方が発生率も高く、しかも発生時期も促進されるようである。

Methylcholanthrene の注射個所に形成される MC 肉腫は、組織学的にみて実質型と粘液型の2種に分類されるが、継代移植するには前者の方が好適である。すなわち、実質型のものでは、髄様に増殖した腫瘍組織が大部分を占め、壊死の部分がきわめて少ないからである。

DDD-系マウスの背部皮下に生じた MC 肉腫は、同系統のマウスの背部皮下に10~14日間毎に継代移植して保存している。ただし、長期に亘って継代移植した場合には抗原性の変化が招来されることも考えられるので、本実験には5代以上継代移植した MC 腫瘍は使用していない。

3) 動物の感作：感作に用いる抗原としては、同じ系統のマウスに発生させた MC 腫瘍および継代移植した MC 腫瘍を用いた。摘出した MC 腫瘍には京都大学化学研究所の <sup>60</sup>Co 照射装置 (毎秒約 30R) を用いて 15,000 R を照射したものに、等量の生理食塩水を加えてホモジナイズし、これを抗原液とする。

感作は、1回量 0.15~0.2 cc の抗原液を腹腔および

背部皮下に分注することにより行ない、局所的な感作の目的には、抗原液 0.15 cc を右側大腿および右側足蹠に分注する方法を試みた。このような操作を週1回、連続4週間行なってマウスを感作し、最終注射後1ないし2週間目に MC 腫瘍の移植を行ない、その抗移植性について検討した。

4) 移植：結節性腫瘍の移植にさいしては、髄様に増殖して壊死傾向の乏しい部分を選び、無菌的操作の下に移植を行なった。一塊の組織片としてではなく、腫瘍組織を圧碎して作った腫瘍細胞浮游液による移植も試みたが、圧碎をあまり入念に行なうと移植率が低下するようである。したがって、著者は、MC 腫瘍を組織圧碎器 (tissue press) によってあまり過度にならない程度に圧碎し、それに生理食塩水および抗生物質を加えてよく混じて、適当な腫瘍組織粥を作り、それを注射器で一定量ずつ移植した。

背部皮下に移植する場合には、非麻酔下に目的とする部位に腫瘍組織粥を注入した。リンパ節内に移植する場合には、ラボナールの腹腔内注射による全身麻酔下に、目的とする部位に皮膚切開を加えて左右の鼠蹊リンパ節を露出せしめ、ツベルクリン注射器を以って腫瘍組織粥を移植した。

5) B.C.G. 感作：B.C.G. 0.5 mg 加 complete adjuvant 0.5 cc を DDD-系マウスの背部皮下に注射し、1週間後に B.C.G. 0.5 mg を静注し、さらに、2週間後にツベルクリン反応が陽性転化したことを確認した。

6) 成績の判定：抗移植性効果の判定は、実験動物の腫瘍の発生の有無、および移植後4週間目に摘出した腫瘍の重量でもって行なった。摘出標本は、重量を測定したのち、ホルマリン固定を行ない、型のようにしてパラフィン包埋を行ない、組織切片を製作し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して組織学的に検討した。

## 第2章 実験成績

### I Methylcholanthrene 腫瘍の移植に対する全身性感作の影響

#### A 背部皮下に移植する場合

抗原液を週1回、連続4週間投与して全身性に感作した DDD-系マウス10匹を感作群(I)とし、生理食塩水のみを注射した群(II)および全く無処置の群(III)を対照群として検討を行った。0.1 cc の MC 腫瘍粥を各群のマウスの背部

表 2 全身性に感作した場合における皮下移植の成績

実験群	マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	腫瘍の移植率	腫瘍の重量平均
I	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	4/10	0.26
	腫瘍の重量	0.7	0.15	0.1	0.1								
II	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	6/10	1.44
	腫瘍の重量	3.3	2.9	1.7	0.5	0.15	0.1						
III	腫瘍の有無	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	6/10	2.50
	腫瘍の重量	4.8	4.4	2.9	2.1	0.6	0.2						

I : MC 腫瘍感作群

II : 生食水注射群

III : 無処置群

単位 : gm

皮下に移植した場合のそれぞれの群における腫瘍の移植率およびその平均重量は表2の通りである。

MC 腫瘍感作群では40%に、生理食塩水注射および無処置の対照群では60%に移植が成立した。また、腫瘍の重量平均も感作群では0.26 gm、対照群ではそれぞれ1.44 gm および2.50 gm であって感作による腫瘍の増殖抑制効果が認められる。

さらに、各種臓器をもって全身性に感作した

表 3 種々の抗原液で全身性に感作した場合における背部皮下移植の成績

マウス番号	MC 腫瘍感作群	L. M. N. 感作群	生食水注射群
1	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)
3	(-)	0.10	(-)
4	(-)	0.35	0.20
5	0.25	0.45	0.65
6	0.30	1.66	2.22
7	0.32	2.10	3.20
8	0.36	3.32	3.54
9	0.40	3.58	3.76
10	0.90	3.66	4.10
11	0.92	3.72	4.32
12	1.51	4.30	4.64
13	1.98	4.70	4.82
14	2.20	5.25	5.68
15	3.03	6.04	
腫瘍重量の平均	1.106	3.017	3.375

単位 : gm

場合を対照として、同様の実験を行なった。すなわち、MC 腫瘍で感作した群、肝臓、脾臓、腎臓等の諸臓器の混合物で感作した群(LMN 群と略称する) および生理食塩水のみを注射した群等3群のそれぞれについて、MC 腫瘍を背部皮下に移植してその移植率や増殖状態を比較した。その成績は表3の通りである。

各群の腫瘍の重量平均は、1.10 gm, 3.01 gm, 3.37 gm であり、MC 腫瘍感作群では、対照である他の2群に比べて腫瘍の著明な増殖抑制効果が認められる。

以上のように、MC 腫瘍の背部皮下への移植のさいには、全身性に感作した動物では明らかに腫瘍の増殖抑制効果がみられることが判る。

#### B リンパ節内に移植する場合

第1篇においても記載したように、腫瘍細胞は皮下組織内よりも、リンパ節内に移植されやすいようである。しかも、リンパ節は抗体産生に直接関係を有する組織といわれているので、DDD-系マウスに発生せしめたMC 腫瘍で同系統のマウスを全身性に感作した時、その個体のリンパ節にみられるMC 腫瘍に対する抗移植性が強いかどうかは興味深い点である。その成績は表4に示す通りである。

感作群および対照群の腫瘍の重量平均は、それぞれ1.41 gm および3.62 gm であって、感作群では対照群に比べて、明らかに腫瘍の増殖抑制効果が認められる。

同様のリンパ節内移植実験を、B.C.G. 感作を施した場合についても行なったが、その成績は

表 4 全身性に感作した場合における鼠蹊リンパ節内移植の成績

	マウス 番 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	腫瘍の 重量平均
感作群	右	2.5	1.8	1.6	0.6	0.5	0.8	0.2	0.5	0.6	1.41
	左	2.0	3.1	1.8	3.9	1.7	1.3	1.3	0.8	0.4	
対照群	右	6.7	4.4	3.3	2.3	2.6	2.3	1.8			3.62
	左	4.1	3.9	5.5	5.4	3.1	3.1	2.3			

単位：gm

表 5 全身性に感作した場合における鼠蹊リンパ節内移植の成績

実験群	リンパ節	1	2	3	4	5	6	7	8	9	腫瘍の 発生率	腫瘍の 重量平均
I	右	(←)	(←)	(←)	0.65	0.60	0.65	0.45	1.10		10/16 (62.5%)	0.630
	左	(←)	(←)	0.55	(←)	0.35	0.60	0.65	0.70			
II	右	(←)	0.15	0.20	0.20	0.60	0.65	0.65	1.35	1.90	17/18 (94.4%)	0.647
	左	0.75	0.25	0.45	0.45	0.55	0.55	0.75	0.95	0.60		
III	右	1.40	0.50	0.80	1.30	1.40	1.55	1.40	2.20		15/16 (93.7%)	1.270
	左	(←)	0.45	1.45	1.25	0.90	1.10	1.35	2.00			

I：MC 腫瘍感作群

II：B.C.G. 感作群

III：生食水注射群

単位：gm

表 5 の通りである。

MC 腫瘍で感作したものを I 群、B.C.G. 感作を行なったものを II 群、生理食塩水のみを注射したものを III 群とすると、I 群では 16 個所のリンパ節内移植実験のうち、10 個所(62%)にしか移植が成立しなかったのに対し、II 群および III 群では、それぞれ 18 個所中 17 個所(94%)および 16 個所中 15 個所(94%)と高率に移植が成立した。移植腫瘍の重量平均は、I 群では 0.63 gm II 群ではこれとほぼ等しい 0.64 gm であったのに対し、III 群でははるかに大きく、1.27 gm、であった。それ故、MC 腫瘍感作群では、生理食塩水のみを注射した群に比べて、同じ腫瘍に対する抗移植性ならびに増殖抑制効果が強く認められ、一方、B.C.G. 感作群では、抗移植性はみられないが、強い増殖抑制効果がみられることが判る。

移植腫瘍を組織学的にみると、**図 1 a** のように、移植された腫瘍組織はリンパ節のほぼ中央部において、周囲のリンパ組織に向かって浸潤性

に増殖している。腫瘍組織の中心部は壊死に陥っていることが多く、周辺部に近づくにしたがって、生活力の旺盛な腫瘍細胞が多くみられ、さらに末端部では、**図 1 b** のように腫瘍細胞がリンパ組織内に浸潤性に増殖している。

感作群における移植腫瘍とリンパ組織との接触部では **図 1 b** および **図 2** のように、腫瘍細胞の配列は疎になり、腫瘍細胞群の間に間質の増殖がみられる。

また、**図 3** にみられるように、腫瘍細胞群がリンパ球の集団によって分割されているような像もみられる。症例によっては腫瘍細胞の異常分裂によって巨核の細胞が形成されているのがみられる。

これに対して、対照群では、腫瘍細胞が密に配列して、腫瘍細胞間に間質の増殖やリンパ球が浸潤している所見はほとんどみられない。

以上から、リンパ節内に MC 腫瘍を移植する場合においても、MC 腫瘍感作動物では明らかに抗移植性や増殖抑制効果がみられることが

判明した。

C 感作されたリンパ球様細胞と腫瘍細胞とを混じて移植する場合

リンパ球様細胞としては脾臓からのもの（これをMと略称する）と鼠蹊リンパ節からのもの（これをLと略称する）の2種のものを使用した。また、いずれの場合においても  $4.23 \times 10^6$  個の細胞を用いた群（これを第1群とする）と  $4.23 \times 10^5$  の細胞を用いた群（これを第2群とする）について実験を行なった。感作リンパ球様細胞は抗原液 0.15 cc を腹腔および背部皮下に注射してマウスを感作し、それらの動物の脾臓やリンパ節を摘出して採集した。一方、無処置のリンパ球様細胞は、無処置の動物の脾臓および鼠蹊リンパ節から採集した。その他に、MC腫瘍のみを移植した対照群(MCと略称する)も設定した。腫瘍細胞としては一定量の腫瘍粥を用いた。

その成績は表6に示す通りである。

脾臓由来のリンパ球様細胞と腫瘍細胞とを混じて、背部皮下に移植した場合には、感作M1群では7匹中1匹(14%)に、その対照群では7匹中6匹(86%)に腫瘍の発生をみとめており、感作M2群では、7匹中5匹(71%)に、対照群7匹中6匹(86%)に腫瘍の発生をみとめる。一方、リンパ節由来のリンパ球様細胞と腫瘍細胞とを混じて移植した場合、感作L1群では、6

匹中2匹(33%)に、対照群では7匹中6匹(86%)に腫瘍の発生をみとめており、L2群では感作群でも対照群でもともに、7匹中7匹(100%)にそれぞれ腫瘍の発生をみとめる。

また、腫瘍の発生をみた場合、各々の群における腫瘍の平均重量は、対照群においては1.98 gm (M1), 1.82 gm (M2), 1.46 gm (L1), 1.64 gm (L2), 1.92 gm (MC)であったのに比して、感作細胞群では、はるかに小さくて0.3 gm (M1), 0.84 gm (M2), 0.47 gm (L1), 1.22 gm (L2)であった。すなわち、感作されたリンパ球様細胞だけをもってしても腫瘍の移植に対する抗抵性ならびに腫瘍の増殖に対する抑制効果がみとめられる。

一方、腫瘍細胞の一定量に対して、リンパ球様細胞数の多いほど、腫瘍の移植率も低く、腫瘍の増殖抑制効果も著明である。また、同じ感作リンパ球様細胞であっても、脾臓由来のものがリンパ節由来のものよりも強く腫瘍の発育を抑制することが判明した。

以上の事実から、腫瘍の移植免疫にはリンパ球様細胞が関与するものようであり、細胞性抗体が重要な役割を演ずるものと考えられる。

II Methylcholanthrene 腫瘍の移植に対する局所性感作の影響

腫瘍の移植免疫に関与する抗体は全身に均等に分布しているとはかぎらない。ある特別部位

表6 感作リンパ球様細胞と腫瘍細胞とを混じて移植した場合の成績

マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	腫瘍発生率	腫瘍平均重量	
感作群	L1	(-)	(-)	(-)	(-)	0.2	0.75	2/6	0.47	
	L2	0.1	0.5	1.1	1.4	1.5	1.65	2.3	7/7	1.22
	M1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.3	1/7	0.3
	M2	(-)	(-)	0.05	0.06	0.75	1.45	2.4	5/7	0.84
対照群	L1	(-)	0.2	0.5	0.75	1.45	2.7	3.2	6/7	1.46
	L2	0.5	0.65	1.05	1.6	2.3	2.6	2.8	7/7	1.64
	M1	(-)	0.6	1.5	1.8	2.3	2.8	2.9	6/7	1.98
	M2	(-)	0.4	0.75	1.9	2.25	2.3	3.4	6/7	1.82
	MC	0.6	1.1	1.6	1.9	2.2	2.8	3.3	7/7	1.92

MC: 腫瘍細胞のみを移植したもの

単位: gm

に感作を行なった場合には、その部位の所属リンパ節に特に抗体が多量に分布していることも考えられる。

著者は、MC 腫瘍を一定部位に投与して、マウスを感作し、その所属リンパ節と他のリンパ節との間に抗移植性に差異がみられるかどうかを検討した。まず、DDD-系マウスの右側大腿および右側足蹠に抗原液 0.15 cc を分注し、週1回、連続4週間にわたって感作を行なった。しかるのちに、感作を行なった側の鼠蹊リンパ節と感作を行っていない側の鼠蹊リンパ節に、それぞれ 0.125 cc の MC 腫瘍粥を移植して、それらの部位における腫瘍の発育を観察した。その成績は表7に示した通りである。

感作を行なった側では、移植を行なった10個所のうち6個所において、一方、対照側では10個所のうち7個所において腫瘍の発生をみとめ、抗移植性の差異はほとんどみとめられない。しかし、それぞれの移植腫瘍の平均重量は感作側では 1.60 gm であるのに対し、対照側では、2.68 gm であって、感作側のリンパ節においては腫瘍の増殖に対する抑制現象がみとめられる。

### 第3章 綜括ならびに考按

1) 腫瘍の移植免疫：腫瘍の移植免疫の成立は古くから、広く行なわれてきたが、この種の実験は過去において宿主として雑系動物を用いていた。したがって、成立した移植免疫の起因となる腫瘍の抗原性には腫瘍特異抗原以外に腫瘍発生動物と移植動物との組織適合性因子の差、腫瘍の継代移植間の因子の変位などが関与することを考慮すべきである。一方、最近の免疫遺

伝学的发展とともに腫瘍-宿主間に genetic なずれのない場での研究が必要となって来た。それ故、腫瘍の移植免疫の研究のためには、組織適合系 (histocompatibility system) の明らかな純系動物に発生した腫瘍を用いて行なうべきである。

組織適合系を考慮に入れた移植免疫の実験を行なって腫瘍特異抗原を証明したという報告は、Gross<sup>23,24)</sup> (1943, '45), Foley<sup>19)</sup> (1953) らが最初に発表し、Prehn<sup>44,45)</sup> (1957, '61) Klein<sup>35,36)</sup> (1960, '66), Old<sup>41)</sup> (1962), 臼淵<sup>62,63)</sup> (1962, '65), Weiss<sup>64)</sup> (1964), Alexander<sup>1,2)</sup> (1964, '66) 武田<sup>55~57)</sup> (1964, '66, '67) らによって確認されている。

Gross<sup>23,24)</sup> は C3H マウスの皮下に Methylcholanthrene を注射して作った MC 腫瘍の小量を、同系統のマウスの皮下に接種しておいた場合、同一腫瘍の再移植に対して抵抗性を示すことを認め、腫瘍免疫の存在を主張している。その場合、一度に大量の MC 腫瘍を投与するよりも少量の MC 腫瘍を数回にわたって繰り返し投与した方が、より強い抵抗性を賦与することも明らかにしている。

他方、Foley<sup>19)</sup> は C3H マウスの皮下に作った MC 肉腫と自然発生の乳癌との2種の腫瘍を用いて移植実験を行なった。彼は、緊縛免疫法を施行したのちに、同じ腫瘍を再移植し、再移植に対する宿主マウスの感受性は、腫瘍の種類によって異なることを明示している。

また、R.T. Prehn および J.M. Main<sup>44)</sup> は純系マウスの皮下に MC 腫瘍を生ぜしめ、これに緊縛免疫法を行なうことにより、MC 腫瘍に対する抗移植性を賦与せしめることができるこ

表7 <sup>60</sup>Co 照射 MC 腫瘍で局所性に感作した場合における所属リンパ節内移植の成績

マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	腫瘍発生率	腫瘍平均重量
感作側	(+)	(+)	(+)	(+)	0.75	1.0	1.2	1.4	1.9	3.35	6/10	1.60
対照側	(+)	(+)	(+)	0.95	1.6	2.3	2.8	3.2	3.8	4.1	7/10	2.68

単位：gm

とを知った。正常組織に対して緊縛免疫法を行なっても MC 腫瘍に対する移植免疫が成立しなかったことより、彼等は、MC 腫瘍には正常組織にはみられない特異抗原が存在すると結論している。さらに、腫瘍組織を抗原として投与することによって、ある種の癌腫に対して免疫を賦与せしめうることも示唆した。

Klein<sup>36)</sup> は Methylcholanthrene によってマウスの足に腫瘍を発生せしめ、それを足と共に除去して、これに 15,000 R の X 線を照射したものを、腫瘍が発生した個体および同系の他の個体に反復注射した。彼は、それらの動物に、同系動物に継代移植して保存した同じ腫瘍を移植したが、それらの動物では全く処置を行っていない対照動物に比べて明らかに移植に対する抵抗性が増強していることを認めている。このような現象は、正常組織を同様に処理したもので、予め感作した場合には全く認められないから、腫瘍特異抗原による現象と解される。また、彼の実験は、発癌個体自身にも癌免疫が成立することを始めて明らかにした点で意義深いものがある。

その後、Weiss, Faulkin, De Ome<sup>40)</sup> らは、C3H マウスの乳癌を用いて、発癌個体自身にも自家癌の再移植に対する抵抗性が存在することを明らかにし、そのような動物では、感作部位の領域リンパ節は肥大していると述べている。

L. J. Old, E. A. Boys, D. A. Clarke, E. A. Carswell<sup>41)</sup> らも、Methylcholanthrene および dibenzpyrene (以下これを DBP と略称する) をマウスの皮下に注射して腫瘍を発生せしめ、それらの2種の腫瘍を同系移植する場合にみられる腫瘍免疫について詳細な検討を加えた。その結果、(i) DBP 腫瘍は MC 腫瘍よりも抗原性が低いこと、(ii) 雌マウスに発生せしめた MC 腫瘍は雄マウス発生せしめたものよりも抗原性が高いこと、(iii) Methylcholanthrene の皮下注射後短かい潜伏期で発生した MC 腫瘍ほど抗原性が高く、潜伏期の長いものほど抗原性が低いこと、(iv) trocar の一杯量で検査したさいには抗原性が認められなかった MC 腫瘍でも、腫瘍細胞を適当量に減らして移植すれ

ば、同系移植免疫が証明できること、(v) 25ないし30代まで継代移植された MC 腫瘍においても腫瘍特異抗原が証明されること、(vi) 腫瘍組織を増量しながら反復注射すると、 $10^8$  個の腫瘍細胞の移植に対しても抵抗性を示す程度まで同系移植免疫を獲得せしめることができること、(vii) ただし、そのような免疫動物の血清は in vitro および in vivo で腫瘍細胞の増殖に対して、何らの影響も示さないこと、等多くの事実を明らかにしている。

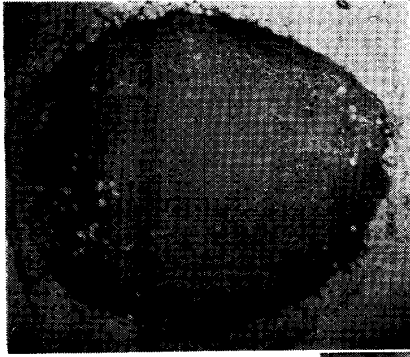
本研究において、著者は DDD-系マウスの背部皮下に作った MC 腫瘍を摘出し、それに予め  $^{60}\text{Co}$  を 15,000 R 照射したもののホモジネートで動物を感作し、それらの被感作動物に同一腫瘍を再移植した場合にみられる抗移植性を分析的に検討した。その成績は表 2 および表 3 に示すように、全身性に感作された動物では、腫瘍の背部皮下移植にさいして明らかに抗移植性が認められた。このような成績は、Klein, Old, 武田 その他の報告とほぼ一致しており、MC 腫瘍がマウスの正常組織にはみられない独自の腫瘍抗原を有していることを示すものである。

このような抗移植性が均等に全身的にみられるものか、あるいは部位によって差異が認められるかに関して、著者<sup>33)</sup>は、著者自身が考案したリンパ節内移植法(第1篇に詳細に記載した)を用いて、全身性感作および局所性感作の影響についても分析的に検討した。

その成績は、前述のように、腫瘍によって感作した局所の所属リンパ節には、腫瘍の移植に対してわずかながら抗移植性がみられるとともに、腫瘍の増殖がかなり著明に抑制されることが判った。すなわち、腫瘍の移植免疫は全身性にも招来されるが、感作を施した局所においてもとくに強いようである。

2) 抗体の性状：どのような抗体が如何なる機構で作用して、抗移植性が発揮されるかということに関しては、まだ充分解明されていない。例えば最も基本的な問題であるところの、抗移植性なる免疫現象が細胞性因子によるものか、あるいは体液性因子によるものかということす

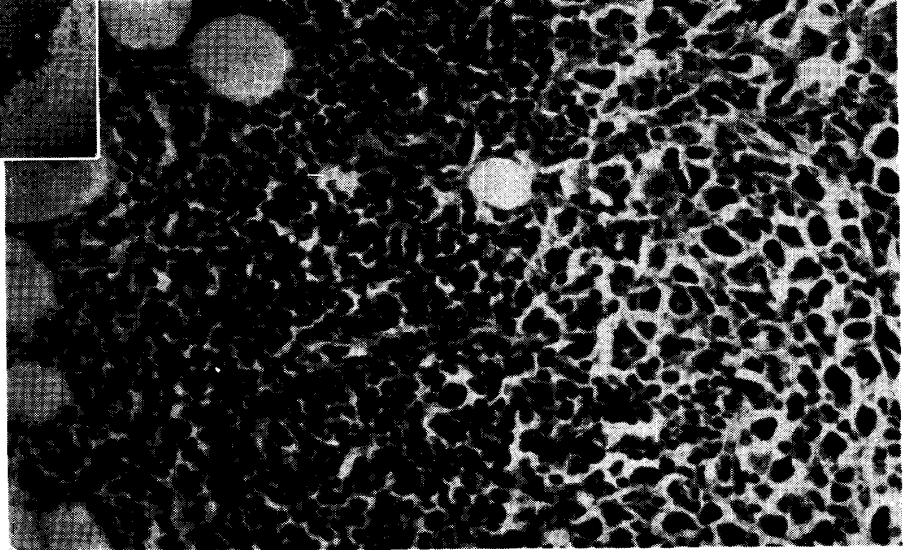




(a)

図1 (a) 感作動物のリンパ節内に移植された MC 腫瘍。移植腫瘍の中央部は中心壊死に陥っているが、周縁部には腫瘍細胞が多数みられる。さらにその外側をリンパ球が密に取り囲んでいる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×2.5)。(b) (a)の周縁部の強拡大で、腫瘍組織(右側)の外側を密に配列したりリンパ球(左側)が取り囲んでおり、腫瘍細胞の中には巨核のもの

も認められる。また、腫瘍細胞の間には新たに侵入したと思われるリンパ球も見出される。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)



(b)

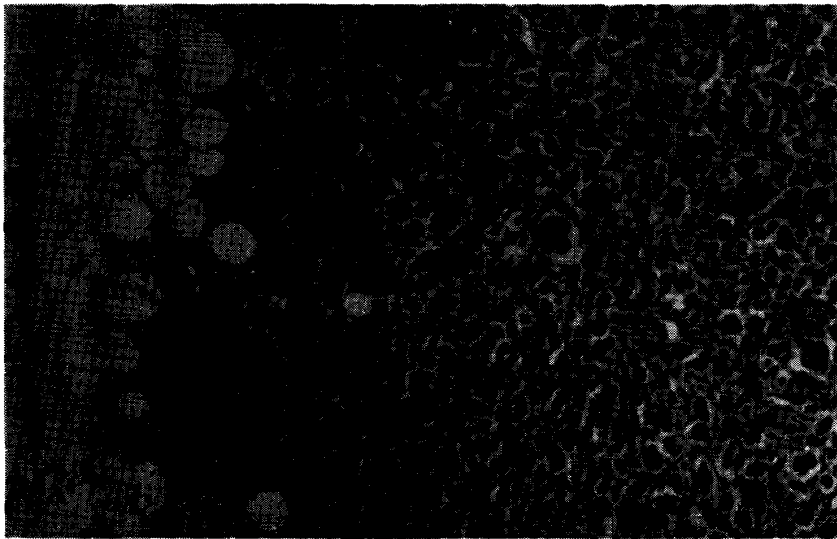


図2 感作群のリンパ節内に移植された腫瘍。右側が腫瘍細胞。左側がリンパ節組織で、白く抜けている部分は脂肪組織である。核のみの異常に大きくなった腫瘍細胞が見られ、また、Stroma の増強も認める。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)。

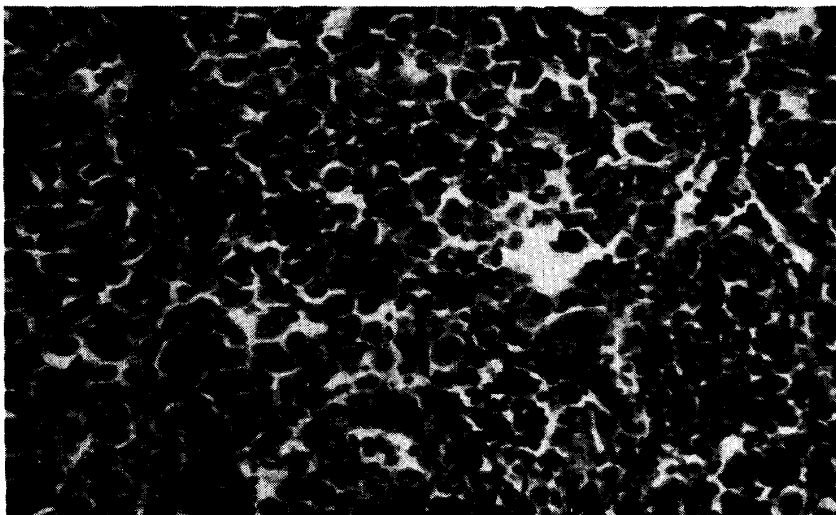


図3 感作群のリンパ節内に移植された腫瘍。左上部が腫瘍細胞。右下部がリンパ組織で、腫瘍組織の中にリンパ球がかなり多くみられ、腫瘍細胞群がリンパ球の集団によって分割されているようにみえる。(対物レンズ×20)。

らもまだ明快な解答が得られていない。細胞性因子と体液性因子との両因子を分析的に検討する方法<sup>42)</sup>としては従来から (i) 免疫動物から採集した血清または免疫学的活性細胞を他の個体に移入して、それによって腫瘍に対する抗移植性が伝達されるかどうかを検討する方法, (ii) *in vitro* で抗血清または免疫学的活性細胞と腫瘍細胞を *incubate* した場合にその腫瘍細胞が破壊されるかどうかを検討する方法, この二つの方法が主として行なわれている。

(i) の方法, すなわち, 受身伝達の方法で検討を加えたものとしては, Mitchison, Billingham, Delorme 等があげられる。

Mitchison<sup>39)</sup> は, 腫瘍の同系移植免疫においては, 免疫動物のリンパ組織からえた細胞を移入することによって, 明らかに抗移植性が受身伝達されるが, 免疫動物の抗血清では受身伝達されないことを確かめている。

さらに, Billingham<sup>12)</sup> らは, 他の個体に移植された免疫リンパ球様細胞が, なおその免疫学的な機能を維持していることを立証するとともに, この現象を “*adoptive immunity*” と呼んでいる。

E. J. Delorme, P. Alexander<sup>1)</sup> 等は Benzopyrene 腫瘍でラットを感作し, 被感作動物から集めたリンパ球を, 腫瘍が原発したもとの動物に移入すると, 原発性 Benzopyrene 腫瘍の増殖が抑制され, 症例によっては, 強い *regression* がみられることを報告している。その場合, リンパ球は繰り返し注入することが必要であるが, 彼等は, 腫瘍に対する増殖抑制現象は, 腫瘍特異抗原で感作されたリンパ球の直接および間接作用によるものであると推定している。

他方, (ii) の方法, すなわち, *in vitro* における細胞に対する傷害性をみる方法で検討を加えたものとしては, Kidd, Klein, Sjögren 等がある。

Kidd<sup>30)</sup> は, リンパ腫細胞とそれに対して感作された動物から得たリンパ節の細片等とを混じて *in vitro* で *incubate* したのち, そのリ

ンパ腫細胞をマウスに移植して, その感受性をみている。それによると, 被感作動物のリンパ節と *incubate* した場合には, リンパ腫の成長は抑制されるが, 被感作動物の血清或いは, 無処置のマウスのリンパ節等と *incubate* しても, リンパ腫の成長に対しては何らの抑制効果もみられなかったようである。

また, Klein, Sjögren<sup>34)</sup> 等は, MC 腫瘍について同様の事実を確認している。そして, 彼等の腫瘍の移植や増殖を抑制せしめる免疫反応には体液性因子ではなくて, 細胞性因子 (*cellular factor*) が関与していると考えている。

著者の実験は, 一定量の MC 腫瘍細胞と血清を含んでいない感作リンパ球細胞とを混じてマウスの背部皮下に移植し, その MC 腫瘍の増殖の良否により, 抗腫瘍性の有無を検討しようとするものである。いいかえると, 腫瘍細胞に対する感作リンパ球細胞の作用を *in vivo* で観察したことになる。その成績は, 表6に示す通りで, 腫瘍細胞の数に比して感作リンパ球細胞の数を増すほど抗移植性は向上する。その場合の抗移植性はリンパ節由来の感作リンパ球細胞よりも, 脾臓由来のものにおいてより強いことが判明した。このような実験成績は, 腫瘍の移植免疫においては, リンパ球系の細胞性因子が関与しているとする Kidd, Klein, Sjögren, Alexander 等の説を裏書きするものである。

## 結 論

純系マウスに生じた MC 腫瘍で予め感作した同系マウスが, その腫瘍の再移植にたいして, 抗移植性を示すかどうかに関して実験的に検討し, さらに, その場合に作用する抗体の性状や作用機序等についても考察を加えた。著者のえた成績を要約すると以下の通りである。

1) MC 腫瘍で全身性に感作されたマウスでは, 同腫瘍の皮下移植に対して, 抗移植性および移植腫瘍の発育抑制効果が認められる。

2) MC 腫瘍で全身性に感作された場合と, 正常組織で同様に感作された場合とについて比較すると, 移植腫瘍の発育抑制効果は後者よりも前者においてはるかに高い。

3) MC 腫瘍で全身性に感作されたマウスのリンパ節内に、同腫瘍を移植した場合にも、皮下移植の場合と同様に抗移植性および移植腫瘍の発育抑制効果が認められる。

4) MC 腫瘍で感作した場合と B.C.G. で感作をした場合とについて、リンパ節内移植法と比較したが、移植腫瘍の発育抑制効果は前者も後者もともに同程度であるが、抗移植性効果は前者だけに著明にみられる。

5) リンパ節内に移植された腫瘍を組織学的にみると、感作群では、対照群に比べて、腫瘍細胞はしばしば巨態化し、その配列が疎となり、間質の増殖が著るしい。すなわち、感作群では、

間質反応が著るしく、腫瘍細胞の変性崩壊がみられる。

6) 感作リンパ球と腫瘍細胞とを混じて移植した場合にも、抗移植性および腫瘍の発育抑制がみられるが、その効果は、腫瘍細胞数に対する感作リンパ球数の割合を増す程著明であり、かつ、リンパ節由来の感作リンパ球よりも脾臓由来のものにおいて強い。このことは、抗移植性免疫現象には、リンパ球を担い手とする細胞性抗体が関与しているものと考えられる。

7) MC 腫瘍で感作した場合、感作部位の所属リンパ節においては、他のリンパ節に比べて腫瘍に対する発育抑制効果が特に著るしい。

## 〔第4篇〕 腹腔内挿入 Diffusion Chamber 内での MC 腫瘍の発育に及ぼす免疫の影響

### 〔目 次〕

緒 言

第1章 実験材料ならびに実験方法

第2章 実験成績

I AA (0.80 $\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での MC 腫瘍の発育

II HA (0.45 $\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での MC 腫瘍の発育

第3章 綜括ならびに考按

結 論

全篇綜括

参考文献

### 緒 言

第3篇において、著者は MC 腫瘍で感作したマウスでは、同じ腫瘍の再移植に対して発育抑制現象が認められることを示した。そして、そのような現象に関与するものとしては、免疫学的因子、すなわち、iso-antibody が考えられるが、移植部の組織学的所見からして、リンパ球をその担い手として重視すべきであるとの結論に達した。ただし、その作用機序に関してはまだ不明の点が多いので本篇においては、著者が考案した京大胸部研式 Diffusion Chamber (第2篇に詳細に記載した) を用いて、その解

析を試みた。すなわち、MC 腫瘍で感作したマウスに、同じ腫瘍を移植した時にみられる発育抑制現象は、宿主動物の細胞が腫瘍細胞に直接作用して招来されるのかどうか、さらに、細胞の関与があるとすれば、どのような種類の細胞が関与し、また、細胞性抗体や血清抗体がどのように腫瘍細胞に作用するか等について分析的に検討した。

Diffusion Chamber は使用目的に応じて、いろいろ工夫されているが、普通は両側に2枚の Millipore Filter 膜を備えた小型の容器である。この中に組織片をいれて動物の腹腔内または皮下に挿入すれば、移植組織に対する宿主の影響を分析的に観察することができる。

Algire<sup>3)</sup> が初めて、腫瘍の移植免疫の領域においてこの方法を用いて実験を行ない、Gabourel<sup>20)</sup> もまた、独自の Diffusion Chamber を考案して実験を試みている。この二人の輝かしい業績の発表以来、この方法は多くの人々によって改良が加えられ、広く用いられるようになった。前述のように、腫瘍の移植免疫にはいわゆる細胞性抗体が重視されているが、その作用機序を解析するには、Diffusion Chamber 法はきわめて優れた方法であろう。

第1章 実験材料ならびに実験方法

1) 実験動物：京大純系動物センターから供給された DDD-系マウスで、体重 20~25 gm, 生後2カ月のものを使用した。

2) Millipore Filter の選択：Millipore Filter (以下これを M.F. 膜と略称する) は Millipore Filter Corporation, Bedford, Massachusetts の製品を使用し、また、孔の大きさによって9種に分けられているが、本実験には孔径 0.80 μ の AA 型と孔径 0.45 μ の HA 型のものを使用している。前者は細胞の通過を許すが、後者は許さない。

3) Diffusion Chamber の作製：(以下 Diffusion Chamber を D.C. と略称する)。D.C. 材料の消毒法および D.C. の作製法は、第2篇と同様である。著者らが、マウスの実験に好都合のように工夫した京大胸部研式の D.C. を用い、標的細胞 (Target Cell) としては、DDD-系マウスに発生せしめた MC 腫瘍および同系統のマウスに継代移植したものをを用いる。標的細胞の量は 1~1.5 mm<sup>3</sup> である。

4) 動物の感作：抗原液の作製および感作方法は第3篇と同様である。

感作は週1回の割合で連続4週間行ない、そののち、目的に応じた D.C. を腹腔内に挿入する。D.C. 挿入にあたっては、ラボナールの腹腔内注射による全身麻酔下に開腹して、腹腔内に D.C. を挿入し、感染防止の目的で腹腔および皮下にペニシリン注射を行なう。

5) 成績の判定：D.C. を腹腔内に挿入してから、4週間経過してから、その動物を屠殺して D.C. をとり出し、標的細胞の増殖の度合、標的細胞や D.C. に対する組織反応の状態、その他を肉眼的ならびに組織学的に観察した。組織学的検索にあたっては、摘出標本を M.F. 膜も含めて、ホルマリン固定し、型のようにしてパラフィン包埋を行ない、切片を作り、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して観察した。

標的細胞は、D.C. 内で塊状となって成長増大するから、その成長増大の度合は、D.C. 内で占める腫瘍細胞塊の大きさでもって判定した。すなわち、側方の1枚の M.F. 膜を D.C. の枠から切り離して、腫瘍塊を肉眼的に観察し、その大きさによって成長の度合を (-)~(Ⅲ) までの6段階に分けて表示した。表1に記したように、腫瘍塊が D.C. 内に全く認められないものを (-), D.C. のほぼ1/5を占めるものを (+), 2/5を占めるものを(++)、3/5を占めるものを(Ⅲ), 4/5

表1 AA型(0.80μ)のD.C.の腹腔内移植の成績

マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	8	平均
感作群	(-)	(-)	+	+	++	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	+~++
対照群	+	++	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ~Ⅲ

Target Cell の大きさ：  
 Chamber 内 0...(-) Chamber 内 3/5...Ⅲ  
 Chamber 内 1/5...+ Chamber 内 4/5...Ⅲ  
 Chamber 内 2/5...++ Chamber 内 5/5...Ⅲ

を占めるものを(Ⅲ), D.C. 全体をほとんど満しているものを(Ⅲ)と判定する。

第2章 実験成績

I AA (孔径 0.80 μ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での MC 腫瘍の発育

まず、体液も細胞もともに通過しうる孔径 0.80 μ の AA 型 M.F. 膜を用いて D.C. を作成し、その内における MC 腫瘍の発育に関して観察を行なった。

抗原液で週1回、連続4週間全身性に感作した DDD-系マウスを感作群とし、生理食塩水のみを同様に週1回、連続4週間投与した DDD-系マウスを対照群として実験を行なった。使用したマウスは各群ともに健常 DDD-系マウス8匹ずつである。

1) 実験成績

MC 腫瘍 1~1.5 mm<sup>3</sup> を入れた D.C. をマウスの腹腔内に挿入し、4週間してから、その動物を屠殺剖検して、D.C. 内の腫瘍組織の発育増殖の様相を観察した。

その成績は、表1に示す通りである。

腫瘍の発育が高度に抑制されて、ほとんど腫瘍塊が認められないもの〔分類(-)〕は、感作群において2例みられるだけで、対照群では全くみられない。一方、発育が旺盛で分類(Ⅲ)~(Ⅲ)に相当するものは、感作群では1例しかみられないのに反し、対照群では4例を数える。また、腫瘍の発育の平均値は、感作群では(+)-~(++)であるのに対し、対照群では(Ⅲ)~(Ⅲ)

で、両群の間に有意の差がみられる。

## 2) 組織像

この実験に使用した孔径  $0.80\mu$  の AA 型の M.F. 膜は、**図 1**、**図 2**、**図 4 b**、**図 5**、**図 6** に示した組織像からも明らかなように、各種の体細胞の通過を許している。しかし、体細胞が、AA 型の M.F. 膜を通過するには孔径が、さらに大きい SM 型のものを通すよりも一層時間を要するようである。

組織像から推定すると、予め MC 腫瘍で感作したマウスの腹腔内に、MC 腫瘍細胞をいれた D.C. を挿入した場合、腫瘍細胞は、最初のあいだは増殖して腫瘍塊を作るが、宿主の細胞成分および体液成分の侵入により次第に変性崩壊するようになる。その変性崩壊にあたっては、腫瘍細胞の配列が、**図 1** や **図 3** のように、疎、かつ不規則になり、さらに変性が進むと腫瘍細胞の融解が招来され、生活力を保っている腫瘍細胞は部分的にわずかに認められるだけとなる。

このような変化の段階をよく示しているのが、**図 1** や **図 2** である。

AA 膜に接した部分の腫瘍組織は変性融解しており、腫瘍細胞の崩壊に由来する裸核も多数みられる。一方、腫瘍組織の中央部には生活力を保っている腫瘍細胞が少数みられる。

D.C. 内の腫瘍の発育増殖が、とくに強く抑制されたと思われる症例では、腫瘍組織の壊死融解が強く、D.C. の AA 膜の表面には、リンパ球の浸潤がきわめて豊富であって、それに混じって少数の赤血球や多核白血球がみられる。また、感作群では、D.C. 内での腫瘍の成長増殖がたとえ盛んであっても、**図 3** に示すように、対照群に比して、宿主のリンパ球が多数 D.C. 内の腫瘍組織内に浸潤しており、その部位の腫瘍細胞の配列は乱れ、腫瘍細胞も変性に陥っている。以上のことより、D.C. 内で MC 腫瘍の発育が抑制される現象には、感作による免疫学的機構が大きな役割を演じているように思われる。

一方、対照群でも、**図 4 b**、**図 5**、**図 6** のように、AA 膜を通してリンパ球、赤血球、多核

白血球等が侵入しているが、AA 膜の内外や D.C. 内部にみられるリンパ球の数は感作群に比べてはるかに少ない。また、D.C. 内には、**図 4 a**、**図 4 b** のように生活力を保っていると思われる腫瘍細胞が、充満していることが多く、とくに**図 5**、**図 6** のように、たとえ中心壊死が招来されていても、AA 膜に接した部分においては、生活力旺盛と考えられる細胞が多くみられることが、感作群と著るしく異なった所見である。

## II HA (孔径 $0.45\mu$ ) の Millipore Filter を用いた Diffusion Chamber 内での MC 腫瘍の発育

つぎに、孔径  $0.45\mu$  の HA 型の M.F. 膜を用いて D.C. を作り、その中での MC 腫瘍の発育を検討した。このような Chamber 内には体液だけが入り、細胞の通過は許されない。それ故、このような型の D.C. を用いると、MC 腫瘍の発育に対する細胞性因子の影響を除外して体液性因子の影響だけを選択的に観察することができる。

感作方法および実験群の設定は前節 I に示したのと同様である。

### 1) 実験成績

MC 腫瘍  $1\sim 1.5\text{ mm}^3$  をいれた D.C. を、マウスの腹腔内に挿入し、4 週間経過してからその動物を屠殺剖検して腫瘍の発育程度を観察した。

その成績は**表 2** に示す通りである。

感作群では D.C. を挿入したマウス 8 匹の全症例において腫瘍の発育は全く認められなかった。これに対して、対照群では (+) が 3 例、(++) が 1 例、(+++) が 2 例、(####) が 2 例であっ

**表 2** HA 型 ( $0.45\mu$ ) の D.C. の腹腔内の移植の成績

マウス番号	1	2	3	4	5	6	7	8	平均
感作群	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
対照群	+	+	+	++	+++	+++	####	####	++~+++

て、腫瘍発育の平均は(廿)~(卅)であった。このことより、Chamber内の腫瘍の発育は対照群に比して感作群において著明に抑制されている。

## 2) 組織像

感作群においては、腹腔内に挿入したD.C.内の腫瘍組織は、**図7**、**図9**、**図10**、**図12**のように、大部分が変性壊死に陥り、ごく稀れに**図8**のように細胞変性の途上にあると思われる像もみられる。また、HA膜の表面には**図7**、**図10**、**図12**、**図13**にみられるように、宿主のリンパ球が多数集まっているが、**図11**のように、リンパ球の他に少数の赤血球や多核白血球もみられる。いずれの場合でも、HA膜内には細胞の侵入は全くみられない。

D.C.内の腫瘍の発育増殖が、とくに強く抑制されたと思われる症例では、腫瘍組織の変性崩壊がきわめて高度に招来されている。**図7**および**図12**はこのような症例の組織像であって、M.F.膜表面への宿主のリンパ球の集合が高度で、あたかもリンパ節のような像を呈している。

一方、対照群においても、**図13**のように、HA膜の表面にリンパ球の付着を認めるが、その数は、感作群に比べてはるかに少ない。D.C.内にいれた腫瘍組織の成長増殖が高度である時には、Chamber内一杯に増殖して変性崩壊に陥っている像もしばしばみられる。**図14**はそのような組織像を呈した症例であって、この場合の変性崩壊は腫瘍組織がChamber内に充満した結果栄養障害に陥ったものと考えられる。

## 第3章 綜括ならびに考按

### I D.C.法を用いての腫瘍の移植免疫に関する研究

Algire<sup>3)</sup>がD.C.法を移植免疫における細胞性抗体の一手段として考案して以来、抗体の作用機序を分析的に調べることを目的として、しばしばD.C.法が使用されるようになった。

Algire, Prehn, Weaver<sup>4,5)</sup>らは、感作したマウスの腹腔内に、C3HBA乳腺腫瘍、Harder腺およびその他の組織をいれたHA型のD.C.を移植した場合、それらの組織がD.C.内でよく発育するが、同一マウスの皮下組織に移

植した場合には、それらの組織は、ただちに破壊されることを見いだした。さらに、彼等は、感作リンパ球を標的細胞とともに、Chamberにいれると、標的細胞は1週間以内に死滅することを見いだした。このような事実に基づき、Algireらは、標的細胞を死滅させるものは、感作されたリンパ球であり、標的細胞と感作リンパ球とが接触することにより両者とも死滅し、そのさい、拡散物質(diffusible substances)が放出されて細胞の崩壊が起るものであると考えている。同研究はD.C.法を用いて、移植組織に対する細胞性抗体ならびに、体液性抗体の作用を分析的に検討した最初のものである。

Amos, Wakefield<sup>6,7)</sup>らは、細胞を通さないM.F.膜で作ったD.C.にマウスの腫瘍細胞(DBA/2リンパ肉腫)をいれて、これをマウスの腹腔内に移植した。そして、彼等は、細胞を通さないD.C.内に腹腔内の体液性抗体が侵入しうること、Chamber内の腹水腫瘍細胞はinitial dropなる現象を示したのち、ふたたび急速に増加すること、および抗DBA/2リンパ肉腫の75%が迅速に破壊され、抗血清の注射をくり返せばその間は腫瘍細胞の増殖が抑制されること等多くの興味ある現象を観察し、同時に、補体の存在が腫瘍の増殖に対する抑制因子となりうることも認めている。

Gabourel<sup>21)</sup>は細胞を通さないD.C.内のL-fibroblastは同細胞で感作されたC3Hマウスの腹腔内ではその増殖が抑制されること、および、抗L-fibroblast血清の注射をうけたマウスの腹腔内においても強い増殖抑制を受けることを見いだして、同種移植における流血中の増殖抑制因子、すなわち、体液性抗体の重要性を主張している。

著者<sup>32)</sup>は<sup>60</sup>Coを照射したMC腫瘍で感作したマウスの腹腔内に、同一腫瘍をいれたD.C.を挿入したさい、感作群においては、M.F.膜の孔径には関係なくD.C.内の腫瘍の増殖が抑制されることを認めた。また、挿入されたD.C.の周囲にはリンパ球を主体とする宿主細胞が非常に多くみられ、増殖抑制効果の著るしい症例

においては、D.C.の周囲にリンパ球が、とくに豊富に集まっていることが観察された。

Algire, Weaverらは、D.C.を用いての彼等の実験成績に基づき、腫瘍の同種移植に対しては、リンパ球を担い手とする細胞性抗体が関与するであろうと推定している。しかし、著者の実験では、細胞の通過を許さないM.F.膜を用いた時にも腫瘍の増殖抑制効果が認められた。すなわち、著者の成績からすると、宿主細胞が直接関与しないような条件下でも腫瘍の増殖が抑制されるわけで、細胞性抗体を重視するAlgire等の説といささか異なる所見である。しかし、AmosやGabourelは著者と同様の成績を得ている。このような事実から、感作されたリンパ球は、直接腫瘍細胞に作用しなくてもD.C.の周りに集まり、M.F.膜の表面で抗体を含んだいわゆる拡散物質を放出して腫瘍細胞の増殖を抑制するものと推定される。

## II 標的腫瘍細胞の増殖抑制効果の本態、ことに感作リンパ球のAgglutinationについて

最近 *in vitro culture* 法あるいは細胞移入法を用いて、免疫動物のリンパ系の細胞が標的腫瘍細胞に対して *agglutination* を起してその腫瘍細胞を崩壊させることが報告されて来た<sup>6,49,50)</sup>。ただし、このような細胞溶解現象が招来されるには、感作リンパ球と標的細胞とが接触することが必須条件であるかどうかが一つの大きな問題とされている。

Rosenau, Moon<sup>48)</sup>らは、C3Hマウス由来のL細胞でBALB/Cマウスを感作し、その個体から採取した感作リンパ球が、L細胞に及ぼす影響について、*in vitro culture* 法で観察している。その成績によれば、感作リンパ球が、L細胞の周囲に群集したのちにL細胞の細胞溶解が起り、標的細胞の大半が破壊されるのであると述べている。彼等によると、細胞溶解反応には、感作リンパ球とL細胞とが密着する必要があり、他方、赤血球凝集反応、ゲル内沈降反応、補体結合反応などを用いて検索しても、免疫動物の血清中には抗体が証明出来なかったという。

Koprowski, Fernandes<sup>37)</sup>らも、モルモット

の脊髄組織 (cord tissue) で感作されたラットのリンパ節細胞を用いて同様の事実を認め、感作リンパ球が標的細胞に集合するこのような現象を *contactual agglutination* と名づけている。彼等も述べているように、この *Contactual Agglutination Test* は組織培養系での免疫反応を探究するのにすぐれた方法である。

また、Taylor, Culling<sup>54)</sup>らは、Fibroblastで感作した同種および異種動物の脾細胞も同様の現象を示すことを認め、さらに、*agglutination* が起るためには感作リンパ球が活着している必要があることを証明した。

花岡<sup>27,28)</sup>は、抗体産生細胞の立場から小リンパ球の機能を探究したさい、MC腫瘍細胞と感作小リンパ球との間に、*contactual agglutination* を認めている。一方、田中、折田<sup>60)</sup>らは、MC腫瘍を同系移植した時に、その領域リンパ節細胞が群集接着して腫瘍増殖を抑制することを明らかにし、さらに、そのリンパ節細胞をトリプシン処理すると抗移植性が消失することも確かめている。

以上のように、多くの *in vitro* における実験によって感作リンパ球が標的細胞の周囲に群集し、密着することにより細胞溶解現象が起り、腫瘍細胞の増殖抑制ないしは減少が招来されることが証明された。それでは、*in vivo* においても感作リンパ球が同様の現象を招来するかどうか問題となってくる。

Algire, Weaver<sup>45)</sup>らは、D.C.法を用いて *in vivo* で実験を行ない、標的細胞が感作動物由来のリンパ球とともに見いだされる時には必ず両者とも変性壊死に陥っていることを見いだし、標的細胞の増殖抑制反応には、感作リンパ球の直接的関与があると説いている。

Wissler, Flax<sup>66)</sup>らも、感作リンパ球は腫瘍細胞の近くで細胞毒物質を放出する機能を備えていると述べている。

また、D.B. Amos<sup>7,8)</sup>らも、D.C.法を利用してAlgireと同様の成績を得たが、そのさい、免疫脾細胞と腫瘍細胞とが体液のみを通すM.F.膜で数mmの距離に分離されていても、両方の細胞の大半が破壊されていることを見い

だした。さらに、彼は一部の症例では、免疫動物の血清、腹水あるいは Chamber 中に抗体が見いだされることもあることを認め、同種移植における免疫反応に関しては、体液性抗体も重要な役割を演ずると主張している。腫瘍の同種移植に関する彼の見解を要約すると以下の通りである。(i) 宿主細胞は Graft に対する iso-antibody を放出しながら、宿主細胞自身は溶解する。(ii) 免疫反応の開始には iso-antibody と補体が必要である。(iii) 宿主の “immune” 細胞が溶解する時には、Graft 細胞を溶解する酵素が放出される。(iv) Graft が排除されたのちには、ただちに酵素拮抗作用が高まる。

D.C. 法を用いた *in vivo* における著者の実験によれば、感作リンパ球が標的腫瘍細胞に傷害性に働く時には、必ずしも標的細胞に密着する必要はないように思われる。AA 型の M.F. 膜を用いた時、感作リンパ球は標的腫瘍細胞に密着することが出来るから、この時は、contactual agglutination を起してその標的細胞の破壊を招来する。しかし、HA 型の M.F. 膜のように、細胞の通過を許さない M.F. 膜を用いた時にも、感作リンパ球は標的細胞に出来るだけ接近して M.F. 膜上に集合してから、抗体を含んだ拡散様物質を放出して、標的腫瘍細胞の破壊を招来するものと推定される。

Algire は、感作リンパ球から拡散物質なるものが放出されることを主張しているが、著者の実験成績からしてもそのような標的細胞に対して傷害性に作用する物質の存在が推定される。ただし、それが抗体自身であるのか、あるいは抗体を含んだ物質であるのか、あるいはまた、Amos<sup>8)</sup> のいう酵素であるのか、Wissler; Flax<sup>6)</sup> らが報告している細胞毒物質と同じものであるのかといった点に関しては全く判っていない。これは感作方法(1. 皮下移植腫瘍の切除または緊縛法。2. 少量の生きた腫瘍細胞を接種する。3. 大量照射腫瘍細胞を前処置する。)および成立した移植免疫を測定する方法(1. *in vitro* culture 法。2. Diffusion Chamber 法。3. 免疫学的活性細胞移入法。)が研究者各々によ

って異なっているからであり、今後解決されるべき問題である。

## 結 論

MC 腫瘍で感作したマウスでは同じ腫瘍の移植に対して、発育抑制現象が認められることは、すでに第3篇において述べた。本篇ではそのような腫瘍発育抑制現象が体液性因子によって招来されるのか、あるいは細胞性のものによって招来されるのかに関して分析的に検討する目的で、D.C. 腹腔内挿入法を用いて検討した。その成績を要約すると以下の通りである。

1) MC 腫瘍で全身性に感作したマウスの腹腔内に、細胞も体液もともに通過を許す AA 型の M.F. 膜を有する D.C. を挿入した場合、D.C. 内の腫瘍の発育が抑制される。

2) MC 腫瘍で全身性に感作したマウスの腹腔内に、体液成分のみの通過を許す HA 型の M.F. 膜を有する D.C. を挿入した場合にも、D.C. 内の腫瘍の発育は抑制される。

3) 感作群における D.C. 内腫瘍組織の発育抑制は、AA 型のものを用いた場合よりも、HA 型のものを用いた場合において、より著明である。

4) 無処置動物の D.C. 内には、生活力を保持した腫瘍組織が充満し、時には、栄養障害のために中心壊死に陥っていることがある。それに反して、感作群では、中心壊死の像はみられず、むしろ M.F. 膜に接する部位で腫瘍細胞の配列が疎となり、細胞の崩壊像が著しい。

5) D.C. に集まる宿主細胞としては、多数のリンパ球と少数の赤血球、多核白血球などが認められるが、リンパ球は対照群よりも感作群においてはるかに豊富に集合する。細胞の通過を許す M.F. 膜を用いた時には、リンパ球をはじめとして、赤血球や多核白血球が M.F. 膜内に侵入し、さらに D.C. 内に及んでいる。

6) 感作群における D.C. 内腫瘍細胞の増殖抑制は主としてリンパ球を担い手とする細胞性抗体によるもののように思われる。しかし、リンパ球が直接腫瘍細胞に接触しなくても腫瘍細胞の増殖が抑制される現象がみられる。このこ



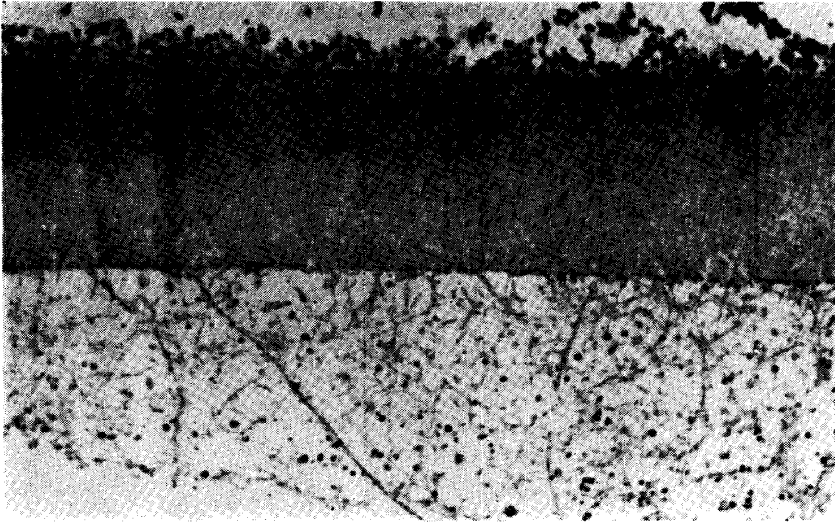


図1 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。上部は孔径  $0.80\mu$  の AA 膜であって、その表面には多数のリンパ球と少数の多核白血球とが認められる。下方は D.C. 内部で、その大部分が変性崩壊した腫瘍細胞やフィブリンによって占められている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ $\times 10$ )。

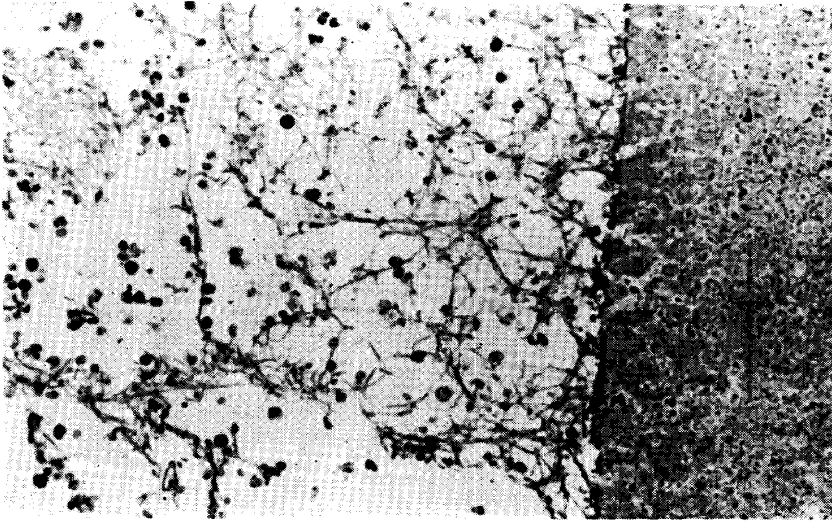


図2 図1の拡大, 右方は孔径  $0.80\mu$  の AA 膜であって、その膜の中には多数の細胞の侵入がみられる。左方は D.C. 内部で、そこには少数の生きた腫瘍細胞の他に、その崩壊により生じた裸核や細胞質の破片が多数認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ $\times 20$ )。

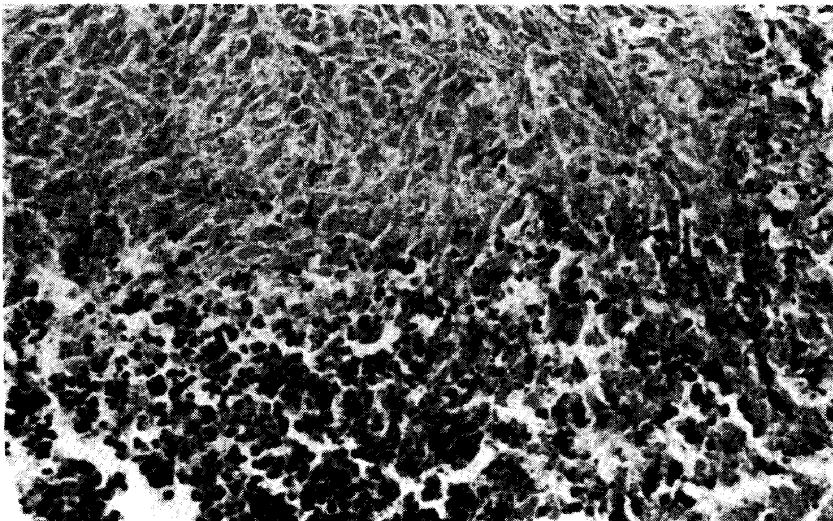
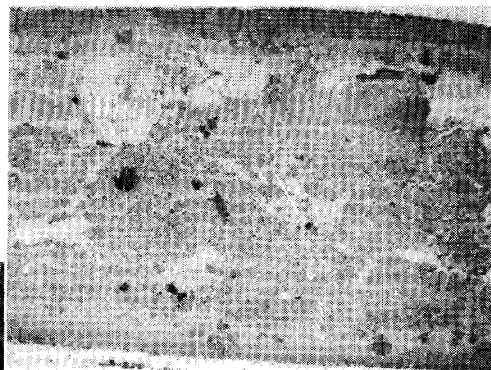


図3 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. 内の標的細胞の組織像。上部は D.C. の中心部であって、生活力の旺盛な腫瘍組織が認められる。下部は、AA 膜に接した部位で、多数のリンパ球が侵入している。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ $\times 20$ )。

図4 対照群(非感作)のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。(a) は弱拡大であり、2枚の AA 膜の間に MC 腫瘍組織が充満している。(対物レンズ×4)。(b) はその強拡大で、右側は D.C. 内一杯に増殖した腫瘍組織であり、その一部は栄養障害によって壊死に陥っている。左端には AA 膜がみられるが、その表面には少数のリンパ球が認められる。



(a)



(b)

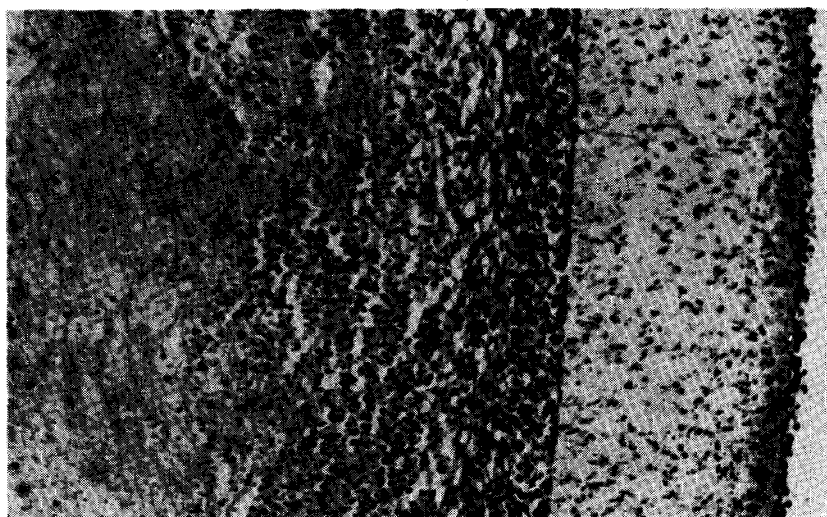


図5 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。左側は D.C. の中心部であって、その中の腫瘍組織には中心壊死の傾向がみられる。AA 膜には、細胞の侵入が認められるが、リンパ球は少ない。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)。

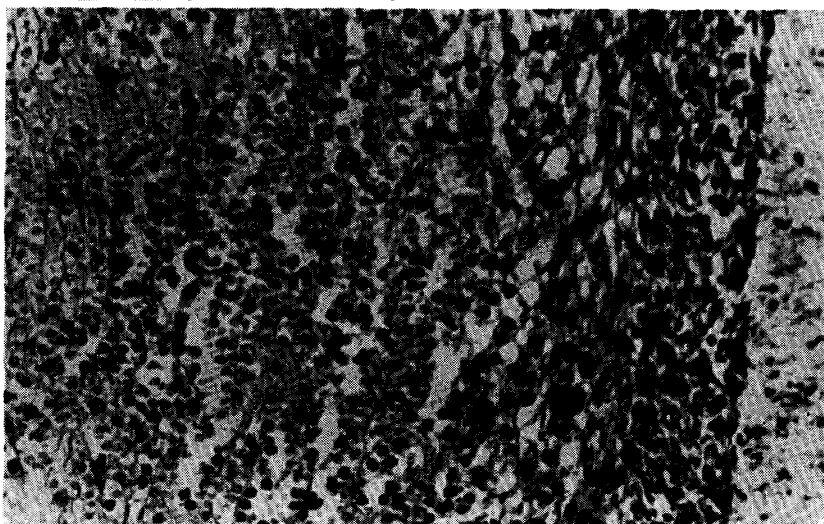


図6 図5の拡大、左側は中心壊死に陥った腫瘍組織であるが、AA 膜(右方)に接した部位には生活力を保った腫瘍組織がみられる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)。

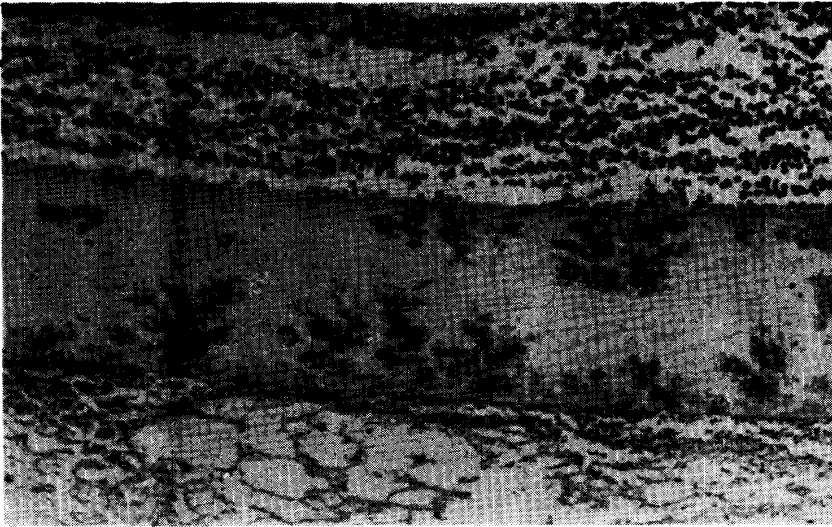


図7 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。中央は孔径  $0.45\mu$  の HA 膜であって、細胞の侵入は認められない。HA 膜の表面(上方)にはリンパ球が多数集合している。下の方は D.C. の内部で、腫瘍細胞の崩壊産物やフィブリンなどで満されている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ  $\times 10$ )。

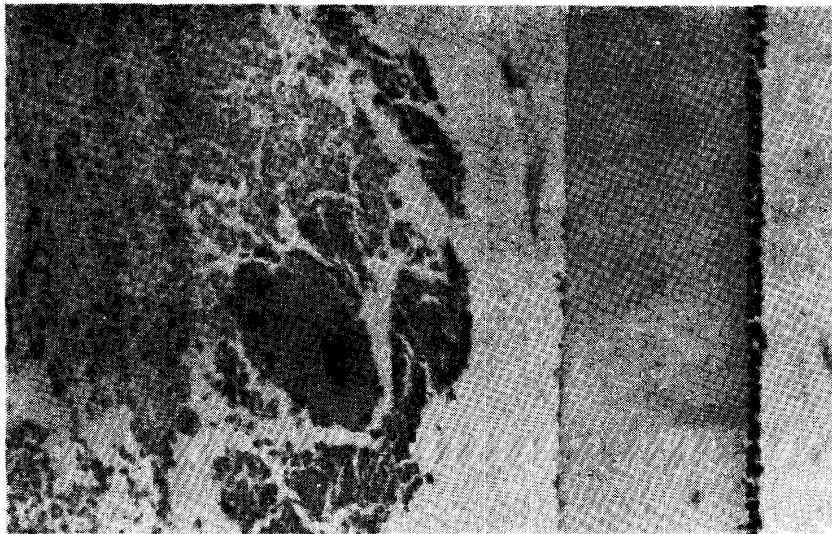


図8 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。左方は D.C. 内の腫瘍組織で、HA 膜に近い部位では腫瘍細胞の崩壊がみられる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ  $\times 10$ )。

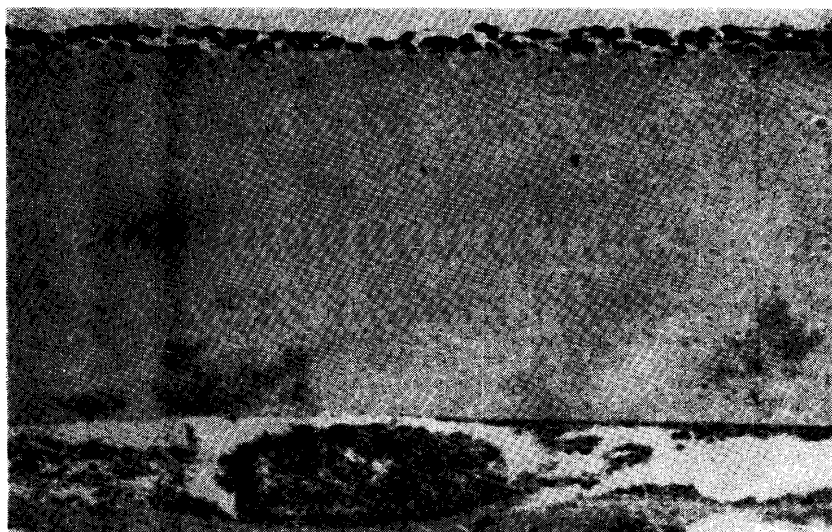


図9 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. の HA 膜の組織像。下方は D.C. の内部で、HA 膜に接した部位で変性崩壊した腫瘍細胞が認められる。M.F. 膜には細胞の侵入は認められない。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ  $\times 20$ )。

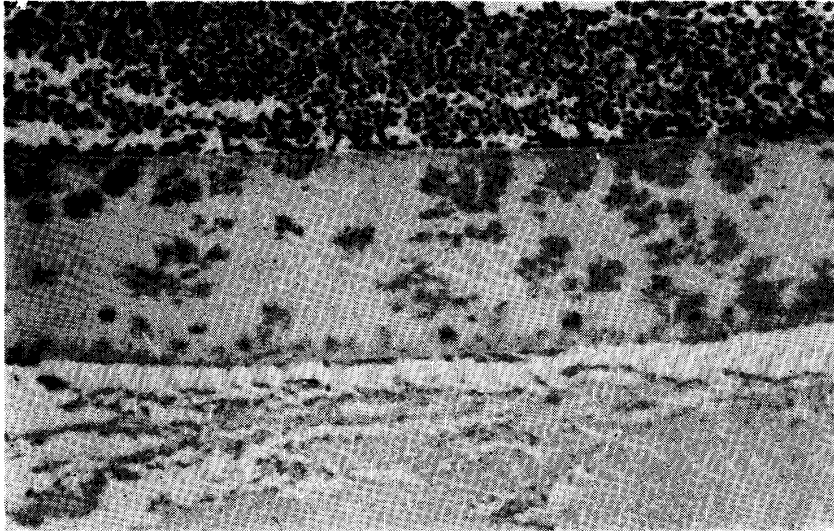


図10 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。HA 膜の表面(上方)にはリンパ球が多数集合している。下方の D.C. の内部にみられる腫瘍細胞の大部分は壊死に陥っている。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)。

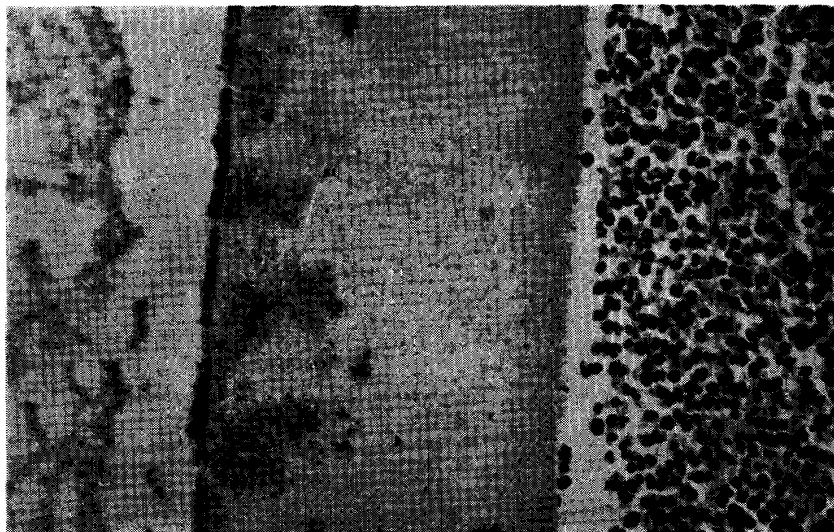


図11 図10の拡大。中央の HA 膜には細胞の侵入はみられない。右方の HA 膜の表面には多数のリンパ球および多核白血球が認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)。

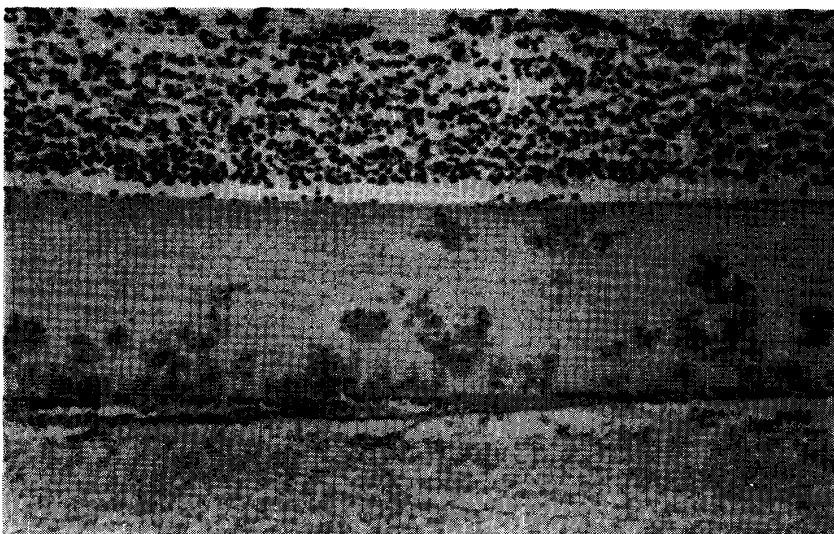


図12 感作マウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。HA 膜の表面(上方)には多数のリンパ球が認められる。下方の D.C. の内部では大部分の腫瘍細胞は崩壊している。HA 膜には細胞の侵入はみられない。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)。

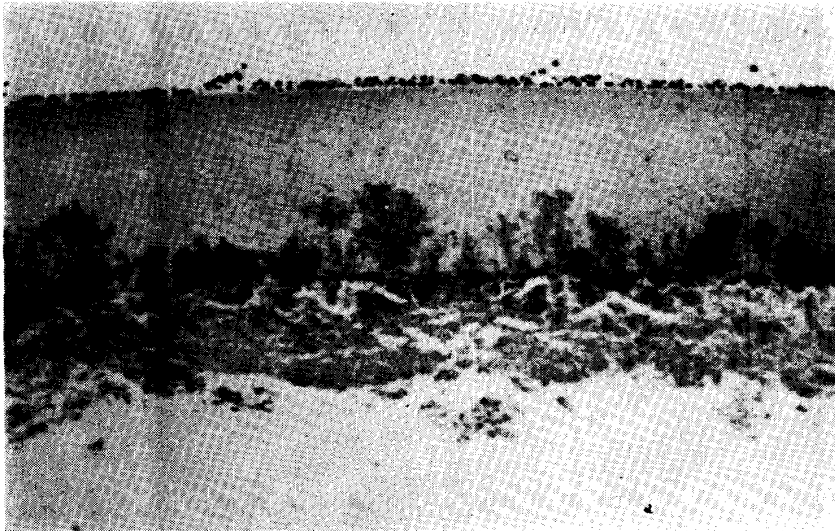


図13 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。HA 膜の表面では宿主細胞の集合は少ない。下方は D.C. 内の腫瘍組織である。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×10)。

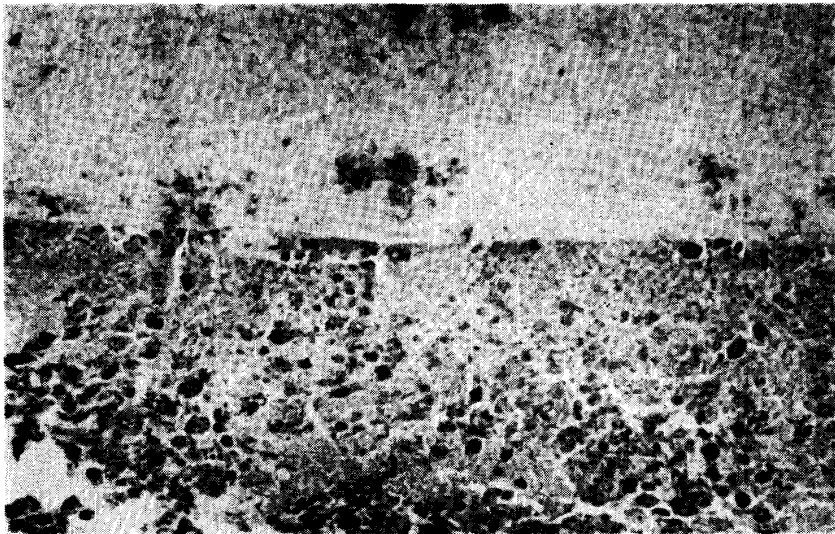


図14 対照群のマウスの腹腔内に挿入した D.C. の組織像。上方の HA 膜には細胞は侵入していない。下方は D.C. 内に充満した腫瘍組織であって、その一部には崩壊像が認められる。Hematoxylin-Eosin, (対物レンズ×20)。

とから、感作リンパ球から拡散物質が放出されて、腫瘍細胞の崩壊が招来されると考えられる。拡散物質の詳しい性状は不明であるが、そ

の中に抗腫瘍性抗体が含まれていると推定される。

### 〔全 篇 綜 括〕

著者は、生後 2 カ月 (体重 20~25 gm) の DDD-系 マウスおよび C3H マウスを宿主として、継代移植した Ehrlich 腹水癌および同系統に発生せしめた MC 腫瘍の移植免疫に関して検討を行なった。

それらの実験腫瘍によって予め感作されたマウスの皮下あるいはリンパ節内へ、同じ腫瘍を再移植した時に、はたして抗移植性がみられるかどうかを検討するとともに、その時の免疫機

構を Diffusion Chamber 法によって、分析的に検討した。実験成績を要約すると以下の通りである。

(1) Ehrlich 腹水癌や MC 腫瘍で全身性感作したのちに、同一腫瘍を皮下に移植した時、感作マウスに、延命効果、抗移植性および移植腫瘍の発育抑制効果等が認められる。

(2) Ehrlich 腹水癌や MC 腫瘍で全身性感作したのちに、同一腫瘍をリンパ節内に移植

した時にも、感作マウスには抗移植性および移植腫瘍の発育抑制効果が認められる。

(3) 腫瘍組織で全身性に感作した時と正常組織で同じように感作した時について比較すると、移植腫瘍の発育抑制効果は前者における方が、後者におけるよりもはるかに高い。

(4) 全身性感作群では、対照群に比して腫瘍細胞の配列が疎であって、巨細胞化した腫瘍細胞も見いだされる。また、腫瘍周囲部での間質反応が著るしく、しばしばその部にリンパ球の浸潤がみられる。

(5) 腫瘍組織で局所性に感作した部位の領域リンパ節においては、他の部のリンパ節に比べてより著明な移植腫瘍に対する発育抑制効果が認められる。

(6) 腫瘍の再移植にさいしてみられる宿主の抗移植性は、腫瘍組織内に存在する腫瘍特異抗原により惹起されるものと推定される。

(7) 感作リンパ球と腫瘍細胞とを混じて移植した時、抗移植性および移植腫瘍の発育抑制効果が認められるが、正常リンパ球ではそのような効果は認められない。また、そのような抗移植性は、リンパ節由来の感作リンパ球よりも脾臓由来のものに強い。

(8) Ehrlich 腹水癌や MC 腫瘍で全身性に感作したマウスの腹腔内に、細胞も体液もともに通過を許す SM 型および AA 型の M.F. 膜を有する D.C. を挿入した時、D.C. 内の腫瘍の発育は抑制される。

(9) Ehrlich 腹水癌や MC 腫瘍で全身的に感作したマウスの腹腔内に、体液成分のみの通過を許す HA 型の M.F. 膜を有する D.C. を挿入した時にも D.C. 内の腫瘍の発育は抑制される。

(10) 無処置動物の D.C. 内では腫瘍組織の旺盛な増殖がみられる。それに反して、全身性感作の動物の D.C. 内では、M.F. 膜に接する部位において腫瘍細胞の配列が疎となり、しばしば細胞の著るしい崩壊がみられる。

(11) D.C. に集まる宿主細胞としては、多数のリンパ球と少数の赤血球、多核白血球および異物巨細胞等が認められるが、リンパ球は対

照群よりも全身性感作群において、はるかに豊富に集合する。また、細胞の通過を許す M.F. 膜を用いた時には、リンパ球をはじめとして、赤血球や多核白血球が M.F. 膜内に侵入し、さらに D.C. 内に及んでいる。

(12) 全身性感作群における D.C. 内腫瘍細胞の増殖抑制は、主としてリンパ球を担い手とする細胞性抗体によるものようであるが、リンパ球が直接腫瘍細胞に接触しなくても、そのような増殖抑制現象が認められる。それ故、感作リンパ球は直接標的細胞に密着してそれを破壊するだけでなく、拡散物質を放出することによっても同様の作用を営むものと考えられる。

(なお、本文中の第1篇、図3, 5, 6および第3篇、図1, 3は英文原著から転載した。)

## 参 考 文 献

- 1) Alexander, P., and Delorme, E. J.: Lancet, 18: 117, 117, 1964.
- 2) Alexander, P., Mikulska, Z. B., and Smith, C.: J. Nat. Cancer Inst., 36: 29, 1966.
- 3) Algire, G. H., Prehn, R. T., and Weaver, J. M.: J. Nat. Cancer Inst., 15: 509, 1954.
- 4) Algire, G. H., Prehn, R. T., and Weaver, J. M.: J. Nat. Cancer Inst., 15: 493, 1954.
- 5) Algire, G. H., Prehn, R. T., and Weaver, J. M.: J. Nat. Cancer Inst., 15: 1737, 1955.
- 6) Amos, D. B., and Wakefield, J. D.: J. Nat. Cancer Inst., 21: 657, 1958.
- 7) Amos, D. B., and Wakefield, J. D.: J. Nat. Cancer Inst., 22: 1077, 1959.
- 8) Amos, D. B.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 87: 273, 1960.
- 9) 栗屋和彦, 日本血液学全書, 6-II: 577, 1965.
- 10) Berg, J. W.: Cancer N. Y., 9: 935, 1956.
- 11) Biggs, M. W., and Eiselein, J. E.: Cancer, Res., 25: 1888, 1965.
- 12) Billingham, R. E., Brent, L., and Medawar, P. B.: Proc. Roy. Soc. London, 143: 58, 1954.
- 13) Bisceglie, B.: Zschr. Krebsforsch., 40: 141, 1933.
- 14) Black, M. M., and Speer, F. D.: Surg. Gyn. Obst., 106: 163, 1958.

- 15) Chamber, H., Scott, G. M., and Russ, S.: *Lancet*, 1: 212, 1922.
- 16) Contamin, A.: *C. R. Acad. Sci.*, 150: 128, 1910.
- 17) Donaldson, D.M., and Mitchell, J.R.: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 101: 204, 1959.
- 18) Ehrlich, : Goldfeder, A. の論文より引用.
- 19) Foley, E.J.: *Cancer Res.*, 13: 835, 1953.
- 20) Gabourel, J.D., and Fox, K.E.: *Cancer Res.*, 19: 1210, 1959.
- 21) Gabourel, J.D.: *Cancer Res.*, 21: 506, 1961.
- 22) Goldfeder, A.: *Brit. J. Cancer*, 8: 320, 1954.
- 23) Gross, L.: *Cancer Res.*, 3: 326, 1943.
- 24) Gross, L.: *J. Immunol.*, 50: 91, 1945.
- 25) Haaland, M.: *Proc. Roy. Soc.*, 82: 293, 1909.
- 26) 長谷川嗣夫, 藤本吉秀: 移植, 1: 61, 1966.
- 27) Hanaoka, M., and K. Notake, : *Ann. Rep. Inst. Virus Res. Kyoto Univ.*, 5: 134, 1962.
- 28) 花岡正男, 結核化学研究グループ総会, 特別講演, 1966.
- 29) John, C. Fardon, and J.E. Prince, : *Cancer Res.*, 13: 9, 1953.
- 30) Kidd, J. G.: *Proc. Inst. Med. Chicago*, 18: 50, 1950.
- 31) 北野司久, 他, 日本癌学会総会記事, 73, 1965.
- 32) 北野司久, 他, 日本癌学会総会記事, 130, 1966.
- 33) 北野司久, 他, 日本癌治療学会誌, 1: 44, 1966,
- 34) Klein, G., and Sjögren, H.O.: *Cancer Res.*, 20: 452, 1960.
- 35) Klein, Sjögren, H. O., Klein, E., and Hel-  
lström, K.E.: *Cancer Res.*, 20: 1561, 1960.
- 36) Klein, G.: *Internat. Cancer Congr.*, 9: 289, 1966.
- 37) Koprowski, H., and Fernandes, M. V.: *J. Exp. Med.* 116: 467, 1962.
- 38) McKee, R.W., Garcia, E., Troeh, M.R., and Schultz, W.: *Acta Unio Internat. contra cancrum*, 15: 955, 1959.
- 39) Mitchison, N. A.: *Proc. Roy. Soc. London*, 142: 72, 1954.
- 40) Mottran, J.C., and Russ, S.: *Proc. Roy. Soc.*, 90: 1, 1917.
- 41) Old, L. J, Boyse, E. A., Clarke, D. A., and Carswell, E.A.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 101: 80, 1962.
- 42) Old, L.J., and Boyse, E.A.: *Ann. Rev. Med.*, 15: 167, 1964.
- 43) Phillips, M.E.: *Cancer Res.*, 26: 40, 1966.
- 44) Prehn, R.T., and J.M. Main.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 18: 769 1957.
- 45) Prehn, R.T.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 94: 107, 1961.
- 46) Révész, L.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 15: 1691, 1955.
- 47) Révész, L.: *Cancer Res.*, 20: 443, 1960.
- 48) Rosenau, W., and Moon, H. D.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 27: 417, 1961.
- 49) Rosenau, W., and Moon, H.D.: *Lab. Invest.*, 11: 1260, 1962.
- 50) Rosenau, W., and Moon, H.D.: *J. Immuno.*, 93: 910, 1964.
- 51) Sandison, J.C.: *Anat. Rec.*, 28: 281, 1924.
- 52) Siegler, R., and Koprowska, I.: *Cancer Res.*, 22: 1278, 1962.
- 53) 志麻清, 他, 日本癌学会総会記事, 71, 1965.
- 54) Taylor, H. E., and Culling, C. F. A.: *Lab. Invest.*, 12: 884, 1963.
- 55) 武田勝男, 相沢幹, 最新医学, 19: 474, 1964.
- 56) Takeda, K. et al.: *Internat. Cancer Congr.* 9: 293, 1966.
- 57) 武田勝男, 日本医学会総会(特別講演), 22, 1967.
- 58) 田中早苗, 他, 日本癌学会総会記事, 72, 1965.
- 59) 田中早苗, 他, 医学のあゆみ, 56: 590, 1966.
- 60) 田中早苗, 他, 日本癌学会総会記事, 147, 1966.
- 61) 津屋旭, 総合臨床, 1: 62, 1965.
- 62) 白淵勇, 癌の臨床, 8: 615, 1962.
- 63) 白淵勇, 他, 癌の免疫病理, 1: 71, 1965.
- 64) Weiss, D. E., Faulkin, L. T., and De Ome, K.B.: *Cancer Res.*, 24: 732, 1964.
- 65) Weiss, D.E., Attia, M.A., and De Ome, K. B.: *Cancer Res.*, 25: 451, 1965.
- 66) Wissler, R.W., and Flax, M.H.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 69: 773, 1957.