

学位論文題名

合成免疫強化剤による癌免疫と
ウイルス感染防御の増強とその作用機序

学位論文内容の要旨

細菌細胞壁由来のMDPは、抗原に対する宿主の免疫応答を増強する作用を有することから、より高い免疫賦活作用を得る目的で、多数の誘導体が開発され、その活性が調べられてきた。本研究では、MDPの誘導体のうち、優れた免疫賦活作用を持つことが知られているMDP-Lys(L18)とB30-MDPを選択し、宿主の抗癌免疫や抗ウイルス免疫に及ぼす免疫アジュバントの増強効果を検討した。癌細胞に対する宿主の抗癌免疫能に及ぼす免疫アジュバントの効果は、マウス癌細胞による転移モデルを用いた癌転移抑制の増強効果から調べた。また、抗ウイルス免疫能に及ぼす効果は、ハンタウイルスの感染実験系を用いた感染防御の増強効果やハンタウイルスのワクチンの免疫誘導に対する増強効果より検討した。さらに、これらの免疫アジュバントによる免疫増強のメカニズムは、非特異あるいは特異的な免疫増強の観点から解析した。本論文の要旨は、以下の5点である。

1. 3種類のマウス癌細胞(L5178Y-ML25リンパ腫、B16-BL6黒色腫、Colon26-M3.1結腸癌)による同系マウスへの実験転移モデルあるいは自然転移モデルを用い、癌転移抑制に及ぼすMDP-Lys(L18)の非特異的な増強効果を調べた。その結果、MDP-Lys(L18)は、いずれの癌細胞による転移を有意に抑制し、その効果は予防及び治療の面で有効であることが明らかになった。また、MDP-Lys(L18)による癌転移抑制の作用機序を検討した結果、MDP-Lys(L18)は、マウスの白血球数の増加、腹腔マクロファージの活性化による癌細胞傷害活性の誘導、血清による癌細胞増殖抑制効果の誘導など非特異的免疫増強により癌転移を抑制することが推察された。

2. X線照射により不活化した癌細胞をワクチンとし、その免疫により誘導される抗癌免疫能に及ぼすB30-MDPの効果は、L5178Y-ML25リンパ腫及び

B 1 6 - B L 6 黒色腫細胞による転移抑制実験モデルを用い検討した。不活化リンパ腫細胞と B 3 0 - M D P の免疫後 7 日目に同種の癌細胞を移植し、その癌細胞による転移抑制効果を調べた結果、不活化リンパ腫細胞を B 3 0 - M D P と共に免疫した群は、リンパ腫による肝及び脾転移を有意に抑制した。また、黒色腫細胞を不活化し B 3 0 - M D P と共に免疫した場合でも、B 1 6 - B L 6 黒色腫による肺転移の有意な抑制が観察された。さらに、両癌細胞による転移抑制に及ぼす B 3 0 - M D P の治療効果を調べた結果、癌細胞移植後 5 日目に不活化癌細胞と B 3 0 - M D P を投与した群は、いずれの癌細胞による転移を有意に抑制した。しかし、不活化癌細胞あるいは B 3 0 - M D P 単独の免疫群では、いずれも有意な転移抑制効果は認められなかった。以上の結果から、B 3 0 - M D P は、不活化癌細胞により誘導される抗癌免疫能を増強することによって癌転移を抑制し、その抗癌免疫増強効果は、予防及び治療の面で有効であることが示された。また、こうした B 3 0 - M D P の免疫増強効果の作用機序を検討した結果、B 3 0 - M D P は、不活化癌細胞の免疫により誘導される T - 細胞介在性の細胞性免疫を特異的に増強することが明らかになった。

3. 免疫アジュバントによるウイルス感染防御実験に用いた 2 株のウイルス (H T N 株、S R - 1 1 株) の病原性の相違を調べるため、生後 2 4 時間以内の幼若マウスにおける両ウイルスの感染能を比較した。その結果、S R - 1 1 株は H T N 株に比べて約 4 0 0 0 倍高い病原性を持つことが示された。しかし、低感染量の感染による耐過例においては、H T N 及び S R - 1 1 株はいずれも高い I F A や中和抗体価を示しながら臓器中の持続感染の成立を認めた。また、両ウイルス間の病原性の相違のメカニズムを解析するため、C V - 7 細胞を用いた i n v i t r o 感染実験より、両ウイルスの増殖能を比較した結果、S R - 1 1 株感染群は細胞内及び培養上清中において、いずれも H T N 株感染群に比べ、高いウイルス量を示した。以上の結果から、S R - 1 1 株の強い病原性は、高いウイルス増殖能に起因することが推察された。

4. 免疫機能の未熟な宿主に対する M D P - L y s (L 1 8) の免疫増強効果を調べるため、ハンタウイルスの幼若マウスへの感染における M D P - L y s (L 1 8) の防御効果を検討した。幼若マウスと H T N 株の組み合わせによる感染実験から、H T N 株は宿主の成熟に依存的な感染パターンを示すことを見い出し、生後 1 日目の幼若マウスに H T N 株を感染する実験系を、免疫機能の未成熟な宿主への感染モデル

として確立した。その実験モデルを用い、HTN株の幼若マウス感染に対するMDP-Lys (L18) の防御効果を調べた結果、ウイルス感染1日前（生後24時間以内）のMDP-Lys (L18) の投与は、HTN株による幼若マウスへの致死感染を有意に防御することが示された。また、MDP-Lys (L18) の感染防御効果は、感染後の投与においても認められ、HTN株の幼若マウス感染におけるMDP-Lys (L18) の防御効果は、予防及び治療の面で有効であることが明らかになった。さらに、その作用機序を検討したところ、MDP-Lys (L18) は、幼若マウスの造血作用の促進や免疫関連細胞のマイトゲンに対する反応性の上昇など非特異免疫増強を誘導し、その結果、幼若マウスのHTN株に対する抵抗力が強化されるものと考えられた。

5. ウイルスの組み換えワクチン、あるいは不活化ワクチンの免疫原性に対するB30-MDPの効果を調べるため、HTN株の組み換え蛋白あるいはB-1株の不活化ワクチンを用い、これらのワクチンにより誘導される免疫能に及ぼすB30-MDPの増強効果を検討した。各ワクチン単独、あるいは各ワクチンとB30-MDPを共に免疫したマウスを用い、IFA抗体価、中和抗体価、DTH反応そしてリンパ球増殖活性など様々な免疫応答を比較した結果、B30-MDPと共に免疫した群は、いずれのワクチン単独による免疫群に比べ、有意に高い活性を示した。この結果より、B30-MDPは、ハンタウイルスの組み換えあるいは不活化ワクチンにより誘導される液性及び細胞性免疫を有意に増強する作用を有することが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 東 市 郎

副 査 教 授 盛 田 フ ミ

副 査 教 授 菊 地 九二三

学 位 論 文 題 名

合成免疫強化剤による癌免疫と ウイルス感染防御の増強とその作用機序

細菌細胞壁由来のMDPは、宿主の免疫応答を増強する作用を有することから、より高い免疫賦活作用を得る目的で、多数の誘導体が開発され、その活性が調べられてきた。本研究では、MDPの誘導体のうち、優れた免疫賦活作用を持つことが知られているMDP-Lys(L18)とB30-MDPを選択し、宿主の抗癌免疫や抗ウイルス免疫に及ぼす免疫アジュバントの増強効果を検討した、また、これらの免疫アジュバントによる免疫増強のメカニズムを非特異あるいは特異的な免疫増強の観点から解析した。本論文の要旨は、以下の5点である。

1. 3種類のマウス癌細胞(L5178Y-ML25リンパ腫、B16-BL6黒色腫、Colon26-M3、1結腸癌)による同系マウスへ転移モデルを用い、癌転移抑制に及ぼすMDP-Lys(L18)の非特異的な増強効果を調べた。その結果、MDP-Lys(L18)は、マウスの白血球数の増加、腹腔マクロファージの活性化による癌細胞傷害活性の誘導、血清による癌細胞増殖抑制効果の誘導など非特異的免疫増強によりいずれの癌細胞による転移を有意に抑制することが示された。

2. X線照射により不活化した癌細胞をワクチンとし、その免疫により誘導される抗癌免疫能に及ぼすB30-MDPの効果を、L5178Y-ML25リンパ腫及びB16-BL6黒色腫細胞による転移抑制実験モデルを用い検討した。その結果、B

30-MDPは、不活化癌細胞の免疫により誘導されるT-細胞介在性の細胞性免疫を特異的に増強し、いずれの癌細胞による転移を有意に抑制することが示された。

3. 免疫アジュバントによるウイルス感染防御実験に用いた2株のウイルス（HTN株、SR-11株）の病原性の相違を調べるた結果、SR-11株はHTN株に比べて約4000倍高い病原性を持つことが示された。しかし、低感染量の感染による耐過例においては、いずれの株も臓器中の持続感染の成立を認めた。また、両ウイルス間の病原性の相違のメカニズムを解析した結果、SR-11株の強い病原性は、高いウイルス増殖能に起因することが推察された。

4. 免疫機能の未熟な宿主に対するMDP-Lys（L18）の免疫増強効果を、幼若マウスとHTN株の組み合わせによる感染実験系を用い検討した。その結果、MDP-Lys（L18）の投与は、幼若マウスの造血作用の促進や免疫関連細胞のマイトゲンに対する反応性の上昇など非特異免疫増強を誘導することにより、HTN株による幼若マウスへの致死的感染を有意に防御し、その効果は予防及び治療の面で有効であることが明らかになった。

5. ウイルスの組み換えワクチン、あるいは不活化ワクチンの免疫原性に対するB30-MDPの効果を調べるため、HTN株の組み換え蛋白あるいはB-1株の不活化ワクチンを用い、これらのワクチンにより誘導される免疫能に及ぼすB30-MDPの増強効果を検討した。その結果、B30-MDPは、ハンタウイルスの組み換えあるいは不活化ワクチンにより誘導される液性及び細胞性免疫を有意に増強する作用を有することが明らかになった。

以上により審査員一同は、申請者が博士（理学）の学位を得るに十分な資格を有するものと認定した。