

BALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程における免疫の役割

金沢大学大学院医学研究科分子免疫学講座（主任：右田俊介教授）

夏 梅 俊 之 助

（昭和48年5月17日受付）

本論文の要旨は第29,第30,第31回日本癌学会総会において発表した。

腫瘍の発生には、家族歴等にみられる遺伝の問題、発癌物質との接触による環境の問題、遺伝と環境の両方に関係するウイルスの役割などの外的要因が考えられる。これによって特定の個人の、どこの臓器に腫瘍が発生するか左右される。

一方生体内のレベルでは腫瘍細胞の抗原性があり、又それに働く細胞性抗体、液性抗体の防衛があり、これらの防衛機構が腫瘍発生の個体的差異の一因と考えられる。

この様な個体レベルでの腫瘍発生と、それを防衛する抗体産生機構の関係をみるのに、抗体産生細胞の腫瘍であるミエロームは、腫瘍全般のモデルとはいえないが、ミエロームの発生とその発生に至る迄の抗体産生能は、どの様な関係があるか興味をもたれる。ヒトではミエロームは高令者に多く、一般に高令者は免疫能が低下していると言われる。

ヒトのミエロームのモデルはBALB/cマウスの実験的形質細胞腫¹⁾である。

BALB/cマウスが生後2ヶ月目の時より、2ヶ月月間隔で腹腔に Freund 完全アジュバンドを注射すると、形質細胞腫が発生する²⁾。

この操作は通常実験動物を免疫する操作と類似であり、しかも形質細胞腫の発生は血清中に出現するミエローム蛋白(M成分)の出現を経時的に検討する事により、比較的早期に発見出来る。又、血清中のM成分の増加は腫瘍の増殖をある程度推測出来る¹⁾。

本論文は、BALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程で、液性抗体産生能、細胞性免疫能がどの様な推移を示し、どの様な役割を示すか、その相互関係などを、形質細胞腫の発生の観点から、検討したものである。

実験材料及び実験方法

I. 動物

C3H/He, 当教室で繁殖、飼育、又は船橋農場より購入した生後3ヶ月目の雄又は雌を用いた。BALB/c, AKR, C57BL/6いずれも当教室で繁殖、飼育した雄又は雌を用いた。

II. 液性抗体産生能

1. 抗原、ウシ血清 γ -グロブリン(BGG),又は結晶タカアミラーゼA(TAA)を1mlの生理食塩水当り4mgで溶かし、これに当量の Freund's Complete Adjuvant(FCA)を加え、良く混和しエマルジョンを作り、それぞれBGG-FCA, TAA-FCAとした。又等量の生理食塩水とFCAでエマルジョンを作り、これを saline-FCA とした。マウスへの免疫は、いずれも腹腔内へ0.5ml注射した。

BGGは Nutritional Biochemicals Corporation, (Cleveland, Ohio) 製の Gamma globulin - Bovine Fraction II を使い、TAAは三共製薬の3回結晶のタカアミラーゼA, 又は赤堀の方法³⁾によりタカジアスターゼより精製したのを用いた。

2. Freund's Complete Adjuvant

85mlの流動パラフィン(Merk社製)に15mlのArlacel A (Atlas Chemical industries)を加え、これに青山B乾燥結核菌を10~20mg加え、良く混和した後、20分、120°Cで加圧蒸気滅菌し、4°Cに貯蔵し使用した。

3. 免疫排除能の測定

¹³¹I_{Na}で標識した抗原をマウスに注射し、全身計測法により、以後の体内よりの¹³¹Iの消失を測定した^{5)~8)}。全身計測器は特別にマウス用に設計した高感度のものを用い、 γ 線の測定には Aloka universal Sc-

Immunologic capability of BALB/c mice during the developmental process of plasmacytoma. **Shynnosuke Natsuume**, Department of molecular immunology Director : Prof. S. Migita, Cancer Research Institute, Kanazawa University.

aler Model TDC-5 を用いた。注射する抗原量はマウスに対する侵襲を少なくし、追加免疫が生じることを防ぐために抗原量で $1\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ 、 ^{131}I のカウントで $0.02\mu\text{C}\sim 0.03\mu\text{C}$ をマウスの腹腔に注射した。注射後2時間目に測定し、4日後に再び計測し、4日間で体内より消失した ^{131}I の%を求めた。

免疫排除能 (IE値) の値は、

$$\{1 - (\text{免疫したマウスの}^{131}\text{Iの消失}\% \div \text{正常マウスの}^{131}\text{Iの消失}\%)\} \times 100$$

で示した。つまりIE値が大きい程、液性抗体価が強い。対照に用いたマウスは免疫したマウスと同様、同令の正常マウスを用いた。IEを測定するマウスには、測定の前日から測定の前日まで、0.1%のヨードカリを含んだ飲み水を与え、 ^{131}I が甲状腺に沈着するのを防いだ。

4. 抗原への ^{131}I Naの標識

Chrolamin T 法⁹⁾により0.2mgの抗原に0.2mCの ^{131}I Naを標識した。抗原を ^{131}I Naで標識後、Sephadex G-25のカラム ($1 \times 20\text{cm}$) で遊離の ^{131}I Naを除き、最初に溶出される ^{131}I Naの分画を集めて使用した。標識の全過程は0.1Mの硼酸緩衝液pH8.3を用いた。

III. 細胞性免疫能の測定

1. 塩化ピクリルを用いた遅延型皮膚反応, Ashe-
rson の方法^{10,11)}による塩化ピクリルを用いた遅延型皮膚反応を用いた。

まずマウスの腹部を $25\text{mm} \times 15\text{mm}$ の広さに安全カミソリで毛を剃る。この時表皮に傷を付けない様にする。

99%のエタノール100 mlに7gの割合で溶かした塩化ピクリル(半井化学薬品)1 mlを $40\text{mm} \times 20\text{mm} \times 2\text{mm}$ のカット脱脂綿に含ませ、剃毛部位にぬる。この処置ではほぼ0.1mlの塩化ピクリル液をぬる事が出来る。7日後にマウスの両耳の厚さを、 10^{-3}cm 迄測定可能な Dial Thickness guage G-2 (尾崎製作所)で測定し、次にオリーブ油100mlに1gの割合で溶かした塩化ピクリルを筆、又は $10\text{mm} \times 5\text{mm} \times 1\text{mm}$ のカット脱脂綿に含ませて両耳にぬる。この処置により片耳に $0.02\sim 0.03\text{ml}$ の1%塩化ピクリル液をぬる事が出来る。次いで24時間後に再度両耳の厚さを測定し、1%塩化ピクリルをぬった前後の耳の厚さの差を 10^{-3}cm 単位で、両耳の平均値で求め、対照の正常マウスの耳に1%塩化ピクリル液をぬった場合の耳の厚さの差の平均値を引いて、遅延型皮膚反応の程度とした。表示の単位は 10^{-3}cm とした。

2) PHAによる脾臓リンパ球のプラスト化能

マウスの脾臓リンパ球には胸腺由来のもの、骨髓由来のリンパ球があり、胸腺リンパ球は細胞性免疫担当細胞で、PHAと非特異的に反応し、幼若化する¹²⁾。幼若化能は ^3H -チミジン(^3H -TdR)の取り込みで検討した¹³⁾。

用いた培養液はPRMI1640培地 (日水製薬株式会社)で、これに10%ウマ血清、 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ のストレプトマイシン、及びカナマイシン、100単位/mlのペグシリンを加え、重曹と炭酸ガスでpHを調整し、Seitz 濾過器で滅菌後、使用した。

マウスの脾臓を氷冷した培養液中にとり出し、滅菌した2枚のスライドグラスで脾臓を細胞浮遊液にした。これをステンレス、ステイールのメッシュに通し、1000回転で10分間遠心し、上清を捨てた後、培養液で懸濁した。トリパンブルー染色後生細胞数を血球計算盤で求め、 $4 \times 10^6/\text{ml}$ に培養液で調整した。

細胞浮遊液1 mlに滅菌した生理食塩水で10倍に希釈したPHA-P (Difco 社)を $20\mu\text{l}$ 加えた。 ^3H -TdRのとり込み能は培養開始時より24時間毎に $1\mu\text{C}$ の ^3H -TdRを加え、24時間でのとり込みを検討した。対照はPHA-Pの代りに $20\mu\text{l}$ の生理食塩水を加えた。 ^3H -TdRのとり込み値は各日で3本の試験管につき行ない、各値は3本の試験管での平均値である。取り込みは ^3H -TdRを加えてから24時間後に、氷冷した生理食塩水で3回洗い、次いで氷冷した5%TCAで3回洗い、Whatman glass filterに通した。カウントは2.5g ppo/500mlトルエンを溶媒とし、液体シンチレーションカウンターで測定した。プラスト化能の表示はPHAを加えた培養でのとり込み値に対する対照でのとり込み値の比で示した。

3) 細胞傷害性試験

AKRマウス由来の培養リンパ腫AKRCIを培養液PRMI1640で $6 \times 10^6/\text{ml}$ の細胞数にし、 $50\mu\text{g}$ のマイトマイシンCで 37°C 、30分間処理した。これを3回生理食塩水で洗い、 $6 \times 10^6/\text{ml}$ の細胞数で1 mlをマウスの腹腔に注射した。7日後に腹腔リンパ球を採取し、その細胞傷害性^{14,15)}をみた。

腹腔リンパ球の採取は、Bernard Amos の方法¹⁵⁾によった。簡単には、0.15Mの食塩入りのリン酸緩衝液 (pH7.2) に10%の濃度で非働化したウシ胎児血清を加え、(PBS-fcs)、これに5単位/mlの濃度でヘパリンを加えた。5 mlのPBS-fcsをマウスの腹腔に注射し、充分腹部をマッサージ後、注射器で腹腔液を採集した。次いで1000RPM、5分間遠心し、上清液を捨て、培養液に懸濁し、これを2回くり返した。次いでFalcon のプラスチックシャーレに入れ、 37°C で4

時間培養し、プラスチックシャーレに付着しない浮遊細胞を集め、血球計算盤で最終細胞数 5×10^6 /ml に調整した。これに ^{51}Cr を標識した AKR CI を 5×10^4 加え、6 時間、 37°C で加温し、1000 回転で 5 分間遠心後、上清部に放出された ^{51}Cr を測定した。

AKR CI への ^{51}Cr の標識¹⁶⁾ は、AKR CI 3×10^7 /ml に $100 \mu\text{c}$ の (^{51}Cr) $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ を加え、45 分、 37°C で加温後、3 回培養液で洗って用いた。

リンパ球による細胞傷害性の程度は次式によった。

細胞傷害性 (%) = { (感作リンパ球の存在下で AKR CI より放出された ^{51}Cr の cpm) - (AKR CI よりの自然放出による ^{51}Cr の cpm) } $\times 100$ \div { 凍結、融解により AKR CI より放出された ^{51}Cr の cpm } $\times 100$

IV. 腫瘍の移植

1. 担癌マウスの免疫能の測定における腫瘍の移植 : 形質細胞腫 $\times 5563$ 及び肝癌 MH134

形質細胞腫 X5563 : 皮下継代移植で、移植 2 週目の癌組織をとり出し、培養液中で細切し、次いでステンレス、ステイールのメッシュを通し、細胞浮遊液を作った。400 回転で 10 分間遠心する事により、赤血球はほとんど上清部にとどまるので、赤血球の混入しない癌細胞浮遊液をえた。次いで生細胞数で 1×10^5 /ml に調整し、C3H/He マウスの脊側皮下に 1 ml 移植した。

肝癌 MH134 : C3H/He の腹腔へ移植後、7 ~ 10 日目に腹水を採取した。腹水を 400 回転で 10 分間遠心し、上清液をすて、培養液で癌細胞を懸濁した。移植生細胞数、移植部位、は X5563 に同じである。

2. 形質細胞腫にならなかつた BALB/c (RM) の移植免疫能を検討するために次の腫瘍細胞を移植した。

MH134 : C3H/He に継代移植の腹水型肝癌

FM3A : C3H/He に継代移植の腹水型乳癌

EL4 : C57BL/6 に継代移植の白血病細胞

以上は国立癌センター橋武彦先生よりいただいた。

AKR CI : AKR 由来の培養リンパ腫細胞

RD 12 : C57BL/6 に Rauscher virus で誘発した培養リンパ腫細胞

以上は愛知県癌センター石本秋穂先生よりいただいた。

BALB/c 原発腹水型形質細胞腫、この実験で誘発されたものを用いた。

移植は C3H/He への X5563 の場合に同じであるが、移植部位は腹腔で、細胞数は 1×10^5 /ml 及び 1×10^6 /ml とした。

移植細胞の生着は、移植後 14 ~ 21 日目に腹水の一部

をとり、位相差顕微鏡で腫瘍細胞の存在をみた。形質細胞腫の場合は、更に血清を寒天電気泳動法、免疫電気泳動法により、原発の場合と同じ M 成分が存在するか検討した。更に以上のマウスで腫瘍死する匹数で最終データーとした。

V. X線照射

マウスに 400R もしくは 600R の X 線照射を行った。400R は一次電圧 157.3KV、二次電流 15mA、A10.5mm、Cu0.5mm で距離は 50cm とし、43.5R/分であった。

装置は東芝製作所製 KXC-18 を用いた。

VI. 形質細胞腫の判定¹⁾

ガラスの毛細管でマウスの腹腔より腹水をとり、位相差顕微鏡により、異常形質細胞の存在をみた。又生後 2 ヶ月目より毎月 1 回、眼底静脈叢より 0.1 ~ 0.2 ml 採血し、血清を分離し、寒天電気泳動法、免疫電気泳動法により血清中の M 成分の出現をみた。

用いた抗血清は、ウサギ抗マウス全血清抗体、ウサギ抗マウス rG_{2a} 血清、ウサギ抗マウス rG₁ 血清、ウサギ抗マウス IgA 血清である。

VII. 一元平板拡散法によるマウス IgG_{2a} の定量

1% Behringwerke アガーローズ 5.4ml にウサギ抗マウス IgG_{2a} 血清を 0.6ml、45 ~ 50°C で良く混和し、ダブル巾スライドガラス上で寒天板を作った。標準として用いたマウス IgG_{2a} は X5563 を移植されたマウス血清より硫酸沈澱、Sephadex G200、DEAE Cellulose カラムを用いて精製した。蛋白濃度は O.D $\frac{1\%}{280m\mu} = 14.0$ で測定した。

結 果

I. 担癌マウスの液性免疫能及び細胞性免疫能

BALB/c マウスの形質細胞腫の発生過程で、腫瘍が発生した時期を正確に知る事は困難である。そこで原発の形質細胞腫の発生した場合の液性免疫能、細胞性免疫能と比較するために予備実験として、C3H/He に継代移植されている IgG_{2a} 形質細胞腫 X5563、及び形質細胞腫の場合と比較するために肝癌 134 をいずれも C3H/He マウスに移植し、免疫能の変化を検討した。測定の方法は BALB/c マウスでの形質細胞腫の発生過程では経時的に検討する必要上、マウスを殺す事は勿論、なるべく侵襲を少なくするために、液性免疫能を免疫排除能テストで、細胞性免疫能を塩化ピクリルを用いた遅延型反応で測定する計画なので、この様な方法が担癌マウスの免疫能を測定しうるかをも検討した。

1) 腫瘍の増殖と血清中の IgG_{2a} 量

1-a) 形質細胞腫 $\times 5563$

形質細胞腫の特徴である血清中のM成分の増加を経時的に測定し、腫瘍の増殖との関係のみた。C3H/HeマウスにX5563を移植後、0日、7日、10日、14日、21日に採血し、血清中のIgG_{2a}量を一元平板拡散法で測定した。図1に示したように移植前の、つまり正常C3H/HeマウスのIgG_{2a}量は6mg/ml位であるが、移植後7日目では8.2mg/ml、10日目で11mg/ml、14日目で19mg/ml、21日目では33mg/mlであった。血清中のIgG_{2a}量は7日目より直線的に増加を示し、この事は形質細胞腫の増殖がIgG_{2a}量の増加と良く一致する事を示すと考えられる。

1-b) 肝癌MH134

肝癌MH134を移植後、7日目、14日目に採血し、血清中のIgG_{2a}量を測定した。図3はその1例で、移植前の正常マウスでは6.2mg/ml、7日目及び14日目では5.8~6.4mg/mlで変動が認められなかった。

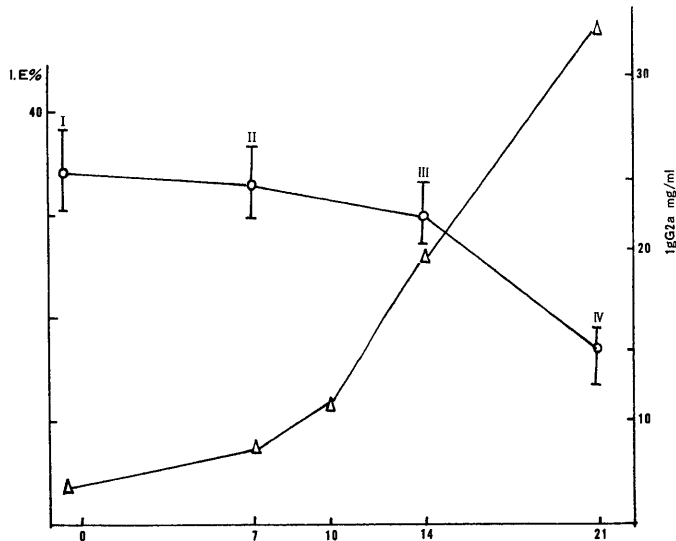
つまり免疫担当細胞以外の腫瘍では宿主の血清γ-グロブリン量に大きな変化はなかった。

2. 腫瘍の増殖と液性免疫能

2-a) 形質細胞腫X5563の移植後の液性免疫能

BALB/c マウスでの形質細胞腫発生モデルとして、比較的少ない細胞数 (1×10^5) をC3H/Heマウス

図1 形質細胞腫X5563を移植されたC3H/HeマウスのBGGに対する一次免疫反応



左従軸：BGGに対する一次免疫排除能の値（IE）で百分率で示した。

右従軸：血清1ml中のIgG_{2a}のmg数

横軸：形質細胞腫×5563の移植後の日数

I 群：正常C3H/Heの一次反応

II 群：X5563を 1×10^5 で背側皮下に移植し、同時に免疫した。

III 群：X5563をII群と同様に移植し、移植7日後に免疫した。

IV 群：X5563をII群と同様に移植し、移植14日後に免疫した。

各実験値は5匹のマウスの平均値である。

—△— X5563をII群と同様に移植し、移植後7日目、10日目、14日目、21日目の血清中のIgG_{2a}量を示した。

の皮下に移植した。

図1に示す様に、抗原注射の14日前(Ⅳ群)、7日目(Ⅲ群)、抗原注射と同時(Ⅱ群)にX5563を移植したマウスの一次反応を対照の正常マウス(Ⅰ群)と比較した。腫瘍の増殖度は先にのべたIgG_{2a}の増加曲線である。

免疫排除能の値(IE値)は各群で5匹のマウスの平均値で示した。対照:34%,Ⅱ群:33%,Ⅲ群:30%,Ⅳ群:17%であった。結果は担瘤マウスでは液性抗体産生の一次反応が低下し、低下は腫瘍の増殖により大きくなった。Ⅱ群でのIE値は対照と同値であったが、これは抗原注射と同時、又は抗原注射後に腫瘍を移植された場合には抗体産生の低下が生じないと考

えるより、IgG_{2a}量からみて、腫瘍の増殖が著しくないと考えられる。この事を確かめるため、Ⅱ群及びⅢ群に一次免疫後7日目に二次免疫し、又正常マウスの二次免疫時にX5563を移植し(Ⅴ群)、担瘤マウスの二次反応を正常マウスの二次反応と比較した。

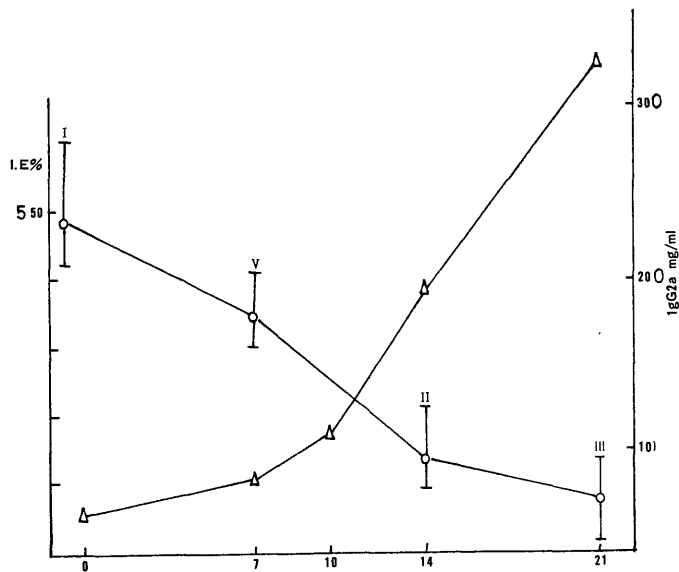
正常マウスの二次反応は48%、Ⅱ群の二次反応は14%、Ⅲ群では8%で二次反応の低下が生じた。二次免疫時に移植したⅤ群でも低下が生じIE値は35%であった。

しかもIE値の低下は腫瘍の増殖につれて大きかった。

2-b) 肝癌MH134の移植後の液性免疫能

正常抗体産生細胞と形質細胞腫の間に免疫グロブリン

図2 形質細胞腫X5563を移植されたC3H/HeマウスのBGGに対する二次免疫反応



左従軸: BGGに対する二次免疫排除能の値(IE)で百分率で示した。

右従軸: 図1に同じ

横軸: 図1に同じ

Ⅰ群: 正常C3H/Heの二次反応

Ⅱ群: 図1のⅡ群の一次免疫後7日目に二次免疫した。

Ⅲ群: 図1のⅢ群の一次免疫後7日目に二次免疫した。

Ⅴ群: 正常C3H/Heの一次免疫後7日目に二次免疫し、同時にX5563を移植した。

各実験値は5匹のマウスの平均値

—△— 図1に同じ

ンに対する競合が生じる可能性があるので肝癌MH134を移植し、液性免疫能の低下が生じるか検討した。

図3に示す様に对照の正常マウスの一次反応は37%、抗原注射と同時に移植したII群では38%、移植7日後に抗原注射したIII群では39%でほとんどIE値の低下はなかった。しかし、移植14日後に抗原注射したIV群ではIE値は低下し26%であった。やはり腫瘍移植後、日数が経つと一次反応の低下が生じた。

二次反応については、对照正常マウスで52%、二次免疫時に移植したV群では51%、II群では45%、III群では18%で、一次免疫と同様、移植後の日数に応じて低下を示した。

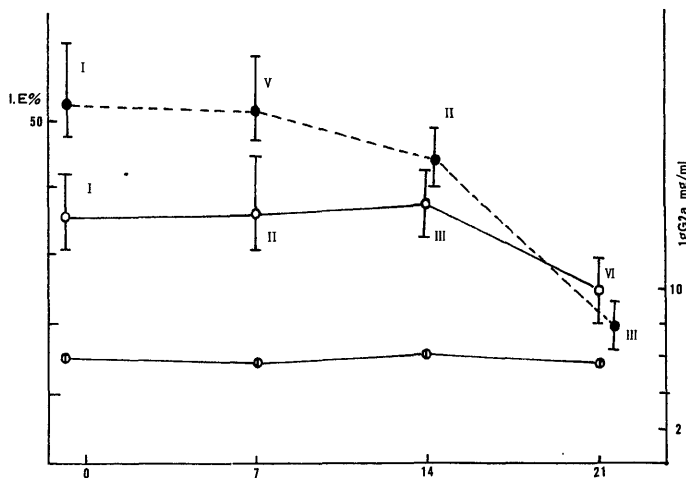
以上の結果より担癌マウスでは、移植前に抗原注射があっても、又移植後に抗原注射しても液性免疫能の低下が生じる。この事より発癌過程での液性抗体産生能は腫瘍の発生により低下するものと考えられる。

3) 腫瘍の増殖と細胞性免疫能

3-a) 形質細胞腫 X5563移植後の細胞性免疫能
生後3ヶ月目の正常C3H/Heマウスの遅延型反応は図4のI群に示す様に、1回目の反応は $(3.95 \pm 0.85) \times 10^{-3} \text{cm}$ 、2回目の反応は $(9.48 \pm 1.9) \times 10^{-3} \text{cm}$ 、3回目が $(11.95 \pm 1.24) \times 10^{-3} \text{cm}$ で、一次、二次、三次反応が良くあらわれている。

又、3回目のテスト後7日目に更にテストすると、3回目のテストの値より減少し、 8.47 ± 1.22 であった。以上の感作からテスト迄の期間が7日では値が高く、以後時間が経つと減少するのは、Ashersonら¹⁾の報告と一致している。X5563を移植された場合には、移植と同時に感作されたII群で1回目の反応は对照のI群と同値で $(4.2 \pm 1.7) \times 10^{-3} \text{cm}$ であるが、2回目の反応は $(2.55 \pm 0.51) \times 10^{-3} \text{cm}$ 、3回目が $(1.75 \pm 0.6) \times 10^{-3} \text{cm}$ と、くり返し抗原感作を受けるにもかかわらず腫瘍移植後の日数に応じて反応は低下した。

図3 肝癌MH134を移植されたC3H/HeマウスのBGGに対する液性免疫能



左従軸：BGGに対する免疫排除能の値 (IE)で百分率で示した。

右従軸：図1に同じ

横 軸：肝癌MH134の移植後の日数

○— BGGに対する一次反応

●— BGGに対する二次反応

一次反応及び二次反応での各群の移植及び免疫の時期は、図1、図2のX5563の場合と同じである。

各実験値は5匹のマウスの平均値

○— : MH134を移植後、0, 7, 14, 21日目の血清中のIgG_{2a}量のmg数

又、感作の7日前に移植し、感作後、7日目に1回目の反応をテストしたⅢ群では、 2.41 ± 0.78 で、2回目が 1.23 ± 0.32 であった。この場合もやはり低下が生じ、2回目の反応の低下はⅡ群より大きかった。

次に感作後に形質細胞腫X5563を移植した場合を図5に示した。

図5のⅠ群は図4のⅠ群に同じである。2回目の感作時にX5563を移植したⅣ群での2回目の反応は 3.66 ± 1.08 で、3回目の反応は 2.77 ± 0.66 であった。つまりⅠ群とⅣ群を比較した場合Ⅳ群ではX5563を移植された事により、2次、3次反応が低下していると考えられる。

3回目の感作の時と同時にX5563を移植したⅤ群では3次反応が 5.91 ± 1.24 で、やはりⅠ群の3次反応に比べ反応は低下した。

以上の結果、X5563を移植されたマウスでは遅延型皮膚反応の低下が生じる。そこで図4、図5の結果を液性免疫能の場合と同様、一次、二次、三次反応毎

に、X5563を移植してからの日数との関係を見た。

図6より一次反応(C)は移植後7日目では対照と同値であるが、移植後14日目では減少する。更に2次反応(B)、3次反応(A)共に移植後7日目、14日目、21日目になるにつれて、反応が低下する事が判明した。

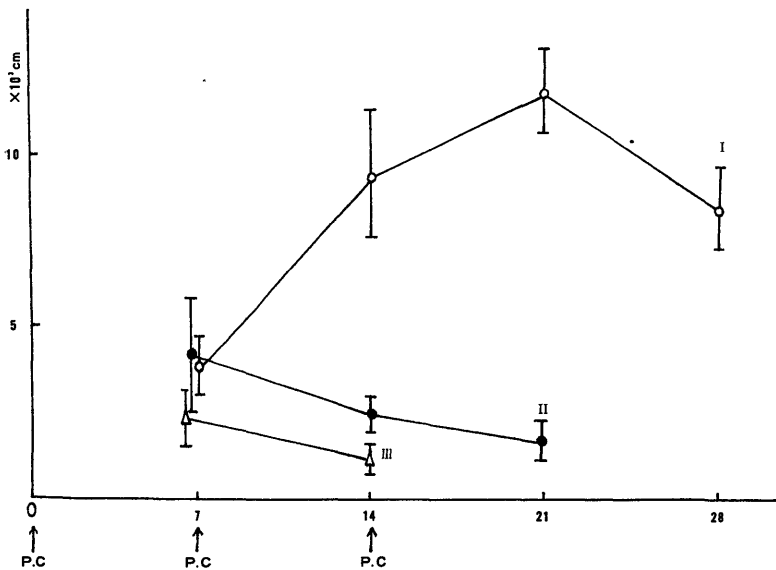
3-b) 肝癌MH134の移植後の細胞性免疫能

形質細胞腫X5563を移植されたマウスの遅延型皮膚反応は低下を示した。形質細胞腫は抗体産生細胞の腫瘍なので、免疫反応に何んらかの干渉をする事が考えられるので、肝癌MH134をC3H/Heの皮下に移植し、塩化ピクリルに対する皮膚反応を検討した。

図7のCは正常C3H/Heの一次反応、Bは二次反応、Aは三次反応、で正常C3H/Heでの値は図5の正常C3H/Heのそれと近かった。

MH134を移植された場合の一次反応はX5563の場合の一次反応と似ていて移植後7日目では、正常マウスの一次反応の値とほぼ同値であるが、16日目では反

図4 形質細胞腫X5563を移植されたC3H/Heマウスの遅延型反応



従 軸：遅延型皮膚反応による耳の厚さの増加を 10^{-3} cm 単位で示した。

横 軸：7%塩化ピクリルによる感作後の日数

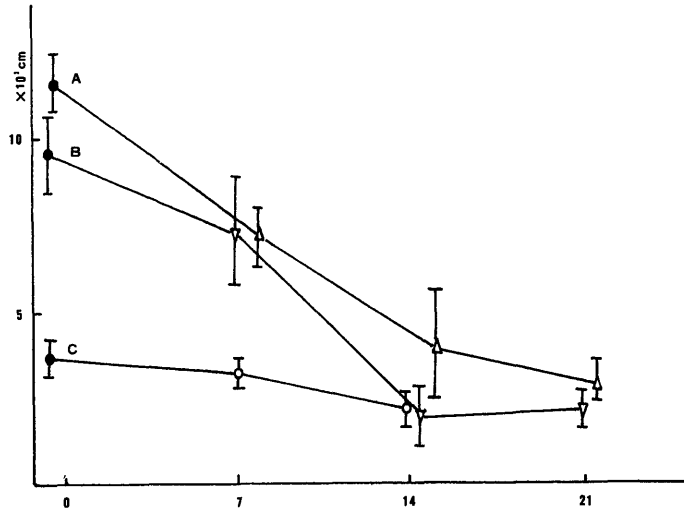
Ⅰ 群：正常C3H/Heマウス

Ⅱ 群：X5563を移植し、同時に感作した。

Ⅲ 群：X5563を移植し、7日後に感作した。

各実験値は5匹のマウスの平均値

図7 肝癌MH134を移植されたC3H/Heマウスの遅延型反応



従 軸：図6に同じ

横 軸：肝癌MH134を細胞数 1×10^5 で皮下に移植後の日数

●A：正常 C3H/He マウスの三次反応

●B： " " 二次反応

●C： " " 一次反応

○ 肝癌MH134を移植された C3H/He の一次反応

▽ " " 二次反応

△ " " 三次反応

各実験値は5匹のマウスでの平均値

応の低下が生じた。

二次、三次反応は共に、移植後7日、16日、25日目と移植後の日数に応じて、反応の低下がみられた。

以上の結果はX5563を移植した場合の遅延型皮膚反応の低下と全く同様である。しかし反応の低下の程度は、2次反応で移植7日目の値をみると、MH134の場合は 7.32 ± 1.65 で、X5563の場合は 3.66 ± 1.08 で、X5563を移植した場合の減少が大きかった。これはX5563とMH134では、移植後の生存日数がX5563では25~30日であり、MH134では40~45日である事によるのかも知れない。

以上の予備実験の結果よりみて、液性抗体産生能の検討に用いた全身計測法は、一般に用いられている血清中の抗体価を測定する方法と異なり、マウスに対する侵襲を少なくして抗体価を測定しようとするものであるが、一次免疫後のアイソトープ量の排出は免疫してないマウスのそれより大きいし、二次免疫後の排出

は一次免疫後のそれより大きかった。又正常マウスで、この実験で用いた $1 \mu\text{g}$ の抗原で免疫した後での排除能は正常マウスの場合と同じであった。これらの事は正常マウスの液性抗体産生が免疫排除能により測定しえた事を示すと思われる。

担癌マウスでは正常マウスに比べIE値は低下した。

正常マウスの遅延型反応の結果は、一次、二次、三次反応につれて値は大きく、Ashersonの報告と一致した。次に担癌マウスでは液性抗体産生能と同様、遅延型反応も腫瘍の増殖に伴って低下した。

塩化ピクリルに対するマウスの反応性よりみて、この方法はマウスに対する侵襲を最小限にする事が出来る点よりBALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程における細胞性免疫能の検討に適当と考えられる。

II. BALB/cマウスの実験的形質細胞腫の発生過程における液性免疫能の推移

1. 形質細胞腫の発生

生後2ヶ月目のBALB/cマウスの腹腔に鉱物油もしくは、 Freund Complete Adjuvant を2ヶ月間隔で計3回注射すると、後に形質細胞腫が発生する。発生率は研究者によってまちまちであるが0~60%迄とされている¹⁷⁾。

発生率に関する最適な条件は生後2ヶ月目より2ヶ月間隔で計3回が最適で、注射がそれ以上でも、以下でも発生率は低下した¹⁾。表1にこの実験で生じた形質細胞腫の発生に関し、ミエローム蛋白の免疫グロブリンのクラス、雄雌による差、実験に用いた抗原による発生率を示した。

発生率に関しては用いた抗原がBGGであってもTAAであっても著しい差は認められなかったし、又雌雄による差、生じたM成分のクラスにも差異は認められなかった。しかし、アジュバント単独で生後2ヶ月目と4ヶ月目に処置され、次いでBGG又はTAAを0.5mlのアジュバントと共に生後6ヶ月目に注射された場合には26例中7例に形質細胞腫が生じたが、そのM成

分のクラスはいずれもIgGに属し、IgAは1例も生じなかった。この事が実験的に有意性があるか否かは、更に例数が必要である。又、BGG-FcAを注射された群ではIgG_{2a}とIgAの二峰性のM成分を有する形質細胞腫が2例生じた。

図の8、9は以上の様にして形質細胞腫が生じたマウスの血清を寒天電気泳動、寒天免疫電気泳動を行った例である。

更に形質細胞腫が生じたマウスには腹水が貯留する事がしばしばある。この様な腹水を位相差顕微鏡で観察すると異常形質細胞が多数みられ(図10)、これらの細胞を電子顕微鏡で観察すると図11の様なC型粒子が観察された。

2. 形質細胞腫の発生と一次免疫能

40匹の生後2ヶ月目のBALB/cの腹腔に1mgのTAAを0.5mlのFcAと共に注射し、1ヶ月後に¹³¹Iでラベルした1μgのTAAを腹腔に注射しIE値を測定した。(図12)

表1 BALB/c マウスの形質細胞腫の発生率

抗 原	発 生 率			形質細胞腫の免疫グロブリンのクラス				
	雄	比 重	合 計	IgG2a	IgG2b	IgG1	IgA	BJ
X3 TAA-FcA	12/ 61 (20)	15/51 (29.4)	27/112 (24.1)	9/27 (33.3)	3/27 (11.1)	0/27 (0)	14/27 (52)	1/27 (3.9)
X3 BGG-FcA	14/ 45 (31.1)	8/27 (29.5)	22/ 72 (30.5)	8/22 [※] (36.4)	0/22 (0)	3/22 (13.6)	11/22 (50)	0/22 (0)
X2 FcA and TAA-FcA	2/ 7 (29)		2/ 7 (29)	2/ 2 (100)	0/ 2 (0)	0/ 2 (0)	0/ 2 (0)	0/ 2 (0)
X2 FcA and BGG-FcA	2/ 5 (40)	3/14 (21.4)	5/ 19 (26.3)	3/ 5 (60)	1/ 5 (20)	1/ 5 (20)	0/ 5 (0)	0/ 5 (0)
Total	30/118 (25.4)	26/92 (28.3)	56/210 (26.7)	22/56 (39.3)	4/56 (7.1)	4/56 (7.1)	25/56 (44.6)	1/56 (1.8)

×3 TAA-FcA : 生後2, 4, 7ヶ月目の計3回, 1mgのTAAを0.5mlのフロイント完全アジュバントと共に腹腔に注射した。

×3 BGG-FcA : 抗原として牛血清γ-グロブリンを用いた。操作はTAAと同じ。

×2 FcA and TAA-FcA : 生後2, 4ヶ月目の計2回, 生食と等量にエマルジョンにしたFcAを0.5ml腹腔に注射し, 生後7ヶ月目に1mgのTAAを0.5mlのFcAと共に腹腔に注射した。

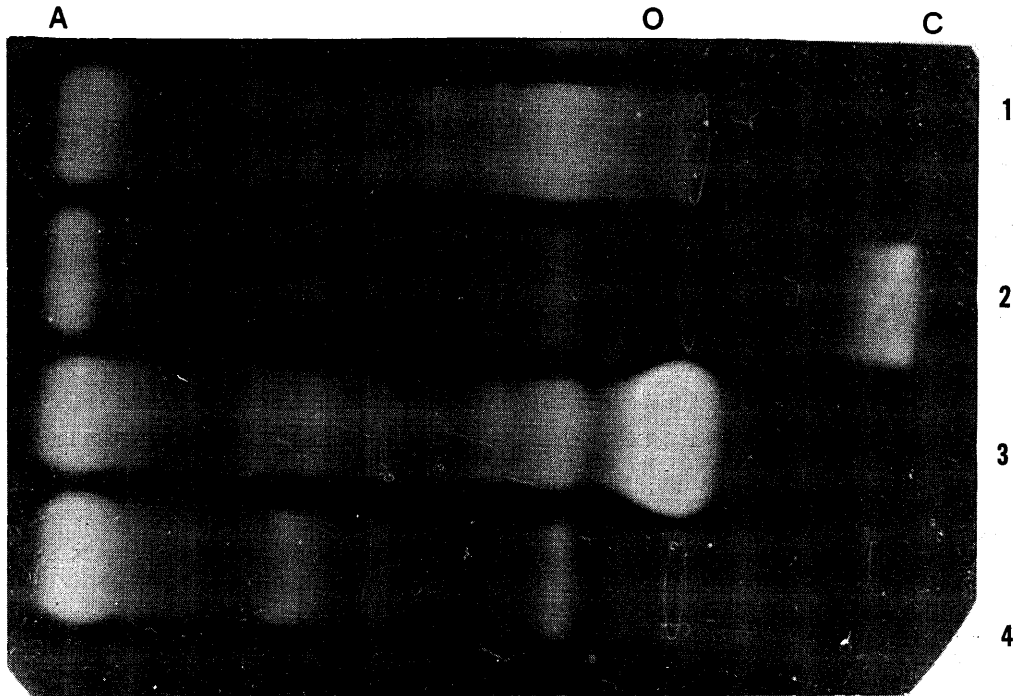
×2 FcA and BGG-FcA : ×2 FcA and TAA-FcAと操作は同じであるが抗原として1mgの牛血清γ-グロブリンを用いた。

表中分母は実験に供したマウスの匹数で, 分子は形質細胞腫になったマウスの匹数。

() 内は形質細胞腫になったマウスの百分率である。

※ 2例はIgG_{2a}とIgAの2峰性のM成分を有していた。

図8 形質細胞腫の寒天電気泳動による検討

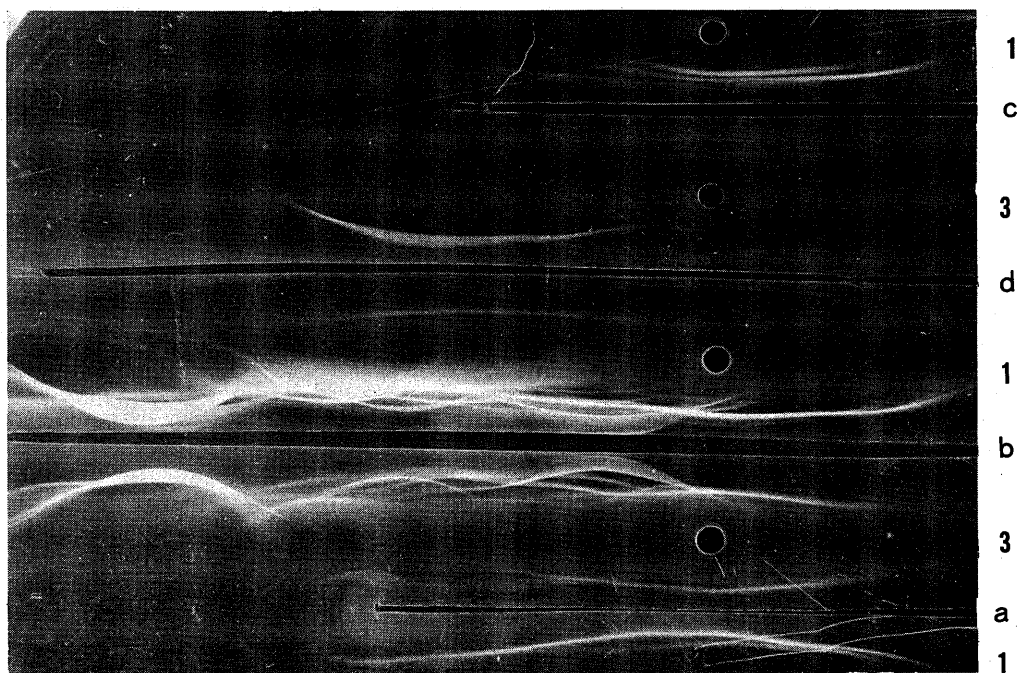
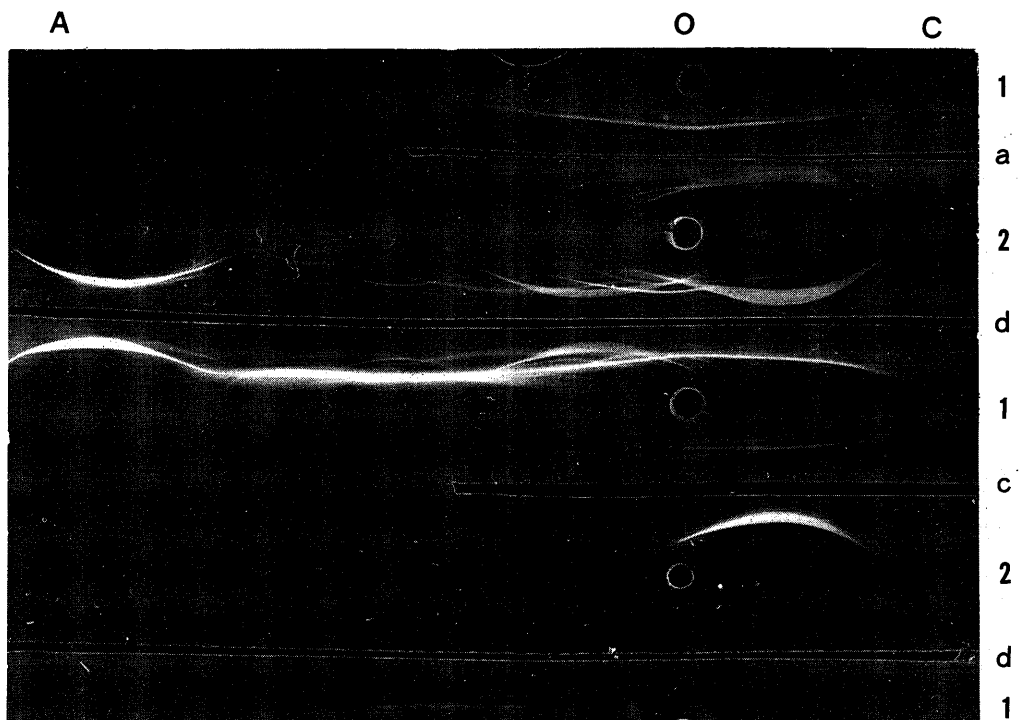


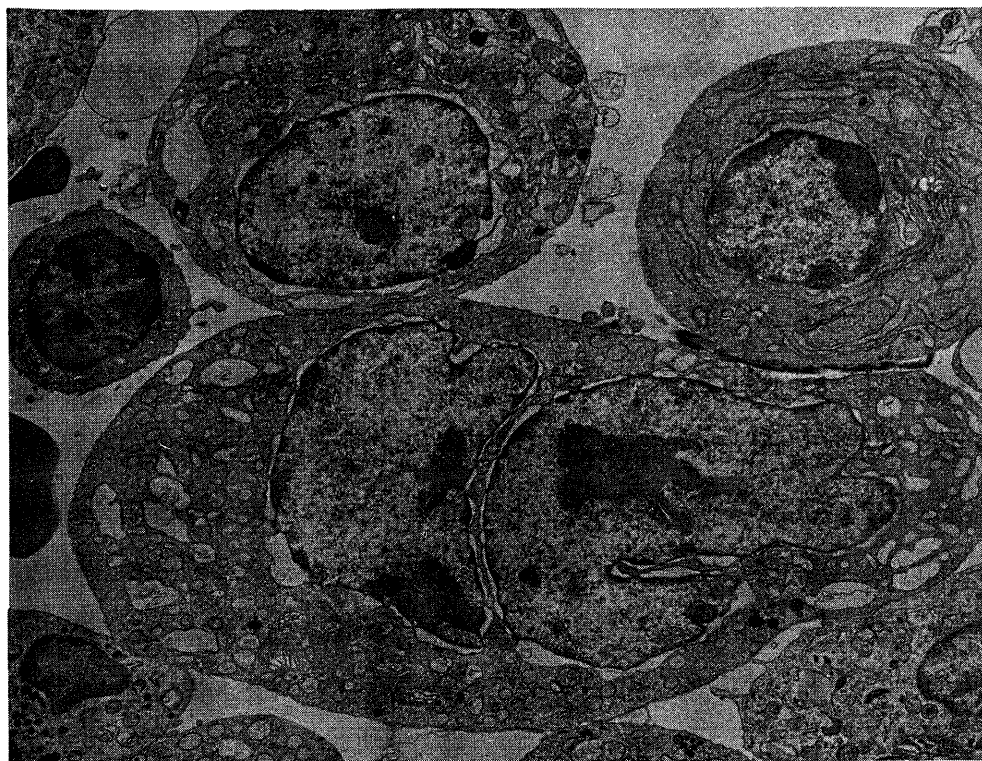
- A: 陽極側
 C: 陰極側
 0: 原点
 1: C63-1 IgA形質細胞腫血清
 2: C52-1 IgG_{2b}形質細胞腫血清
 3: C58-10 IgG_{2b}形質細胞腫血清
 4: 正常BALB/c血清

図9 形質細胞腫の寒天免疫電気泳動による検討

- A: 陽極側
 c: 陰極側
 0: 原点
 1: 正常BALB/c血清
 2: C51-1 IgG_{2b}形質細胞腫になったマウスの腹水
 3: C62-2 IgA形質細胞腫になったマウスの血清
 a: ウサギ抗マウスIgG_{2a}血清
 b: ウサギ抗マウス全血清
 c: ウサギ抗マウスIgG_{2b}血清
 d: ウサギ抗マウスIgA血清

図10 C12-1 IgA形質細胞腫の腹水中の異常形質細胞の電子顕微鏡写真
倍率×50,000図11 図10に同じ
倍率×200,000





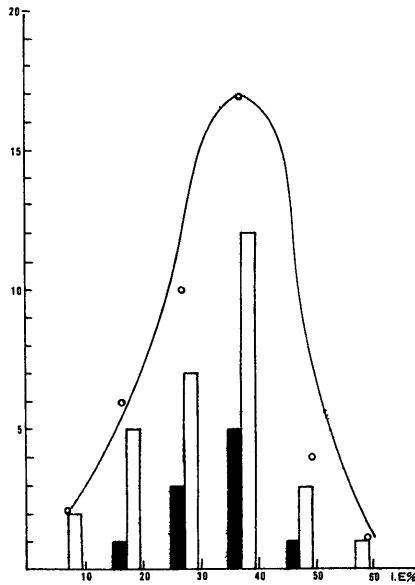


図12 TAAに対する1次反応と形質細胞腫の発生

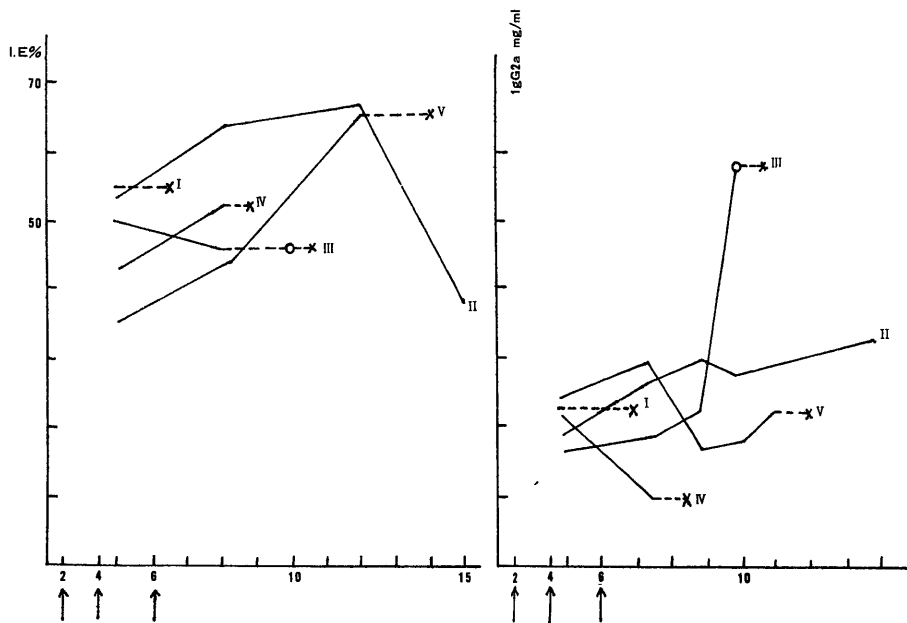
縦軸はマウスの匹数である。

横軸はTAA-FCAの1回目注射後1ヶ月目の免疫排除能の値で百分率で示した。

白柱は後に形質細胞腫にならなかったマウスの匹数
黒柱は後に形質細胞腫になったマウスの匹数

—○— : 1次反応のIE値とマウスの分布を示したもので、黒柱と白柱のマウスの匹数の和である。

図13-a TAAに対する液性抗体産生能と形質細胞腫の発生



縦軸は免疫排除能の値で、百分率で示した。横軸はマウスの年齢。

図のアラビア数字はマウスの個体番号。

—○— : 形質細胞腫が発生した時期

-----X : マウスが死亡した時期

矢印は1mgのTAAを0.5mlのFCAと共に腹腔に注射した時期である。

図13-b IgG_{2a}量の変動と形質細胞腫の発生

縦軸は血清1ml中のIgG_{2a}のmg数

横軸、アラビア数字及び矢印は13-aに同じ

—○— , -----X : 13-aに同じ

III : IgG_{2a}形質細胞腫

一次反応のIE値は平均値が29.85%で正規分布を示した。そして後にこれらのマウスより11匹が形質細胞腫になったが、そのIE値は、後に形質細胞腫にならなかったマウスのIE値と違いは認められなかった。

3. 形質細胞腫の発生と二次免疫能

図13a, 14aにTAA-FCAの2回目注射以後のIE値の推移と後の形質細胞腫の発生を示した。

形質細胞腫が正確にはどの時点で発生したのかは判定しえないが、ここでは寒天電気泳動により最初にM成分が検出され、マウスの腹水中に異常形質細胞がみられた日を、発生の時点とした。更に免疫排除能を測定したマウスを経時的に採血し、血清中のIgG_{2a}量を

測定した。

これらのマウスの内、後に形質細胞腫になったマウスは2回目注射後1ヶ月目の時点で、後に形質細胞腫にならなかったマウスに比べそのIE値は比較的高値を示した。しかしほとんどの場合には、その血清中にM成分が検出され、腹水中に異常形質細胞が認められる1~2ヶ月前よりそのIE値は低下を示し、形質細胞腫になってからはその低下は更に大きかった(図13, 14)。

血清中のIgG_{2a}量はM成分がIgG_{2a}の形質細胞腫は形質細胞腫の進行と共に増加を示し、M成分が他のクラスの場合には、低下を示した。しかし、形質細胞腫が

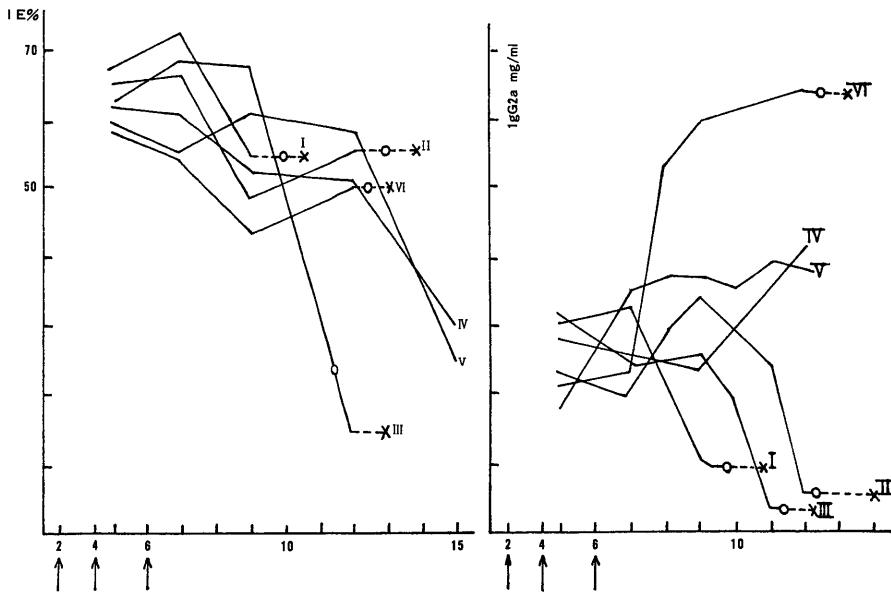


図14-a TAAに対する液性抗体産生能と形質細胞腫の発生

縦軸は免疫排除能の値で、百分率で示した。

横軸はマウスの年齢

図のアラビア数字はマウスの個体番号

—○— : 形質細胞腫が発生した時期

-----× : マウスが死亡した時期

矢印は1mgのTAAを0.5mlのFCAと共に腹腔に注射した時期である。

図14-b IgG_{2a}量の変動と形質細胞腫の発生

縦軸は血清1ml中のIgG_{2a}のmg数

横軸, アラビア数字及び矢印は14-aに同じ

—○—, -----× : 14-aに同じ

I : IgA形質細胞腫

II : IgA形質細胞腫

III : IgA形質細胞腫

IV : IgG_{2a}形質細胞腫

発生しなかったマウスでは、加齢に伴うIgG_{2a}量の増加がみられた。

次にTAA以外の抗原、ウシ血清γ-グリブリンを抗原とし、IE値の推移と後の形質細胞腫の発生との関係を見た。図15はその内の1例で、この場合もやはり後に形質細胞腫が生じたマウスは2回目、3回目注射後に比較的IE値が高値を示した。

一回目注射後の個々のマウスのIE値は、余り大きな差は認められないが、各個体のIE値は2回目注射以降に大きくなり、IE値の高い群と低い群に分れる様である。

4. アジュバント効果と形質細胞腫の発生

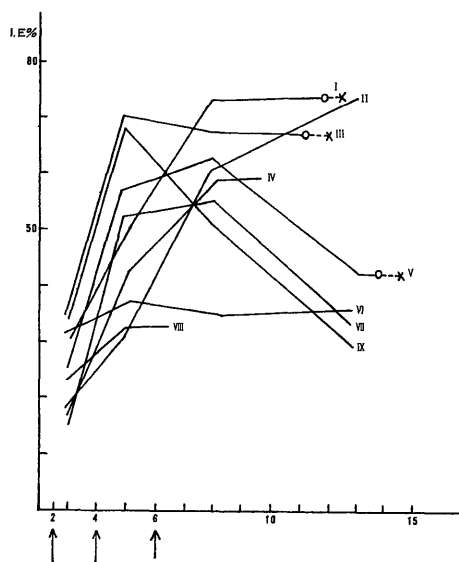
アジュバントは抗体産生を非特異的に高める事が知られている。又形質細胞腫は、アジュバントの単独注射によっても生じる。そこで前もって2回アジュバ

ントを単独でBALB/cマウスに注射し、三回目の注射にTAA-FCAを注射し、IE値が前もってのアジュバント注射により高められるかどうか、そして先にのべた様にIE値の高い群より後に形質細胞腫が生じるかをみた。

IE値は3回目注射後7日目で測定し、対照の同令で前もって2回のアジュバント単独注射を受けないで、TAA-FCAを注射されたマウスの7日目でのIE値(黒い三角部分)と比較した。前もって2回アジュバント注射されたマウスでは、アジュバント効果により、対照群のIE値より高いIE値を示し、各個体差は対照での個体差より大きかった。

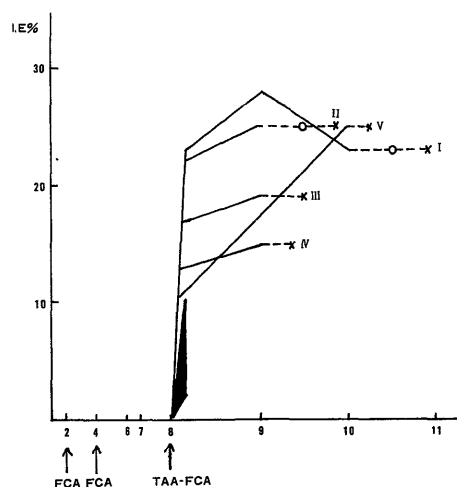
この実験においても後の形質細胞腫の発生はより高いIE値を示したマウスに認められた。

図15. BGGに対する液性抗体産生能と形質細胞腫の発生



縦軸は免疫排除能の値で百分率で示した。
横軸はマウスの年齢である。
図のアラビア数字はマウスの個体番号
○---○ : 形質細胞腫が発生した時期
---X : 死亡した時期
矢印は1mgのBGGを0.5mlのFCAと共に腹腔に注射した時期である。
I : IgA形質細胞腫
III : IgG_{2a} "
V : IgG_{2a}とIgAの2峰性形質細胞腫
IX : IgG₁形質細胞腫

図16 アジュバント効果と形質細胞腫の発生



縦軸は免疫排除能の値で百分率で示した。

横軸はマウスの年齢

図のアラビア数字はマウスの個体番号

○---○ : 形質細胞腫が発生した時期

---X : マウスが死亡した時期

矢印のFCAは0.5mlのFCAを腹腔に注射した時期

矢印のTAA-FCAは1mgのTAAを0.5mlのFCAと共に腹腔に注射した時期

図の黒い三角部分は正常BALB/cマウスに1mgのTAAを0.5mlのFCAと共に腹腔に注射し、7日目に免疫排除能を測定した場合の10匹のマウスの値の範囲

I : IgG_{2a}形質細胞腫

II : "

5. 二次反応と形質細胞腫発生の相互関係における有意性

以上の実験より、形質細胞腫は免疫排除能が亢進したマウスに生じる様にみえる。つまり一次免疫後1ヶ月目でのIE値には個体差は余り著しくないが、2回目注射以降個体差は大きくなった。一方形質細胞腫の発生は3回目注射後、1~6ヶ月目であり、2回目注射後1ヶ月目では、血清蛋白の電気泳動的所見も、腹水細胞の形態学的所見にも形質細胞腫の徴候は認められなかった。

そこでTAA-FCAを3回注射したマウスの86匹につき、2回目注射後1ヶ月目で液性抗体産生が亢進したものに後に形質細胞腫が生じるかを推計学的に検討した。

図17は二次免疫後1ヶ月目のIE値の分布と三回目注射後に形質細胞腫になったマウスの分布を示した。

IE値の分布は高値と低値の二峰性を示し、形質細胞腫の発生は、IE値が高い群より多く発生した。

最も高い発生率はIE値が60~70%の群で、53.3%の発生率であった。

以上の様に二次免疫後1ヶ月目のIE値が高い群と低い群で、後の形質細胞腫の発生に違いがある事は推計学的に有意性があった。

以上の様に形質細胞腫の発生は液性免疫能と密接な関係があると考えられる。そこで二回目注射後1ヶ月目のマウス血清のIgG_{2a}量と後の形質細胞腫の発生の関係をみた。

図18に示す様に二回目注射後1ヶ月目のマウス血清γG_{2a}量の分布は左右対称の正規分布を示した。この内形質細胞腫の発生はIgG_{2a}量が3mg/mlから8mg/mlの間で各群より同じ割合で生じ、20~29%の発生率であった。しかしながら、IgG_{2a}量が3mg/ml以下であった8匹には1例も形質細胞腫の発生は認められなかった。

6. ミエローム蛋白の抗体活性

TAAもしくはBGGを抗原として形質細胞腫の発生過程で液性抗体産生能を測定すると、免疫能が高値であったマウスに形質細胞腫が発生する。もし形質細胞腫が用いられた抗原に対する抗体産生細胞が活発に分裂している時期に生じたものであるとすれば、生じたM成分には、用いられた抗原に対する抗体活性をもった例があってもよい事になる。しかし Ochuterlony 法、免疫電気泳動法で検討した結果、その様な例はなかった。

ここ迄の結果はBALB/cマウスの形質細胞腫は液性抗体産生が亢進したマウスに生じる事を示している。

この事は全く抗原注射を受けないBALB/cでは形質細胞腫は発生しないし、又無菌飼育のBALB/cで形質細胞腫の誘発を行っても発生率¹⁸⁾は非常に低い事からも考えられる。

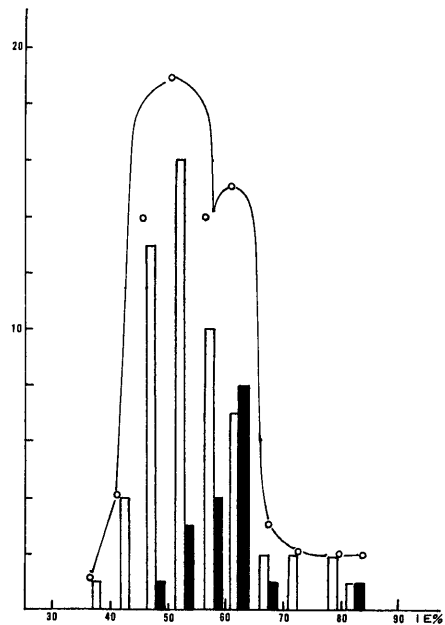
しかし生じた形質細胞腫の合成するM成分には、用いたM成分に対する抗体活性を有する例はなかったので、抗体産生細胞が直接腫瘍に変換するのではないと考えられる。それでは何故、液性抗体産生能の高いマウスに形質細胞腫が生じたのか。

そこでBALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程で細胞性免疫能を検討した。

Ⅲ. 形質細胞腫にならなかったBALB/cマウスの細胞性免疫能

最初に形質細胞腫にならなかったBALB/cマウス(Residual mouse : RM)は正常のマウスと比べ免疫能、特に腫瘍の発生を監視すると言われる細胞性免疫能、に違いがあるかを検討した。

図17 TAAに対する2次反応と形質細胞腫の発生。

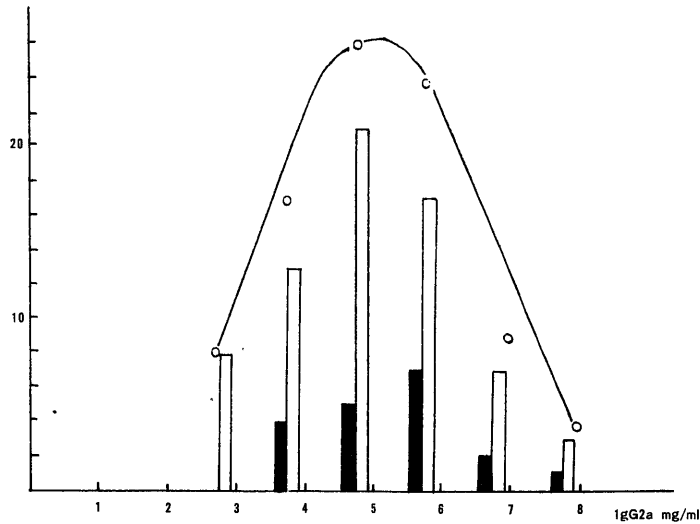


縦軸はマウスの匹数である。

横軸は、TAA-FCAの2回目注射後1ヶ月目の免疫排除能の値で百分率で示した。

白柱は後に形質細胞腫にならなかったマウスの匹数
黒柱は後に形質細胞腫になったマウスの匹数

○—○ : 2次反応のIE値とマウスの分布を示したもので、黒柱と白柱の匹数の和である。

図18 IgG_{2a}量と形質細胞腫の発生.

縦軸はマウスの匹数.

横軸はTAA-FCAの2回目注射後1ヶ月目の血清1ml中のIgG_{2a}量

白柱は形質細胞腫にならなかったマウス.

黒柱は形質細胞腫になったマウス.

---○--- : 血清中のIgG_{2a}量のマウスの分布を示したもので、白柱と黒柱のマウスの匹数の和である.

1. 塩化ピクリル(PC)を用いた遅延型皮膚反応による検定

TAA-FCAを計3回注射され、生後12~14ヶ月迄に血清学的、形態学的に形質細胞腫の徴候が認められなかったBALB/cマウス(RM)の遅延型皮膚反応を正常若令BALB/c(生後3ヶ月)、及び正常老令BALB/cマウス(生後12~14ヶ月)で比較した.

若令マウスのPC一次反応は $(11.03 \pm 2.03) \times 10^3$ cm²で、二次反応は $(19.0 \pm 2.47) \times 10^3$ cm²であった. 正常老令マウスでは一次反応が $(5.74 \pm 0.67) \times 10^3$ cm²、二次反応は $(8.17 \pm 1.77) \times 10^3$ cm²で、三次反応は $(12.7 \pm 2.47) \times 10^3$ cm²であった. 以上の様に老令マウスでは若令マウスに比べ遅延型反応の低下が認められる. RMでは一次反応が $(1.95 \pm 0.76) \times 10^3$ cm²、二次反応が $(2.98 \pm 0.99) \times 10^3$ cm²、三次反応が $(5.80 \pm 1.8) \times 10^3$ cm²で、一次、二次、三次反応共に老令マウスに比べ低下が大きかった. 特にRMは三次反応の値ですら、正常老令マウスの一次反応より低値であった.

2. 脾臓リンパ球のPHAによるプラスト化能による検定

PCを用いた実験結果は、RMでは著しい細胞性免疫能の低下が生じていた. そこでこの点を更にPHAによる脾臓リンパ球の幼若化能で検討した.

検討したマウスはRM、正常若令(生後3ヶ月目)マウス、正常老令(生後12ヶ月目)マウス及び、400RのX線照射後2時間目と8日目の若令マウスである.

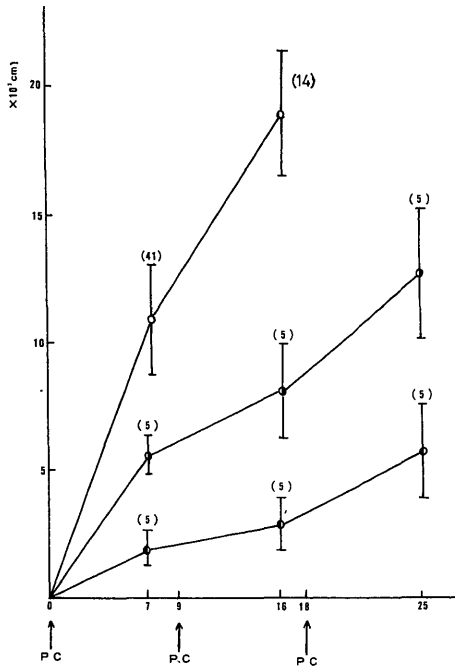
PHAに対する反応性は、PHAを加えた培養での³H-TdRのとり込み(cpm)に対する、対照のPHAを加えない培養での³H-TdRのとり込みの比で示した. したがって値の大きい程反応性が高いと言える.

最も高値であるのは若令マウスで平均6.3であった. 次いで正常老令マウスの3.2であった. これに対し、400RのX線照射後2時間目の老令マウスでは反応はみられなかった.

又RMでもX線照射後2時間目の若令マウスと同様反応はみられなかった.

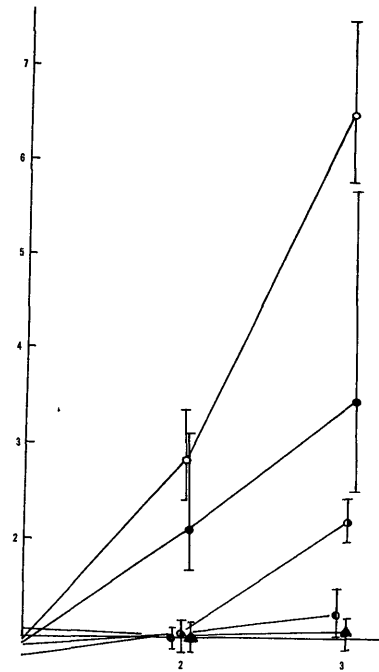
400RのX線照射後8日目マウスでは2.3で、この事はX線照射後日数がたつと、反応性が回復してくる事を示すと考えられる. 以上のPHAによる幼若化能の結果はPCでの結果と良く一致し、反応性は若令、老令、RMの順に低値であった.

図19 遅延型皮膚反応



従 軸：遅延型皮膚反応による耳の厚さの増加を 10^{-3} cm 単位で示した。
 横 軸：7%塩化ピクリルによる感作後の日数。
 矢印は7%塩化ピクリルによる感作の時期
 P.C.: 7%塩化ピクリルエタノール溶液
 ○: 正常若令マウス
 ●: 正常老令マウス
 ○●: RM
 () 内の数字は実験に用いたマウスの匹数

図20 脾臓リンパ球のPHAによるプラスト化能



従 軸：PHAを加えた培養での ^3H -チミジンのとり込みに対する対照の生理的食塩水を加えた培養でのとり込み値の比
 ○: 正常若令BALB/c
 ●: 正常老令BALB/c
 ○●: 400RのX線照射後8日目の若令BALB/c
 ○●: 400RのX線照射後2時間目の若令BALB/c
 ▲: RM
 各実験値は5匹のマウスでの平均値

3. 腹腔リンパ球による細胞傷害性の検討

BALB/cの組織適合抗原、 H-2^d とは異なる系のAKRマウス (H-2^k) 由来の腫瘍細胞でRM、及び正常老令BALB/cを免疫し、腹腔リンパ球による細胞傷害性を検討した。

^{51}Cr をラベルしたAKRマウス由来のリンパ腫細胞AKRCIに対する細胞傷害性は、対照の免疫してない正常老令の腹腔リンパ球では、平均18%であった。

マイトマイシンCで処理したAKRCIで免疫した正常老令では、いずれも平均値で、1回免疫が27.8%、2回免疫で41.3%、3回免疫で43%であった。つまり免疫の回数に応じて腹腔リンパ球による細胞傷害性は高値であった。これに対しRMでは2回免疫であっても、その腹腔リンパ球による細胞傷害性は27.7%で、

正常老令を1回免疫した場合の値と同じで、細胞傷害性による細胞性免疫能も、RMでは低下を示した。

対照の正常AKRマウスの腹腔リンパ球、マイトマイシンCで処理したAKRCIで1回免疫したAKRマウスの腹腔リンパ球による細胞傷害性は、17.2%と18.5%でいずれも正常老令BALB/cによるものと近値であった。

4. 移植免疫能

1) 異系マウス由来の腫瘍細胞のRMへの生着

RMの腹腔リンパ球でのAKRCIに対する細胞傷害性の低下は、RMにBALB/cの組織適合抗原 (H-2^d) とは異なった系由来の腫瘍細胞が増殖し、生着する可能性を示唆する。そこで表3にある様に6種類の腫瘍細胞をRMの腹腔に移入し、その生着を検討した。

表2 腹腔リンパ球による細胞傷害性

	BALB/c normal	BALB/c 1x AKRCI	BALB/c 2x AKRCI	BALB/c 3x AKRCI	BALB/c RM 2x AKRCI	AKR normal	AKR 1x AKRCI
⁵¹ CrAKRCI より放出され た ⁵¹ Cr の%	15	23	41.3	43	27	18	20.5
	20	32				15	14.5
	17	29.4	39.2	43.2	25	13.5	12
	18	29	43.4	42.7	31	15.5	16
	20	25.5				18	19.5
平均値	18%	27.8%	41.3%	43%	27.7%	17.2%	18.5%

1 × AKRCI : マイトマイシンCで処理したAKRCI (mcAKRCI) を細胞数 1×10^6 で腹腔に注射し、7日後に細胞傷害性をみた。

2 × AKRCI : mc AKRCI で2回免疫

3 × AKRCI : mc AKRCI で3回免疫

表3 異系マウスの腫瘍のRMへの生着

受容者		BALB/c						同系マウス c
		3M b normal	12-14M normal	12-14M x3 TAA-FCA	12-14M x1 TAA-FCA	3M 400R	3M 400R	3M normal
AKR	$\times 10^5$	0/5	0/5	4/5	0/5	3/5	死亡	3/5
AKRCI	$\times 10^6$	0/5	0/5	5/5	0/5	5/6	死亡	3/5
C57BL/6	$\times 10^5$	0/5	0/5	4/5	0/5	2/5		4/5
RD12	$\times 10^6$	0/5	2/7	4/5	1/5	3/5		3/5
C3H/He	$\times 10^5$	0/5		2/3				3/3
X5563	$\times 10^6$	0/3		3/3	1/3			4/4
C3H/He	$\times 10^5$	0/3	0/3	3/3			死亡	5/5
MH134	$\times 10^6$	0/3	1/5	3/3				5/5
C3H/He	$\times 10^5$	0/5	1/3	2/3				5/5
FM3A	$\times 10^6$	0/5	1/5	4/5				5/5
C57BL/6	$\times 10^5$	0/5	0/3	1/3	0/3			5/5
EL4	$\times 10^6$	0/5	0/4	2/3	0/3	3/3		5/5

移植腫瘍の株名は材料と方法を参照

a : 移植細胞数

b : マウスの年齢

c : 腫瘍が由来した系のマウス

用いた腫瘍細胞の由来するマウスのH-2はAKRがH-2^d, C57BL/6がH-2^b, C3H/HeがH-2^kである。

生後3ヶ月目の正常BALB/cの腹腔に、腫瘍細胞を10⁵で移入した場合には、いずれの腫瘍も移入後2ヶ月目迄に生着はみられなかった。細胞数が10⁶では、C57BL/6由来の培養リンパ腫、及びC57BL/6由来の白血病細胞EL4にわずかに1例ずつの腫瘍死がみられたが、残り24例に腫瘍死はなかった。

生後3ヶ月目のBALB/cに400RのX線を照射すると、腫瘍死の割合は高くなり、腫瘍細胞による違いはあるが、40~100%であった。

生後12~14ヶ月目の正常老令BALB/cでは、細胞数10⁵でC3H/He由来の乳癌を用いた場合に1例腫瘍死があった。細胞数10⁶ではC57BL/6由来の培養リンパ腫で2例、C3H/He由来の乳癌及び肝癌で各1例腫瘍死が認められたが、残り21例には腫瘍死はなかった。

つまり正常BALB/cでは細胞数10⁵の移植で、老令に1例腫瘍死が認められたにすぎず、10⁶の細胞数でも、若干腫瘍死の割合が高くなるが、いずれもH-2抗原の異なる腫瘍に対して移植免疫能が生じるといえる。しかし、正常BALB/cでもX線照射により免疫能が破壊された場合には、腫瘍死が生じる。

これに対しRMではいずれの腫瘍細胞を用いた場合でも腫瘍死が高率に生じる。つまり移入細胞数10⁵では24例中16例、10⁶の移入では、24例中21例に腫瘍死が認められた。

この様にRMでは移植免疫能の低下により、H-2抗原の不適合にもかかわらず、腫瘍細胞が増殖し、ついには宿主が腫瘍死すると言える。

このRMの腫瘍移植の万能性は、生後2ヶ月目より2ヶ月間隔でアジュバント注射されたBALB/cでみられ、RMとは同令であるが、生後2ヶ月目にのみアジュバント注射され4BALB/cでは、腫瘍移植による腫瘍死の割合は、対照の正常老令BALB/cと同値であった。

2) BALB/c原発の腹水型ミエローム細胞のRMへの移植

マウスの形質細胞腫の研究にとって、生じた腫瘍細胞を継代移植する事は重要な事である。原発で生じた形質細胞腫はそのすべてが継代移植できるとは限らず、腹水型形質細胞腫の場合にはその可能性は特に低い²⁾。

この原発腹水型形質細胞腫の移植が困難である理由には、腫瘍細胞の抗原性と、それに対する受容者の免疫反応が考えられる。そこでRMで原発の腹水型形質細胞腫の移植を検討した。

用いた原発腹水型形質細胞腫の合成するM成分は、IgF, IgG, IgHがそれぞれ2株ずつ、IgAが4株、IgGとIgAの2種のM成分が認められたもの2株であった。

正常老令BALB/cを受容者とした場合には、移植後2ヶ月目迄に血清中にM成分、又は腹腔にミエローム細胞が認められたものは1例もなかった。

生後3ヶ月目のBALB/cに400RのX線照射した場合には34例中4例が腫瘍死した。この4例にはいずれも血清中に原発で認められたM成分と同一のクラスの、同一の易動度をもつM成分が認められ、又腹腔中にはミエローム細胞が増殖していた。この場合の腫瘍死はいずれも移植後4~5週目であった。これに対し、RMでは用いた抗原がTAAでもBGGでも非常に移植率は高く、TAAを用いたRMでは29例中26例、BGGを用いたRMでは16例中15例に移植が成功し、移植率は100%に近かった。又移植の成功は原発の形質細胞腫の合成するM成分のクラスには関係がなかった。

しかもRMでの腫瘍死の時期はX線照射のマウスでみられた腫瘍死の時期より短時間で移植後2~3週目であった。

この事はRMの腹腔が腫瘍の増殖に有利である事を示す。

X線照射マウスでの移植率が低い事と、又移植に成功しても、腫瘍死迄の時期がRMに比べて長い事は、腫瘍の移植に細胞性免疫が大きな役割を持つといえる。つまりX線照射後2時間目と8日目のマウスの脾臓リンパ球はPHAに対する態度が異なっており、8日目の場合には反応性の回復が認められた。この事はX線照射でも細胞性免疫能の回復が生じ、この事により腫瘍の移植は低率で、移植に成功しても、腫瘍死で示される様に細胞の増殖に時間が必要であると推定される。

RMに移植が可能であった形質細胞腫は、正常のBALB/c、又はX線照射BALB/cに次の代で移植されうるとは限らず、更に何代かRMへの移植をくり返すと正常BALB/cに継代移植が可能となった(表5)。

C63-4 (IgA形質細胞腫)は3代RMに移植した後に正常BALB/cに移植が可能になったし、C56-6 (IgG形質細胞腫)では4代RMに移植する必要があった。

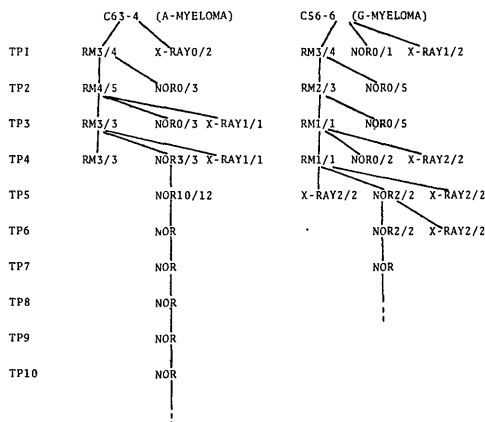
この様に形質細胞腫の移植では、初期の代では細胞性免疫能が永続的に低値であるマウスにしか移植されない。後に正常マウスに移植が可能になる事は何代かの移植の間に腫瘍抗原に変化がおこる事かもしれないが、更にこの点の研究が必要と思われる。

以上の様にRMの細胞性免疫能は、いずれの方法で

表4 RMへの原発腹水型形質細胞腫の移植の検討

受 容 者 形質細胞腫	BALB/c			
	正 常	3XTAA-FCA	3XBGG-FCA	400R
	12-14M	12-14M	12-14M	3M
49-4 IgF	0/ 2	4/ 4		3/ 2
56-6 IgG	0/ 2	3/ 4		1/ 3
63-4 IgA	0/ 3	3/ 4		0/ 2
62-1 IgG IgA	0/ 2	2/ 2	2/ 2	0/ 5
63-7 IgA	0/ 1	3/ 3	2/ 2	1/ 3
65-5 IgF	0/ 2	2/ 2	2/ 3	0/ 4
53-6 IgA	0/ 1	1/ 2	3/ 3	1/ 3
51-1 IgH	0/ 1	2/ 2	2/ 2	1/ 3
65-3 IgA	0/ 3	2/ 2	1/ 1	0/ 2
51-2 IgH	0/ 2	2/ 2	1/ 1	0/ 2
49-6 IgG	0/ 2		2/ 2	0/ 3
49-2 IgG IgA	0/ 3	2/ 2		0/ 2
合 計	0/25	26/29	15/16	4/34
%	0%	90%	94%	12%

表5 原発腹水型形質細胞腫の継代移植



TP : 移植代数

X-Ray : 400RのX線照射BALB/cマウス

NOR : 正常BALB/cマウス

分数の分母は実験に用いたマウスの数

分数の分子は腫瘍が生着したマウスの数

検討しても低下が認められた。

特に異系マウス由来の腫瘍細胞やBALB/cに原発した腹水のミエローム細胞が、正常マウスや、X線照射マウスに比べてRMで生着がよかった事は、RMの細胞性免疫能の低下は、X線照射マウスに比べ持続的である事によると考えられる。それでは何故RMは形質細胞腫にならないのか、これは多分、形質細胞腫の発生が生後10ヶ月目位に最も高い事よりみて、細胞性免疫能の低下と共に骨髓由来細胞の刺激による増殖が必要なのかもしれない。

そこで次にBALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程で液性抗体産生能と細胞性免疫能の関係をみた。

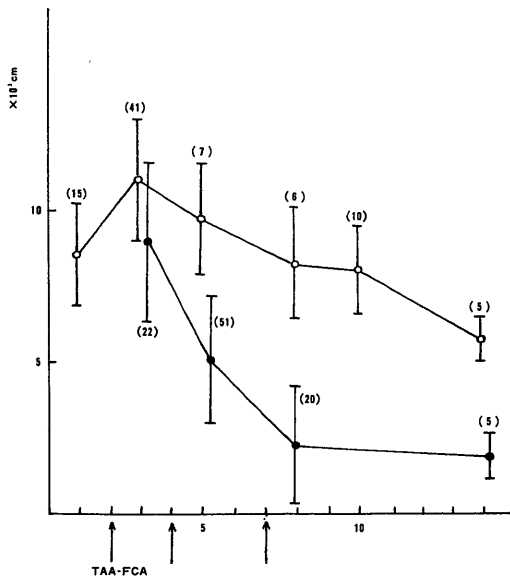
IV. BALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程における細胞性免疫能の変遷

1. 塩化ピクリルに対する遅延型皮膚反応

正常BALB/cマウスの加齢に伴う塩化ピクリルに対する反応を検討し、更にTAA-FCAを注射されたマウスで、注射の回数によるPC反応の推移を検討した(図21)。

正常BALB/cマウスのPC反応は生後2~3ヶ月目が

図21 加齢及びTAA-FCA注射による遅延型皮膚反応の変化。



縦 軸：遅延型皮膚反応による耳の厚さの増加を 10^3cm 単位で示した。

横 軸：マウスの年齢

矢 印：TAA-FCAを注射した時期

○：正常BALB/cマウスの一次反応

●：TAA-FCAを注射されたマウスの一次反応

() 内は実験に用いたマウスの匹数

最も高値で、 $(11.03 \pm 2.03) \times 10^3 \text{cm}$ であった。この後は加齢に伴ない反応は低下し、生後14ヶ月目では、 $(5.74 \pm 0.67) \times 10^3 \text{cm}$ であった。

生後2ヶ月目にTAA-FCAを腹腔に注射され、注射1ヶ月目にPC反応を行ったところ、PC反応の低下が認められ、 $(9.02 \pm 2.6) \times 10^3 \text{cm}$ であった。更に対照の生後5ヶ月目での反応が $(19.7 \pm 1.9) \times 10^3 \text{cm}$ であるのに対し、TAA-FCAを注射されたBALB/cのPC反応は生後2、4ヶ月目の計2回注射で、注射後1ヶ月目では $(5.17 \pm 2.15) \times 10^3 \text{cm}$ であった。

又生後8ヶ月目の正常BALB/cの反応が $(8.15 \pm 1.81) \times 10^3 \text{cm}$ であるのに対し、生後2、4、7ヶ月目の計3回注射された生後8ヶ月目の場合には、 $(2.15 \pm 1.85) \times 10^3 \text{cm}$ であった。又、3回注射のマウスで生後14ヶ月目のRMでは $(1.95 \pm 0.76) \times 10^3 \text{cm}$ であった。

以上の結果は、形質細胞腫の発生過程では、TAA-FCAの注射により、細胞性免疫能の低下が生じ、低下

の度合は注射の回数に応じて大きい事を示す。

2. PHAに対する脾細胞のプラスト化能

細胞性免疫担当細胞は胸腺由来のリンパ球であり、Phytohemagglutine (PHA) は、選択的に胸腺由来のリンパ球に作用し、幼若化現象を生じさせる事が知られている¹²⁾。そこで1)と同様、正常BALB/cマウスの加齢に伴うPHA反応と、TAA-FCAを注射されたマウスでのPHA反応を比較した(図22)。

正常BALB/cマウスのPHAに対する反応は生後3~6ヶ月目が最も高値で、PHAを加えた場合に対する、対照の³H-チミジンのとり込み値の比を検討すると6.5であった。以後反応は加齢に伴って低下し、生後14ヶ月目では3.0であった。この様にPHAに対する反応のピークが生後3ヶ月目で、以後加齢と共に低下する事は、PC反応の結果とよく一致している。

生後2ヶ月目にTAA-FCAを注射された、生後3ヶ月目のBALB/cの反応は、対照の正常BALB/cの反応が6.5であるのに対し、4.3で、反応の低下がみられた。生後2、4ヶ月目の計2回TAA-FCAを注射された生後6ヶ月目の場合は更に低下は大きく、生後6ヶ月目の正常BALB/cが6.7であるのに対し、比は2.6であった。

又、生後2、4、7ヶ月目に計3回TAA-FCAを注射されたBALB/cで生後12ヶ月目でPHA反応を調べると、反応はほとんどみられなかった。

以上のTAA-FCAを注射されたマウスではPHAに対する反応性が低下し、その低下はTAA-FCAの注射の回数に応じて大きい事は、PC反応の結果と良く一致した。

3. 液性免疫能と細胞性免疫能の関係

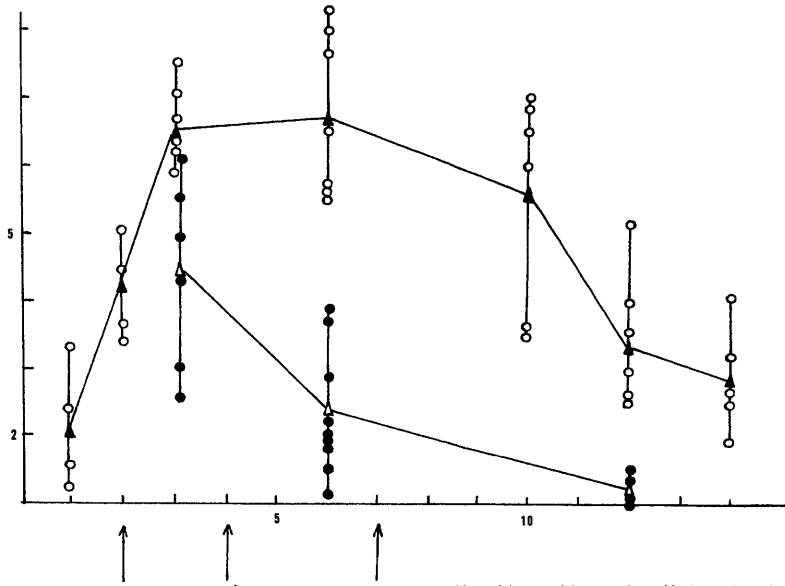
液性抗体産生能はTAA-FCAの注射の回数により亢進する。しかし1)、2)において示した様に細胞性免疫能は逆にTAA-FCAの注射の回数により低下を示した。この事は Parish¹⁹⁾の報告にある様に液性抗体産生能と、細胞性免疫能の間に競合関係がある可能性を示唆する。そこで液性抗体産生が亢進し、IE値の個体差が大きくなり、又細胞性免疫能の低下も大きく、かつ形質細胞腫の徴候がみられない2回目注射後、1ヶ月目の52匹のマウスのIE値と、同じ個体でのPC一次反応の間の相関関係をみた。

図23でのPC反応の値とIE値の間には $r = -0.615$ の負の相関関係が認められ、従って液体抗体産生能と、細胞性免疫能は競合関係をもっと考えられる。

4. 細胞性免疫能と形質細胞腫の発生の関係

先に2回目注射後1ヶ月目におけるIE値の分布は、1回目注射時でのIE値が正規分布を示したのに対し、

図22 加齢及びTAA-FcA注射による脾臓リンパ球のPHAに対するプラスト化能



縦軸：PHAを加えた培養の ^3H -チミジンのとり込み値に対する対照の生理的食塩水を加えた培養での ^3H -チミジンのとり込み値の比

横軸：マウスの年齢

矢印：TAA-FcAを注射した時期

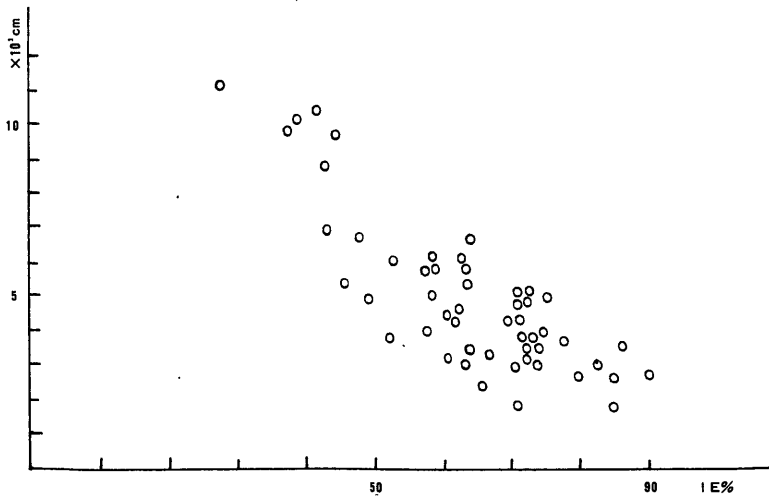
○：一匹の正常BALB/Cでの結果

▲：正常BALE/Cでの値の平均値

●：TAA-FcAを注射されたBALB/Cの一匹での値

△：TAA-FcAを注射されたBALB/Cでの値の平均値

図23 液性免疫能と細胞性免疫能の関係



縦軸：遅延型皮膚反応による耳の厚さの増加を 10^{-3}cm 単位で示した。

横軸：TAAに対する二次免疫排除能の値 (IE)

○：マウスの各個体の遅延型反応の値とIE値

2 峰性を示し、後の形質細胞腫の発生は液性抗体産生能が亢進した群にみられる事を示した。細胞性免疫能と液性抗体産生能が競合関係にあると考えられる事より、2 回目注射時でのPC反応の分布は、液性抗体産生の場合と同様二峰性を示し、形質細胞腫の発生はPC反応の低い群より生じると考えられる。そこで、正常BALB/c、TAA-FCA 1 回注射、TAA-FCA 2 回注射のBALB/cでPC一次反応の分布を調べ、TAA-FCA 2 回注射の群には、生後7ヶ月目に3 回目の注射をし、後の形質細胞腫の発生をみた。

PC反応の程度は、先にのべた様に正常BALB/cが最も高値で、次いでTAA-FCA 1 回注射、2 回注射の順になる。分布は正常BALB/c、TAA-FCA 1 回注射ではいずれも正規分布を示した。これに対し、2 回注射の群ではPC反応の高値の群と、低値の群の二峰性に分布した。これらのマウスに3 回目のTAA-FCAを注射し、後の形質細胞腫の発生を観察したところ、図24に示す様にPC反応の低値であった群より12例、PC反応の高値であった群より2 例形質細胞腫が発生した。これらの形質細胞腫の発生時期は、PC反応が低値であった群では生後9~10ヶ月の間に、PC反応が高値であった2 例では、生後12ヶ月目であった。つまりP

C反応が低値であった群では形質細胞腫の発生率は高く、しかもその発生時期はPC 反応が高かった群に発生した場合に比べ早期であった。

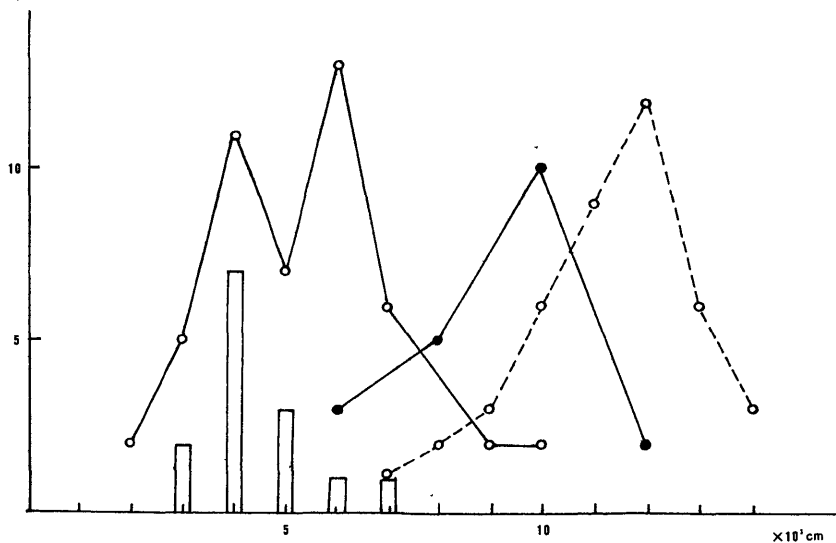
しかしPC反応の低値であった群での発生率も100%ではなく、25匹中12匹で48%であった。

5. 細胞性免疫能と形質細胞腫の発生率

右田はBALB/cマウスの形質細胞腫の発生率は注射の回数と密接な関係があり、生後2ヶ月目に1 回注射した場合には8%，生後2，4ヶ月の計2 回注射では12%，生後2，4，6ヶ月の計3 回注射の場合に発生率は最も高く、28%であったと報告している¹⁷⁾。先にのべた様にPC反応の低下はTAA-FCAの注射の回数に応じて生じる。更に細胞性免疫能の低下が形質細胞腫の発生に関係があるとすれば、生後2ヶ月目に1 回、生後2，4ヶ月目に計2 回注射されただけで、後の注射を受けなかったマウスの細胞性免疫能は形質細胞腫の発生が最も多い、生後10ヶ月目より1~2ヶ月先の生後8~9ヶ月目迄にどの様な値を示すかをPC一次、二次反応で検討した。

図25はPC一次反応の結果で、生後2ヶ月目に1 回注射を受けたBALB/cの生後8ヶ月目の反応は $(7.2 \pm 1.6) \times 10^3 \text{cm}$ で、この値は1 回目注射後1ヶ月目

図24 細胞性免疫能の変化と形質細胞腫の発生



縦軸：マウスの匹数
 横軸：遅延型皮膚反応による耳の厚さの増加を 10^3cm 単位で示した
 ○：TAA-FCAを2回注射されたBALB/cの一次反応
 ●：TAA-FCAを1回注射されたBALB/cの一次反応
 ○：正常BALB/cの一次反応
 白柱：TAA-FCAを3回注射以後に形質細胞腫が発生したマウスの数

のPC一次反応 $(9.02 \pm 2.6) \times 10^{-3} \text{cm}$ より低値であったが、その低下度は加齢によるものと考えられる。この事は生後2, 4ヶ月目の計2回TAA-FCAを注射された生後8ヶ月目のマウスの場合も同様で、5ヶ月目のPC一次反応は $(5.17 \pm 2.15) \times 10^{-3} \text{cm}$ で、8ヶ月目の反応は、 $(4.65 \pm 1.85) \times 10^{-3} \text{cm}$ であった。つまり5ヶ月目と8ヶ月目を比べた場合、8ヶ月目の方が低値であるが、その低下の程度は対照の加齢による低下と同じであった。したがって注射の回数によるBALB/cマウスの形質細胞腫の発生率の違いは、TAA-FCAの注射の回数による細胞性免疫能の低下度と一致する。したがって細胞性免疫能の低下は加齢による低下を除いては、TAA-FCAの注射によって生じるものと考えられる。この事は更にこれらのマウスにPC二次反応を行うことにより明らかになった。

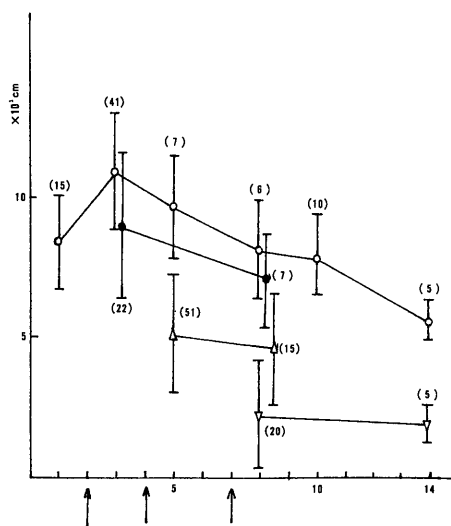
図26はPC一次反応のテスト後2日目に二次感作を行い、二次感作後7日目にPC反応をテストした結果

である。

生後3ヶ月の正常BALB/C、及び生後2ヶ月目に1回TAA-FCAを注射された生後3ヶ月目のBALB/CのPC二次反応は $(19.0 \pm 2.47) \times 10^{-3} \text{cm}$, $(19.26 \pm 3.5) \times 10^{-3} \text{cm}$ でほとんど差はなかった。しかし同様な実験を生後8ヶ月目のマウスで行うと、対照は $(16.5 \pm 2.5) \times 10^{-3} \text{cm}$ で、生後2ヶ月目にTAA-FCAを1匹注射されたのみのマウスでは $15.35 \pm 4.7) \times 10^{-3} \text{cm}$ と、TAA-FCAを1回注射されたマウスでは、PC二次反応の低下がみられた。一方生後2, 4ヶ月目の計2回注射されたマウス及び、生後2, 4, 6の計3回注射されたマウスのPC二次反応は、一回注射のPC二次反応の低下に比べ、対照との差は大きかった。つまり2回目注射後1ヶ月目のPC二次反応は $(9.2 \pm 3.1) \times 10^{-3} \text{cm}$ であり、3回目注射後1ヶ月目の二次反応は $(4.2 \pm 2.1) \times 10^{-3} \text{cm}$ であった。しかし2回目、もしくは3回目の注射後数ヶ月目のPC二次反応

図25 細胞性免疫能と形質細胞腫の発生率。

——塩化ピクリルに対する一次反応——



従 軸：遅延型皮膚反応による耳の厚さの増加を 10^{-3}cm 単位で示した。

横 軸：マウスの年齢。

矢 印：TAA-FCAを注射した時期

○：正常BALB/cマウス

●：TAA-FCA 1回注射BALB/cマウス

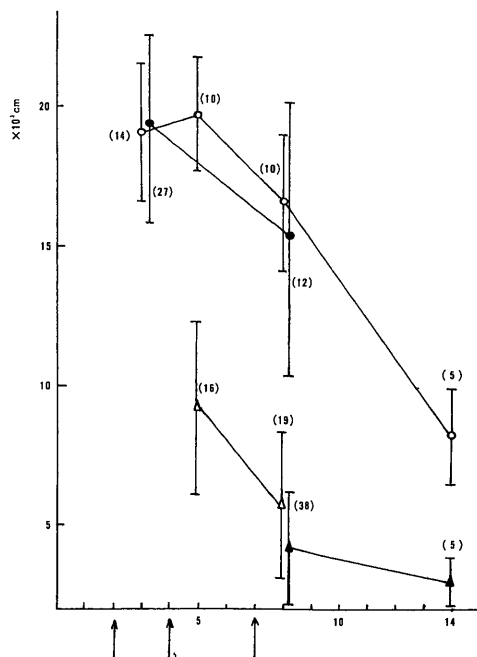
△：TAA-FCA 2回注射BALB/cマウス

▽：TAA-FCA 3回注射BALB/cマウス

() 内は実験に用いたマウスの匹数

図26 細胞性免疫能と形質細胞腫の発生率

——塩化ピクリルに対する二次反応——



従軸、横軸及び矢印に関して図25に同じ

○：正常BALB/cマウス

●：TAA-FCA 1回注射BALB/cマウス

△：TAA-FCA 2回注射BALB/cマウス

▲：TAA-FCA 3回注射BALB/cマウス

() 内は実験に用いたマウスの匹数

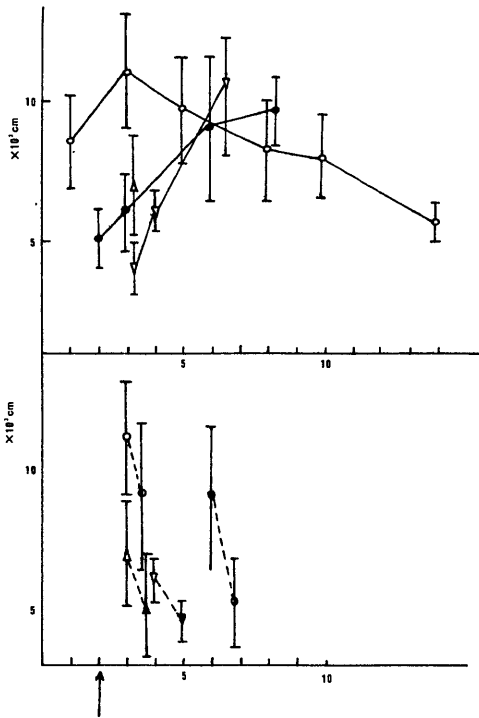


図27-a 遅延型皮膚反応の Maus 系統差

従軸、横軸は図25に同じ

○：正常BALB/cマウス

●：正常AKRマウス

▽：正常C3H/Heマウス

△：正常C57BL/6マウス

BALB/cでの値は図25に同じ、他の系のマウスは各々10匹の平均。

図27-b TAA-FCA注射による遅延型皮膚反応の低下。

従軸、横軸 8 図25に同じ。

矢印はTAA-FCAの注射の時期

○, ●, ▽, △, 図27-aに同じ。

●：TAA-FCAを注射されたBALB/cマウス

●：TAA-FCAを注射されたAKRマウス

▼：TAA-FCAを注射されたC3H/Heマウス

▲：TAA-FCAを注射されたC57BL/6マウス

の低下は、生後8ヶ月目の正常マウスの値が示す様に对照の、加齢による低下の程度と一致した。

6. TAA-FCA注射によるPC反応の Maus 系統差

BALB/cマウスに形質細胞腫を誘発させるアジュバントの注射は細胞性免疫能の低下をもたらす事が明らかになった。しかしここで細胞性免疫能の低下が形質細胞腫の発生の直接原因かどうか問題となってくる。そこでアジュバントを注射されても形質細胞腫が発生しないとされているC3H/Heマウス、C57BL/6、AKRマウスにTAA-FCAを生後2ヶ月目に注射し、1~4ヶ月後にPC一次反応を行い、BALB/c以外の系のマウスでも、TAA-FCA注射により細胞性免疫能の低下が生じるかを検討した。

図27-aは正常マウスの加齢によるPC一次反応の変化を示したもので、BALB/c、C3H/He、AKRマウス共に、反応のピークは $(9.5 \times 10^3 \sim 11.0) \times 10^3 \text{ cm}$ で余り差はない。しかし、ピークに至る時期はマウスの系で差があり、BALB/cが最も早く、生後3ヶ月目位で、C3H/He、AKRでは生後5~7ヶ月目位であった。5~7ヶ月目ではBALB/cはすでに反応のピークはすぎ低下が始まっている。この様にBALB/cは他系マウスに比べ細胞性免疫能の成熟が早く、低下も早く始

る事は、形質細胞腫を誘発しうるNZBマウスでも報告されている²⁰⁾²¹⁾。しかしこれが形質細胞腫の発生とどのような関係があるのか未だ不明である。

図27-bは各系のマウスにTAA-FCAを注射しPCA一次反応をみたものである。

生後3ヶ月目の正常C57BL/6では $(6.85 \pm 1.95) \times 10^3 \text{ cm}$ であるが、1ヶ月前にTAA-FCAを注射されたC57BL/6マウスでは $(5.0 \pm 1.9) \times 10^3 \text{ cm}$ と減少を示した。C3H/Heマウスでも正常が $(6.6 \pm 0.8) \times 10^3 \text{ cm}$ であるが、TAA-FCA注射された場合には、 $(4.5 \pm 0.7) \times 10^3 \text{ cm}$ であり、正常AKRでは $(9.0 \pm 2.5) \times 10^3 \text{ cm}$ であるが、 $(5.3 \pm 1.5) \times 10^3 \text{ cm}$ であった。

つまりBALB/cマウス以外の系でも、正常マウスに比べ、TAA-FCAを注射された場合にはPC反応が低下していた。

これらの事実は、BALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程において、細胞性免疫能の低下は、形質細胞腫発生の直接的原因ではない事を示す。

考 察

発癌過程における免疫の役割を問題にする場合、免疫能の低下により腫瘍が発生するのか、あるいは発癌

が原因で免疫能が低下するのか、その判別は非常に困難な点が多い。

ここでは免疫機構自身の腫瘍である形質細胞腫をえらび、1. 発癌後の細胞性免疫能、液性免疫能の推移を移植可能な形質細胞腫で検討し、発癌の時時を免疫能の変化でとらえるか、2. 形質細胞腫の発生過程で、液性抗体産生能はどの様な推移をたどるのか、3. 形質細胞腫は実験に用いたすべてのマウスに生じる事は決してなく、約70%のマウスは形質細胞腫にはならない、この様なマウスは形質細胞腫が発生するマウスとどの様な点で異なるのか、又形質細胞腫にならなかったマウスは正常老令マウスと違いはあるのか、4. 形質細胞腫の発生過程では腫瘍の発生を監視すると考えられている細胞性免疫能はどの様な推移をとるのか、を検討し、形質細胞腫の発生過程における免疫の役割を明らかにし、それが一般論になるのかどうかを検討した。

1. 形質細胞腫X5563を移植されたマウスは抗原としてBGGを用いた場合、一次、二次反応共、対照の正常C3H/Heマウスの反応に比べ低下する。又腫瘍を移植する以前に免疫しても、移植後の免疫能は低下するので腫瘍の移植は免疫担当細胞になんらかの障害を与えるものと考えられる。免疫能低下の程度は腫瘍を移植してからの日数につれて大きくなる事が、形質細胞腫の合成するM成分の増加曲線より明らかになった。腫瘍を移植されたマウスの抗体産生能の低下は、形質細胞腫以外の肝腫瘍MH134の場合にも同様に生じるので形質細胞腫の合成するM成分と正常免疫担当細胞の合成する免疫グロブリンの間に競合関係があつて生じるのではないと考えられる。

腫瘍を移植された事により生じる免疫能の低下は細胞性免疫能の場合も液性抗体産生能の場合と同様であった。

しかしながら形質細胞腫を移植されたマウスでは、抗原としてヒジ赤血球を用い、抗体産生能を溶血斑形成細胞で検討した場合、一次反応は抑制されるが、二次反応は抑制されない²²⁾と報告されている。結果と二次反応に関しては相反するが、用いた抗原、測定方法などが異なり溶血斑形成細胞による分析が果して個体の免疫能の強さ、例えば正常形質細胞の合成する免疫グロブリン量、に腫瘍の影響が関与しないかなどの問題はなお検討されねばならない点と考えられる。

担癌マウスにおける細胞性免疫能に関する報告は余りないが、担癌マウスの脾細胞はPHAに対する反応性が低下するとの報告²³⁾があり、結果と一致するものである。

以上より言える事は、担癌マウスにおける免疫能の低下より考え、発癌過程では腫瘍が発生すれば、免疫能の低下が生じ増殖の進行にともないその低下は大きくなると言える。

2. BALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程での液性、細胞性免疫能を検討した報告は、ほとんどないが、M. L. Kripkeら²⁴⁾はBayol Fを注射されたBALB/cではT₂ phageに対する抗体価は生食を注射されたBALB/cのそれに比べて低く、形質細胞腫にならないC57BL/6では生食を注射された場合とBayolを注射された場合では抗体価に差がなかったと報告している。更にGVH反応での細胞性免疫能の検討ではBALB/cでもC57BL/6でもBayolの注射により反応性の低下が生じるとしている。著者らの実験は、形質細胞腫の誘導に用いたのがFCAであり、アジュバント自体が血清抗体産生を促進させる作用をもつものである。Kripke等の観察はいずれも一次反応であり、各個体間の抗体価の差の余り明らかでない時期である。しかしながら著者らの結果も、2回目注射時で液性抗体価は亢進するが、形質細胞腫が生じると考えられる3回目注射後、4ヶ月後は抗体価の減少が観察される時期である。

ここで報告した液性抗体産生の亢進したマウスに後に形質細胞腫が発生する事は、全く抗原感作を受けないBALB/c、無菌飼育のBALB/cでは形質細胞腫の発生が少ない事¹⁸⁾よりも考えられる。又液性免疫能の低下が必ずしも形質細胞腫の発生に結びつかない事は、形質細胞腫の発生は生後12ヶ月以内におこり、それ以後ではまれである事よりわかる。しかし用いた抗原に対する抗体活性を有した形質細胞腫の存在がこれ迄に報告されていないし、又結果でもみられなかった事実は、用いた抗原に対する抗体産生細胞が直接腫瘍に変換するのではなく、その間にギャップがあると考えられる。2回目注射時で血清抗体産生能が亢進したマウスに後に形質細胞腫が生じたのはなぜか、1つの考えはAnamnestic Reactionであるが、この考えはある抗原に対する抗体産生クローンが活発に分裂している時、他の抗原に対するクローンの分裂も活発になるとの考えで、これに立てば用いた抗原に対する抗体産生クローンとは別のクローンが腫瘍化する事になる。この事は形質細胞腫の発生は常に副次的となる事が説明出来ない。

もう一つはimmunologic exhaustionであるが、これは抗体産生系の消費が形質細胞腫の発生につながるのと考え、これは免疫能の低下した老令マウスに形質細胞腫が発生する事になる。しかし現実には形質

細胞腫の発生は生後12ヶ月以降では少なくなるので妥当な説明とは考えられない。そこでここでは液性抗体産生と細胞性免疫能は競合すると考えた。

3. この考えに立てば2回目注射時で血清抗体産生の分布が2峰性になり、後の形質細胞腫の発生は抗体産生能の高値であったマウスに生じ、発生率は53.3%であった事を説明する。つまり血清抗体産生能の亢進は細胞性免疫能の低下を生じさせる事になる。事実、2回目注射時ではTAAに対する血清抗体産生能と塩化ピクリルを用いた遅延型皮膚反応による細胞性免疫能の間には相関係数が -0.615 の負の相関関係があり、さらにこの時の細胞性免疫能の分布は2峰性を示し、後の形質細胞腫の発生は細胞性免疫能が低値であった群に48%の発生率で生じ、血清抗体の測定による結果とはほぼ一致した。この様にBALB/cマウスの形質細胞腫は血清抗体産生の亢進により細胞性免疫能の低下したマウスに生じるが、しかし発生率は53.3%が最も高値で100%とはならない。又、BALB/c以外のアジュバントを注射しても形質細胞腫にはならない系のマウスでも細胞性免疫能の低下はアジュバント注射によって生じるので、免疫能の低下が形質細胞腫の発生の直接原因ではなく、細胞性免疫能の低下の外に他の要因、例えばウイルスの役割、年令の役割等、が加わって形質細胞腫が発生するものと考えられる。

4. 以上の観点より、それでは形質細胞腫が発生しなかった残り70%のマウス(RM)は同令の正常マウスに比べどの様な点で異なっているのか、この事は痛になる、ならないの個体差を研究する面で大切な問題と考えられる。RMは塩化ピクリルを用いた遅延型皮膚反応、PHAによる脾細胞の幼若化能、細胞傷害性テストの方法による検討では細胞性免疫能の低下をきたしており、この事に基づいて、従来移植が困難とされていたBALB/cマウス原発の腹水中のミエローム細胞を移植したところ、90%の高率で生着が認められた。又H-2が異なる他系マウス由来の腫瘍細胞でも、H-2の障害をのり越えて、RMで増殖を示し、RMを腫瘍死させた。この事はRMは形質細胞腫の発生には至らなかったが、腫瘍の増殖にとって非常に好条件となっている事を示し、又腫瘍の発生は単なる免疫能の低下ばかりでなく、先にのべたその他の条件が必要である事を示している。つまり形質細胞腫の場合にはRMは液性抗体産生細胞の消費により、腫瘍となる幹細胞が消費されているのではないかと考えられる。

以上の結果は、すぐすべての腫瘍の発生を説明するものとはならないが、これらの事実はマウスでの他の腫瘍の発生と免疫の役割、さらにはヒトの腫瘍の発生

における免疫の役割の解明に向う線に沿ったものと考ええる。

結 論

BALB/cマウスの形質細胞腫の発生過程で、液性抗体産生能と細胞性免疫能の推移、及びその両者の関係を検討した。

1. 形質細胞腫 X5563を移植されたC3H/Heマウスについて、液性抗体産生能をウシ血清 γ -グロブリンに対する免疫排除能で検討し、細胞性免疫能を塩化ピクリルに対する遅延型反応で検討した。液性抗体産生能、細胞性免疫能共に、一次反応、二次反応にかかわらず、又抗原接種が腫瘍の移植前であっても、移植後であっても、腫瘍の増殖につれて低下を示した。この事は肝癌MH134を移植した場合も、全く同様であったので腫瘍が発生すれば、免疫能は低下すると言える。

2. BALB/cマウスのアジュバントによる形質細胞腫の発生過程で、抗原としてタカアミラーゼA、又はウシ血清 γ -グロブリンを用いて液性免疫能を免疫排除能で検討した。

一次反応は個体差が余りなく、全体として正規分布を示し、後の形質細胞腫の発生も各群で差はなかった。二次反応以後では、個体差は大きくなり分布は2峰性を示し、後の形質細胞腫の発生は1%の危険率で、2次反応が高値である群より生じた。しかし生じた形質細胞腫の合成するM成分には、用いた抗原に対する抗体活性を有する例はなく、抗体産生細胞が直接腫瘍に変換するのではないと思われた。形質細胞腫の発生率は生後2ヶ月目迄に216匹中56匹に生じ、約27%であった。

3. 形質細胞腫の発生が免疫グロブリンの量の変化によって予知出来ないか検討した。免疫グロブリンのクラスの内、代表としてIgG_{2a}を定量した。IgG_{2a}形質細胞腫になったマウスは腫瘍の発生と共に増加を示し、免疫グロブリンの他のクラスの形質細胞腫になったマウスでは減少を示した。形質細胞腫にならなかったマウスは一般に年令と共に増加を示した。二回目注射後1ヶ月目の血清中のIgG_{2a}は3 mg/ml \sim 8 mg/mlの間に正規分布を示した。しかし後の形質細胞腫の発生に関して差はなかった。

4. 生後12 \sim 14ヶ月目迄に形質細胞腫にならなかったマウスは、著しい細胞性免疫能の低下を示し、従来移植が困難であったBALB/c原発の腹水型形質細胞腫の移植が可能であった。又、C3H/Heマウス由来の形質細胞腫 X 5563を始めとして、H-2抗原の異なるマウ

ス系由来のすべての腫瘍細胞の生着が可能であった。

5. 形質細胞腫の発生過程で、塩化ピクリルに対する遅延型皮膚反応や、PHAによる脾臓リンパ球の幼若化能で細胞性免疫能を検討した。細胞性免疫能は、注射の回数により低下を示した。正常BALB/c、一回注射マウスでの遅延型反応の分布は正規分布を示すが、2回目注射後1ヶ月目の反応は、2峰性を示し、後の形質細胞腫の発生は、遅延型反応が低値であった群に生じた。この時点で遅延型反応と、TAAに対する液性抗体産生能の間の相関関係を検討したところ、 $r = -0.615$ の負の相関関係があり、両者は競合関係にあると考えられた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜り、御校閲を辱うした恩師右田俊介教授に対し衷心より感謝の念を捧げると共に、終始実験を共にし、御鞭撻、御協力下さった教職員各位に深く感謝する。

文 献

- 1) 右田俊介：日臨，30，472 (1972).
- 2) Potter, M. : Methods in cancer reserch II, Ed. Busch, H., p.105, New york, London, Academic Press, 1967.
- 3) 赤堀四郎：J. Biochem., 41, 577 (1954).
- 4) 伝染病研究所学会：細菌学実習提要，全訂版，199頁，東京，丸善，1954.
- 5) Stark, M. : Immunology, 19, 449 (1970).
- 6) Stark, M. : Immunology, 19, 457 (1970).
- 7) Tong, J. L. & Boose, D. : J. Immunol., 105, 426 (1970).
- 8) 夏梅俊之助：免疫実験操作法，1，日本免疫学会編，(1971).
- 9) 尾上 薫：免疫実験操作法，1，日本免疫学会編，(1971).
- 10) Asherson, G. L. & Ptak, W. : Immunology, 17, 769 (1969).
- 11) 夏梅俊之助・右田俊介：免疫実験操作法，II，日本免疫学会編，(1972).
- 12) Ling, N. R. : Lymphocyte stimulation., - Ed., Ling, N. R., p.1, Amsterdam, North-Holland Publishing Company, 1968.
- 13) Adler, W. H. Takiguchi., Marsh, B. & Smith, R. T. : J. EXP. Med., 131, 1170 (1971).
- 15) Berke, G., Sullivan, K. A. & Amos, B. : J. Exp. Med., 135, 1334 (1972).
- 14) Rosenstreich, D. L., Blake, J. T. & Rosenthal, A. S. : J. Exp. Med., 131, 1170 (1971).
- 16) Bloom, B. R. & Glade, P. R. : In vitro methods in cell mediated immunity. 361, Eds., Bloom, B. R. & Glade, P. R., New york, London, Academic Press, 1971.
- 17) Migitt, S. : Jap. J. Med., 10, 105 (1971).
- 18) McIntire, K. R. & Princler, G. L. : Immunology, 17, 481 (1969).
- 19) Parish, C. R. : J. Exp. Med., 134, 1 (1971).
- 20) Denman, A. M. & Denman, E. J. : Clin. Exp. Immunol., 6, 457 (1970).
- 21) Zatz, M. M., Meiiors, R. C. & Lance, E. M. : Clin. Exp. Immunol., 8, 491 (1971).
- 22) Zolla, S. : J. Immunol., 108, 1039 (1972).
- 23) Adler, W. H. : Immune surveillance. Eds., Smith, R. T. and Landy, M., New york, London, 1970.
- 24) Kripke, M. L. & Weiss, D. W. : Int. J. Cancer, 6, 442 (1970).

Abstract

Immunologic capability of BALB/c mice was examined during the developmental process of plasmacytoma induced by intraperitoneal injections of Freund's complete adjuvant and Taka-amylase A (TAA) or bovine gamma globulin (BGG) as antigen. Immunoelimination of radiolabelled TAA or BGG, respectively and delayed skin hypersensitivity of picryl chloride were employed for the test of humoral or cellular immunity, respectively. of the mice that had freunds adjuvant and antigen injected once, capability of humoral immunity was normal distribution. However, two peaks of distribution was confirmed after the second injection of the same antigen. Plasmacytoma was developed later in the mice belonging to the group of higher activity of immunoelimination. Antibody activity against the injected antigen was never found of total 56 M-components

of plasmacytoma obtained in this experiment. This suggested that plasmacytoma did not originate from the plasma cell that increased in response to antibody formation.

Capability of cellular immunity was also normal distribution at the time of primary response to TAA or BGG and there were two peaks of distribution in the secondary response. Plasmacytoma was developed later in the mice of the lower group of delayed skin hypersensitivity. This suggested the reverse relationship between the humoral and cellular immune responses of these mice. Another group of mice were subjected for the two tests, immunoelectrophoresis and delayed skin hypersensitivity, subsequently at the time of the secondary response. Correlation coefficient of them was -0.615 which was significant statistically.

Extreme low activity of cellular immunity was found in the mice that were not affected with plasmacytoma when they were one year old. Blast transformation of spleen lymphocyte by phytohemagglutinin, cytotoxicity assay and mixed lymphocyte culture also confirmed low activity of cellular immunity of the above-mentioned mice. These mice accepted every tumor cell transplantation including allogenic tumors and primary plasmacytomas of BALB/c. Inhibition of cellular immunity was also observed in other strains of mouse than BALB/c after the intraperitoneal injection of Freund's complete adjuvant and TAA. However, plasmacytoma did not develop in these mice except BALB/c suggesting that suppression of cellular immunity was one of the causes that induce plasmacytoma in BALB/c mice.
