インターフェロンの抗腫瘍効果 9

ヌードマウス可移植性ヒト悪性黒色腫に
対するヒトインターフェロンの抗腫瘍効果

橋爪 鈴男*

Summary

悪性黒色腫に対するインターフェロン (IFN) の抗腫瘍効果を検討するため、ヌードマウス可移植性ヒト悪性黒色腫 (SK-14) に、ヒトインターフェロンおよび DTIC を投与する実験を行った。その結果、IFN 単独投与では、腫瘍内投与による効果が大で、また、 β 型 IFN のほうが、 α 型よりもその効果が大であった。 α 型 IFN では、天然型と遺伝子組み換え型の効果は、ほぼ同等であった。DTIC と β 型 IFN の併用投与では、各単独投与に比較し、効果の増強が認められた。すなわち、IFN は悪性黒色腫の治療に有効であり、DTIC との併用において、その効果の増強が示された。

緒 言

悪性黒色腫は予後不良の悪性腫瘍であるが、インターフェロン (以降 IFN) が比較的この治療に有効であると報告されている¹⁾。この抗腫瘍作用を検討するため、ヌードマウスを用い、IFN 単独投与および DTIC との併用投与を行ったので、その結果を報告する。

材料ならびに方法

1) マウス

ヌードマウス (BALB/c-nu/nu, 生後 6~7 週齢, 日本クレア株式会社) を用い、ビニールアイソレーター内において、SPF の状態で飼育した。

2) ヒト悪性黒色腫 (SK-14)

国立がんセンター研究所病理部にて樹立され、メラニン産生量は軽度で、IFN に対して感受性の高いことが認められている²⁾。

3) 投与薬剤

① IFN 製剤

β 型 IFN はヒト 2 倍体線維芽細胞由来 (東レ社製) で、 α 型は、天然型としてヒトリンパ芽球由来 2 種 (HLBI: 住友・ウエルカム社製, ミドリ十字社製) および遺伝子組み換え型 (武田・ロシュ社製) を用いた。

② DTIC (協和発酵株式会社提供)

4) 投与方法

腫瘍をヌードマウス皮下に移植した後、経時的に長径 (a), 短径 (b) を測定し、推定重量 ($a \times b^2 / 2$) が 100~300 mg に達した時点で、IFN (15日間投与) および DTIC (5回投与) を各実験で設定した投与ルート、スケジュールに従って投与した (図 1)。効果判定は、腫瘍

* Suzuo HASHIZUME: 聖マリアンナ医科大学
皮膚科学教室

図 1. IFN および DTIC 投与スケジュール

増殖曲線および実験終了後に摘出した腫瘍の組織検索にて行った。

結 果

1) IFN 単独腫瘍内投与

各 IFN 6×10^5 IU, 1×10^5 IU および対照液として生理食塩水を腫瘍内に 15 日間連日投与した。その結果, β 型 IFN においてその効果が最大であり, α 型では天然型, 遺伝子組み換え型の効果は, ほぼ同等であった。また, 各 IFN において, 6×10^5 IU 投与のほうが, 1×10^5 IU 投与に比較し, その効果が大きであった (図 2)。組織学的検索では, β 型 6×10^5 IU 投与において, 腫瘍細胞の変性・消失およびマクロファージの著明な浸潤を認めた。一方, α 型投与では, その組織学的変化は β 型に比較して軽度であった。

2) IFN における投与ルートを検討

β 型 IFN 6×10^5 IU, 1×10^5 IU を腫瘍内 (i.t.), 腫瘍周囲 (p.t.), 腹腔内 (i.p.) に投与

し, その効果を検討した。その結果, 腫瘍内, 腫瘍周囲, 腹腔内投与の順に強く, 腹腔内投与では, 6×10^5 IU 投与においても, その効果は弱く, 対照群との有意差は認められなかった (図 3)。組織学的検索では, 腫瘍内投与時の著明な変化に比較し, 腹腔内投与による腫瘍細胞の変性はなく, また腫瘍周囲投与では, 腫瘍塊辺縁部に腫瘍細胞の変性像が認められた。

3) IFN・DTIC 併用投与

β 型 IFN $\cdot 6 \times 10^5$ IU を腫瘍内あるいは腹腔内に投与し, DTIC $\cdot 50$ mg/kg を 5 日連日腹腔内あるいは 4 日ごと 5 回腹腔内に投与した (図 1)。

① IFN 腫瘍内および DTIC 腹腔内併用投与

IFN 単独腫瘍内投与で著明な増殖抑制が認められ, DTIC 単独投与では中等度の抑制であった。一方, 併用投与にて, その効果は単独投与とほぼ同等であった (図 4)。組織学的検索で, DTIC 単独投与では, 腫瘍細胞の胞体の空胞化, 核の膨化などの著明な変性所見があり, 間質およびマクロファージの浸潤が軽度認められた (図 5)。IFN 単独投与では, 腫瘍細胞の消失が著明で, 一部分に腫瘍細胞は島状に残存した。その周囲は間質および多数のマクロファージで占められていた。残存した腫瘍細胞には分裂像が依然として散見された (図 6)。しかし, 併用投与では, 腫瘍細胞の消失および多数のマクロファージの浸潤の他に, 残存した腫瘍細胞の著明な変性所見も認められた (図 7)。

② IFN 腹腔内および DTIC 腹腔内併用投与

DTIC の中等度増殖抑制に比較し, IFN 単独腹腔内投与では, 抑制効果が小で, 対照群との有意差を認めなかった。一方, 両者併用では, DTIC 5 日連続投与と 4 日ごと 5 回投与ではともに強い増殖抑制を認め, その効果はほぼ同等であった (図 4)。組織学的検索において, IFN 単独腹腔内投与では, 変性所見は少なく, 対照群との差を認めなかった (図 8)。DTIC 腹腔内投与では著明な変性像および軽

図 2.

IFN 腫瘍内投与による効果。

β型 IFN による効果がもっとも大で、α型では天然型および遺伝子組み換え型の効果はほぼ同等である。

度のマクロファージ浸潤を認めた。一方、両者併用では、腫瘍細胞の部分的消失が生じ、間質およびマクロファージの浸潤が大であった。また、残存した腫瘍細胞も変性が強く、分裂像も認められなかった(図9)。すなわち両者の腹腔内併用投与では、腫瘍増殖曲線および組織学的に、その効果は単独投与に比較し大であることが示された。

考 察

悪性黒色腫に対する化学療法には、多種類の薬剤が使用されているが、依然としてその効果は低く、DTIC 投与においても、有効率は30

%前後と報告されている。一方、IFN の抗腫瘍効果も期待されたほど高くないことが判明した。しかし、悪性黒色腫¹⁾など2～3の腫瘍には、比較的有効であるといわれ、この有効性を検討するため、今回ヌードマウスを用いて実験を行った。

本実験のようにヌードマウス可移植性ヒト腫瘍を用いた IFN の投与実験は、IFN の種特異性のため、腫瘍に対する直接効果を検討したものと考えられる。したがって本実験において、IFN 投与により著明に認められたマクロファージの浸潤は、腫瘍細胞の変性後に二次的に生じたものと推察される。

本実験では、β型がα型より有効であった

図 3. β 型 IFN の投与ルートの検討。腫瘍内投与 (i.t.) でもっとも効果が
大で、腹腔内投与 (i.p.) では、その効果は認められない。p.t.: 腫瘍
周囲投与。

図 4. IFN・DTIC 併用投与。IFN・DTIC 併用により、その効果は増強されたが、IFN 腫瘍内投与と
の併用では、IFN の効果が大きく、併用効果は増殖曲線上は認められない。

が、逆に α 型有意の報告もあり、Yamada ら³⁾はとくに一定の傾向はないと報告している。 α 型および β 型は同一のレセプターを介して細胞に作用するといわれ、両者の効果の相違が腫瘍自体の性質によるものか、薬理動態的相違によるものかは不明である。 α 型 IFN は、遺伝子が十数種以上存在するため、天然型と遺伝子組み換え型では、その効果の異なる場合があると

いわれる。しかし、本実験では、天然型および遺伝子組み換え型の効果はほぼ同等であり、大量生産が可能という点から考え、後者に対する期待も大きいといえる。

腫瘍内投与は腹腔内投与に比較し、その効果が大であったが、 α 型 IFN の腫瘍内濃度測定によれば、腫瘍内投与の場合、著明にその濃度が高いことが示されている⁴⁾。また β 型 IFN

図 5.

DTIC 腹腔内単独投与。
腫瘍細胞の著明な変性およびマク
ロファージ、間質の軽度増加が認
められる。

図 6.

β 型 IFN 腫瘍内単独投与。
腫瘍細胞の消失が著明で、一部分
に島状に腫瘍細胞が残存している
(↑)。マクロファージの浸潤が著
明である。

図 7.

β 型 IFN 腫瘍内投与と DTIC の
併用投与。
一部分に腫瘍細胞が残存している
が(↑), 腫瘍細胞の変性も著明
である。

による実験では、腫瘍内投与により腫瘍内濃度は、高濃度かつ長時間維持されたといわれる⁵⁾。本実験の腫瘍周囲投与において、腫瘍塊辺縁の変性が強く認められたのは、腫瘍塊の中心に比較して辺縁の腫瘍細胞が高濃度の IFN と接触可能であったためと思われる。したがって、直接作用に関する限り、その効果を出現させるためには、十分量の IFN を投与する必要があると考えられる。

併用投与において、IFN・DTIC 腹腔内併用投与は、各単独腹腔内投与に比較し、その効果は大であったが、IFN 腫瘍内投与と DTIC 併用のほうが、両者腹腔内併用投与に比較して、効果は強く、IFN 単独投与と同様、IFN 濃度が重要な要素となることが示された。DTIC の連日あるいは4日ごと投与と IFN の併用では、その効果はほぼ同等であり、DTIC 投与のスケジュールは、併用効果に無関係であると考

図 8.
 β 型 IFN 腹腔内単独投与。
腫瘍細胞の変性は少なく、分裂像
も散見される。

図 9.
 β 型 IFN 腹腔内投与と DTIC 併
用投与。
腫瘍細胞の消失が著明で、残存し
た腫瘍細胞の変性も著明

えられた。

今回、IFN 単独投与および DTIC との併用投与において、有意な効果が認められ、臨床における IFN 投与の一助になると思われた。しかし、DTIC および IFN はともにその作用機序に不明な点が多く、両者併用による効果増強の機序についても今後の検討が必要であると思われる。

文 献

- 1) 石原和之: Human Fibroblast Interferon (Hu-IFN- β) による皮膚悪性腫瘍に対する臨床的研究一局所投与を中心とした検討一, 日癌治療会誌, 18: 41-53, 1983.
- 2) Hashizume, S., Nagao, S., Tanaka, N., Sekiguchi, F., Kohno, M., Ogawa, H.,

Yoshino, Y., Seki, K. & Ishihara, K.: Effects of human fibroblast interferon on human tumors transplanted into nude mice: sensitivity of malignant melanoma, Japan. J. Exp. Med., 53: 77-85, 1983.

- 3) Yamada, H. & Shimoyama, M.: Growth inhibitory activity of human lymphoblastoid and fibroblast interferons *in vitro*, Gann, 74: 299-307, 1983.
- 4) 橋爪鈴男: スードマウス可移植性ヒト悪性黒色腫に対する組換え型ヒト白血球インターフェロン (r IFN- α A; Ro 22-8181) の効果, 癌と化療, 12: 284-288, 1985.
- 5) Ida, N., Uenishi, N., Kajita, A. & Satoh, Y.: Antitumor effect of human fibroblast interferon on the growth of human melanoma cells implanted in nude mice, Gann, 73: 952-960, 1982.