

# 琉球大学学術リポジトリ

イヌ伝染性肝炎ウイルスで免疫したハムスターの同  
ウイルス誘発腫瘍移植に対する抵抗性(畜産学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 金城, 俊夫, Kinjo, Toshio メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/4474">http://hdl.handle.net/20.500.12000/4474</a>

# イヌ伝染性肝炎ウイルスで免疫したハムスター の同ウイルス誘発腫瘍移植に対する抵抗性\*

金城 俊 夫\*\*

---

Toshio KINJO : Resistance of infectious canine hepatitis  
virus-immunized hamsters against transplantation of  
established ICH virus-induced tumors

---

## I 緒 言

移植免疫の成立にあずかる抗原を移植抗原といっているが、ウイルスで誘発される腫瘍の移植によっても同様抗原の存在が確認され、しかも腫瘍に特異的であることから tumor specific transplantation antigen (TSTA)と呼ばれている。

このようなウイルス性腫瘍細胞あるいはウイルスによって in vitro でトランスホーム (癌化) した細胞にみられる移植抗原は、化学発癌剤によって作られた腫瘍細胞のそれと異なり、それぞれの起因ウイルスに特異的で、同系間の異なる細胞のみならず、同種動物間に作られた腫瘍細胞にも共通する抗原性を示す。ウイルスによっては種をのり越えて交差性を示す場合も知られている (9, 11)。

DNA ウイルス誘発腫瘍において移植抗原がはじめて明らかにされたのは、ポリオーマウイルスの場合で、Sjögren ら、Habel, Sachs らにより1961年のほぼ同時期に別個に発表された。

すなわち、ポリオーマウイルスを成熟ハムスターあるいはマウスに接種した場合、ポリオーマの発生をみないが、その後それぞれの動物に可移植性の同ウイルス誘発腫瘍細胞を移植すると、それに対して抵抗性が示されるという事実であった。この場合、化学発癌剤でつくられた同系の肉腫細胞には抵抗性を示さないということで、ポリオーマウイルスに特異的である。

さらに SV40 腫瘍においも1963年同様抗原の存在が Habel and Eddy, Koch and Sabin, Defendi らによって明らかにされ、その上 SV40 とポリオーマウイルスとの間で物理化学的性状が類似しているに拘わらず、移植抗原には交差がなく、ウイルス特異性であることが強調された。

次いで1966年以降、アデノウイルス腫瘍においても、同様の移植抗原の存在が確認されてきており、移植抗原がウイルス遺伝子の支配を受けていることが示唆されている (1, 8, 22, 25)。

このような移植抗原の対象となる免疫がいわゆる液性抗体によるものでなく、細胞性抗体によるものであるとの考え方が支配的である。しかし Tevethia ら (1965) は SV40 ウイルスでトランスホームした細胞の表面に、蛍光抗体法等血清学的に検出可能な表面抗原 (Surface antigen) の存在を報告し、次いで Hollinshead and Alford (1969), 佐藤ら (1969), 浜田ら (1970) もアデノ腫瘍で同様の表面抗原の存在を追試確認しているが、この液性抗体で検出される抗原が移植抗原と類似のもので

---

\* 本研究の要旨は第72回日本獣医学会 (昭和46年10月) において報告した。

\*\* 琉球大学農学部畜産学科

琉球大学農学部学術報告 19 : 445~455 (1972)

あるらしいことが示唆されている。

著者はアデノウイルスに属するイヌ伝染性肝炎 (ICH) ウイルスを用い、はじめてハムスターへの腫瘍形成化、同腫瘍細胞の *in vitro* での株化および同ウイルスによるハムスター細胞のトランスホメーションに成功したが (12~15)、同ウイルス腫瘍において、上記のような移植抗原が存在するか否かについては、まだ確認されていない。

この面を解明していくことにより、究極的には現在全く不明であるヒトアデノウイルスのヒト癌に果たす役割を究明し、あるいは癌の免疫学的診断法を確立するの一つの手がかりも得られると考えられたので、そのモデルとして、今回著者のシステムを用い、抗移植性免疫について、動物実験の面から検討してみた。

その結果、ICH ウイルス腫瘍においても、抗移植免疫の存在を示唆する成績が得られたので、その概要を報告する。

## II 実験材料および方法

### 1. ICH ウイルス誘発ハムスター腫瘍

移植免疫実験に使用した ICH ウイルス誘発ハムスター腫瘍細胞は著者が ICH ウイルスを新生仔ハムスターに接種して得た腫瘍から *in vitro* で株化に成功し、HT-7 と命名した細胞株である (15)。本実験には HT-7 細胞の147代、3年以上継代維持されているものを使用した。

### 2. ハムスター

APG (albino pander golden) ハムスターを供試した。このハムスターは日本生物科学研究所において純系として維持、繁殖させているものを、同研究所の御好意により分与していただき、それをもとに著者が自家繁殖させたもので、雌雄の別なく使用した。

### 3. ハムスターの免疫法

ICH ウイルス Woc-4 株を免疫原とした。ウイルスを約 $10^7$ あるいは $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml に調整し、3週令ハムスターの腹腔内あるいは皮下に接種した。接種は3日おきに計3回同一接種ルートで行なった。

なお、一部の実験では免疫原としてウイルスの代わりに ICH ウイルス感染ハムスター細胞をも用いた。接種に用いた細胞の調整法については、実験成績の項で記載する。感染細胞のハムスターへの接種の方法は前述のウイルスの場合と同様である。なお対照として、正常ハムスター細胞を同様な方法で接種した。

### 4. 移植実験

免疫原の初回接種後3週目のハムスターの皮下に腫瘍細胞を移植し、移植免疫の成否を検討した。

移植に用いた腫瘍細胞は HT-7 細胞で、継代培養後3~4日目にトリプシン消化により集め、PBS で3回洗浄後、所定の濃度に浮遊して使用した。

なお、免疫ハムスターの一部は、移植時に採血殺し、その血清を中和抗体産生の有無を調べるのに用いた。

## III 実験成績

### 1 HT-7 細胞のハムスターに対する腫瘍原性

移植に供した HT-7 細胞のハムスターに対する腫瘍原性を知るために、継代157代および162代の細胞の各種濃度を用い、生後6週令ハムスターの皮下に接種した。6週令ハムスターを用いたのは後述

の免疫ハムスターに対する腫瘍細胞移植の時期が6週目に当るからである。

HT-7 細胞を $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$  および $10^1$  / 0.5ml なる如く PBS に浮遊し、それぞれ3~5匹のハムスターの皮下に接種した。接種後毎日観察し、腫瘍発現までの日数を記録して、50%腫瘍発生に要する細胞数 (TPD<sub>50</sub>) および発現までに要する平均日数を求めた。

その結果は表1の如くである。

**Table 1. Tumorigenicity of the HT-7 cells in hamsters\*1**

**表 1. HT-7 細胞のハムスターに対する腫瘍原性**

Number of passages	Number of the HT-7 cells inoculated				TPD <sub>50</sub> *2
	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	
157	0/5*3	4/5 (30.3)*4	5/5 (27.4)	3/3 (22.0)	$10^{1.70}$
162	0/4	3/4 (32.7)	4/4 (29.5)	3/3 (20.2)	$10^{1.75}$
Total	0/3	7/3 (31.6)	9/9 (28.3)	6/6 (21.0)	$10^{1.73}$

Notes \*1 The cells were injected subcutaneously into 6-week-old hamsters.

\*2 TPD<sub>50</sub> means 50% tumor producing dose.

\*3 Number of tumored hamsters / number of injected hamsters

\*4 Number in parentheses refers to average latent period in days of tumor appearance.

$10^2$  個のレベルでは9例中7例 (77.7%) に腫瘍の発現がみられたが、 $10^3$  個レベル以上の接種では100%発現しており、腫瘍発現までの所要日数も接種細胞数の増加に比例して短縮されている。TPD<sub>50</sub> すなわち接種されたハムスターの半数に腫瘍を生じせしめるに必要な細胞数は平均約 $10^{1.73}$  = 54 個程度であった。

## 2 ICH ウイルスを腹腔内に接種して免疫したハムスターの HT-7 細胞移植に対する抵抗力

ICH ウイルス $10^7$  および $10^5$  TCID<sub>50</sub> を3日おき3回腹腔内接種して免疫しておいたハムスターに、初回接種後3週目に HT-7 細胞を $10^1$  ~  $10^4$  個の範囲で皮下接種し、接種細胞による腫瘍発現を阻止しうるか、すなわち抗移植免疫が成立するか否かを検討した。

各群の免疫ハムスターの一部は、HT-7 細胞接種時の ICH ウイルスに対する中和抗体価を測定するために殺処分した。得られた成績を表2にまとめた。

ウイルスで免疫されたハムスターの同ウイルスに対する中和抗体価は、 $10^7$  接種群で1:64,  $10^5$  接種群で1:32, また対照群では<1:4で、接種ウイルス量により差が生じた。

TPD<sub>50</sub> の値を比較すると、 $10^7$  群は $10^{3.50}$  = 3,200,  $10^5$  群は $10^{2.70}$  = 500, 対照群は $10^{1.75}$  = 56で、腫瘍を発現させるに必要な細胞数が対照群と比較して、 $10^5$  群の場合約10倍、 $10^7$  群では約50倍で、移植免疫が成立していることが明らかである。

**Table 2. Resitance of ICH virus immunized hamsters against transplantaion of HT-7 cells**

**表 2. ICH ウイルス免疫ハムスターの HT-7 細胞移植に対する抵抗力**

Immunization *1	Antibody titer *2	No. of HT-7 cells in challenge *3	Tumor appearance *4	TPD <sub>50</sub>
ICH virus 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub>	1 : 64	10 <sup>4</sup>	4/5	10 <sup>3.50</sup>
		10 <sup>3</sup>	1/5	
		10 <sup>2</sup>	0/3	
		10 <sup>1</sup>	0/3	
ICH virus 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub>	1 : 32	10 <sup>4</sup>	3/3	10 <sup>2.70</sup>
		10 <sup>3</sup>	2/3	
		10 <sup>2</sup>	1/5	
		10 <sup>1</sup>	0/3	
Normal tissue culture fluid	< 1 : 4	10 <sup>4</sup>	3/3	10 <sup>1.75</sup>
		10 <sup>3</sup>	4/4	
		10 <sup>2</sup>	3/4	
		10 <sup>1</sup>	0/4	

Notes \*1 Three-week-old hamsters were used. The virus inoculation was repeated intraperitoneally at 3 day intervals for 3 doses with the same dose of virus indicated.

\*2 Neutralization antibody titers at challenge

\*3 Tumor challenge was performed subcutaneously 3 weeks after the 1st immunization.

\*4 Number of hamsters developing tumor / number of inoculated

### 3 ICH ウイルスを皮下接種して免疫したハムスターの HT-7 細胞移植に対する抵抗力

本実験においては、接種ウイルスとして、10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>のみを用い、また腹腔内接種の代りに皮下接種法を採用した以外は、すべて前項のそれに準じて行なった。

表3に示すように、10<sup>7</sup>接種群の中和抗体価は1:32またTPD<sub>50</sub>は10<sup>3.10</sup>=1,260で腹腔内接種した前項の成績より若干免疫効果が弱いようであるが、対照群のそれに比べると明らかにウイルス接種によって抗移植免疫が成立しているといえる。

### 4 ICH ウイルス感染ハムスター胎児細胞で免疫したハムスターの HT-7 細胞移植に対する抵抗力

**Table 3. Resistance of ICH virus immunized hamsters against transplantation of HT-7 cells**

**表 3. ICH ウイルス免疫ハムスターの HT-7 細胞移植に対する抵抗力**

Immunization*	Antibody titer	No. of HT-7 cells in challenge	Tumor appearance	TPD <sub>50</sub>
ICH virus 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub>	1 : 32	10 <sup>4</sup>	5/5	10 <sup>3.10</sup>
		10 <sup>3</sup>	2/5	
		10 <sup>2</sup>	0/5	
		10 <sup>1</sup>	0/5	
Normal tissue culture fluid	< 1 : 4	10 <sup>4</sup>	4/4	< 10 <sup>1.70</sup>
		10 <sup>3</sup>	4/4	
		10 <sup>2</sup>	3/3	
		10 <sup>1</sup>	1/3	

Notes \* Immunization was performed with subcutaneous route.

Other notes were same with those of table 2.

ICH ウイルスで免疫したハムスターに腫瘍移植に対する抵抗力が生ずることを明らかにしたが、さらにウイルスの代りに、ウイルスを感染させたハムスター細胞を使った場合、その効果があるか否かを検討した。

ICH ウイルス Woc-4 株はハムスター胎児細胞に接種すると、一部 CPE が生じウイルスが最高 10<sup>4.5</sup> TCID<sub>50</sub>/ml 程度に増殖する。そこで感染後36時間目のやゝ CPE を示す細胞を集め、PBS で3回洗浄することにより表在のウイルスを出来る限り除去して接種に供した。細胞をガラス面から剥離させる時は細胞の損傷をさけるよう細心の注意を払った。なお、接種に供した細胞の濃度は約200万/mlであるが、その一部を凍結融解して、細胞内ウイルスの感染価を調べたところ約10<sup>4.0</sup> TCID<sub>50</sub>/ml の値が得られた。

対照としてはウイルスを感染させてないハムスター胎児細胞を同様処置して用いた。

ハムスターへの接種ルートは腹腔内で、他の方法はウイルス免疫の場合と同様である。

その結果、表4に示すように感染細胞免疫群の TPD<sub>50</sub> は10<sup>3.10</sup> = 1,260で、非感染細胞のその約10<sup>1.84</sup> = 69 に比して高く、抗移植免疫が成立している。

なお、この効果はウイルス単独免疫の10<sup>7</sup> 群と10<sup>5</sup> 群の中間位である。しかし中和抗体価をみると1 : 8で、ウイルス単独の場合の1 : 32~64に比して低い。このことは移植免疫の程度は必ずしも中和抗体価と平行するものではないことを示している。

**Table 4. Resistance of hamsters immunized with ICH virus-infected hamster embryo cells against transplantation of HT-7 cells**

**表 4. ICH ウイルス感染ハムスター胎児細胞で免疫したハムスターの HT-7 細胞移植に対する抵抗力**

Immunization	Antibody titer	No. of HT-7 cells in challenge	Tumor appearance	TPD <sub>50</sub>
ICH virus-infected hamster cells *	1 : 8	10 <sup>4</sup>	5/5	10 <sup>3.10</sup>
		10 <sup>3</sup>	2/5	
		10 <sup>2</sup>	0/5	
		10 <sup>1</sup>	0/5	
Non-infected hamster cells	< 1 : 4	10 <sup>4</sup>	3/3	10 <sup>1.84</sup>
		10 <sup>3</sup>	3/3	
		10 <sup>2</sup>	2/3	
		10 <sup>1</sup>	0/3	

Notes \* Hamster embryo cells inoculated 36 hrs previously with ICH virus, strain Woc-4 were harvested, washed and resuspended in saline. The cells thus prepared were inoculated intraperitoneally into hamsters. Immunization procedures and other notes were same with those of table 2.

## 5 移植抵抗力に及ぼすウイルス免疫期間の影響

ウイルスによりハムスターを免疫しはじめてから、腫瘍細胞の移植までの日数が、どのように抗移植性に影響するかを調べた。

しかし、この実験は、初回接種後移植までの期間が2週と3週の僅か2種類の小規模の実験で、上記の目的を果すには不十分であった。

表5に示す如く、TPD<sub>50</sub>の面では、2週間の場合 $10^{2.50}=316$ 、3週の場合 $10^{3.00}=1,000$ で、免疫期間を1週延長した時の方が、約3倍免疫効果が高まっている。また腫瘍発現を最初に感知できるまでの日数を比較してみても、免疫期間の短い方が早いことが分る。

従って、2週と3週を比較した場合、免疫期間が長い程抗移植免疫の程度が高まるといえる。ただしその差は著明ではない。

## IV 考 察

腫瘍細胞には抗原性が少なく、そのため腫瘍の免疫学的診断を困難にしている。しかしウイルスで誘

**Table 5. Effect of interval between pretreatment and challenge on transplantation immunity**

**表 5. 移植抵抗性におよぼす免疫期間の影響**

Immunization*1	Immun. period*2	Antibody titer	No. of HT-7 cells in challenge	Tumor appear.	Latent period in days*3	TPD <sub>50</sub>
ICH virus 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub>	2 wks	1 : 4	10 <sup>4</sup>	4/4	30, 24, 24, 20 (24.5)	10 <sup>2.50</sup>
			10 <sup>3</sup>	3/4	35, 30, 30 (31.7)	
			10 <sup>2</sup>	1/4	40	
			10 <sup>1</sup>	0/4		
"	3 wks	1 : 32	10 <sup>4</sup>	4/4	35, 33, 30, 21 (29.7)	10 <sup>3.0</sup>
			10 <sup>3</sup>	2/4	37, 35 (36.0)	
			10 <sup>2</sup>	0/4		
			10 <sup>1</sup>	0/4		

Notes \*1 Thrice intraperitoneal inoculations

\*2 Interval between the 1st virus inoculation and challenge with HT-7 tumor cells

\*3 Number in parentheses refers to an average latent period in days.

発される腫瘍には、その起因ウイルスに特異的な抗原が存在することが報告され、にわかに免疫学的な面からの腫瘍に関する研究が活発になってきている。

この種の研究は、あらかじめ動物を腫瘍の起因ウイルスあるいはウイルス感染細胞、もしくは増殖性のみをある種の処置で除去した腫瘍細胞で免疫しておいて、後に可移植性腫瘍を移植し腫瘍の増殖が阻止されるかあるいはその発現が延長されるか否かをもって、抗腫瘍免疫の有無を検討している。

この免疫の機序について、Sjgrenら(1966)はウイルスがある宿主細胞に感染し、その結果その細胞内にTSTAと同一抗原の合成が促進され、それに対する免疫ができ、次いで同抗原を有する腫瘍の移植を拒否すると述べている。

今回の実験においても、先人の方法を踏襲し、著者がはじめて確立したイヌ伝染性肝炎ウイルス腫瘍のシステムを用い、抗移植性免疫の有無を検討した。

まずハムスターの免疫はICHウイルスの10<sup>7</sup>あるいは10<sup>5</sup>TCID<sub>50</sub>を3日おき3回腹腔内注射することによった。

初回接種後3週目に腫瘍の移植を行ない、抗移植性免疫の有無をみたが、効果の判定を敏感ならしめるために、移植細胞数を10<sup>4</sup>~10<sup>1</sup>個の範囲で10倍段階希釈し、また、腫瘍発現までの日数も記録し、比較することにした。

このような効果は、移植する腫瘍細胞数が小さい程大きく現われるという報告がある(1, 5, 16)が、本実験ではそのような移植細胞数による影響を考慮して、50%の免疫動物に腫瘍を発現させるに必



要な腫瘍細胞数 (T P D<sub>50</sub>) を求めて比較することにした。

その結果、ウイルスの代りに培養液で免疫した群に比し T P D<sub>50</sub> が $10^7$  接種群で約60倍、 $10^5$  接種群で約10倍高いことが示され、明らかにウイルス接種により、しかもその接種量の多い程、腫瘍細胞移植に対し抵抗性が増していることが示された。

腫瘍細胞の攻撃時に、一部のハムスターを殺処分し血清中のウイルス中和抗体価を測定したが、この試験では中和抗体価と抗移植性免疫の度合は平行する成績が得られている。

また腹腔内接種による免疫の代りに、皮下接種法も採用したが、免疫の程度の差はあれ、本質的な差異は認められなかった。

次に、本免疫がウイルス抗原によるものであるかを検討するために、ウイルスの産生度は低いT抗原産生は認められる感染ハムスター細胞を用いてハムスターを同様に免疫してみた。

このような免疫ハムスターのウイルス中和抗体価は1:8で、ウイルス $10^5$  免疫の場合の1:32より低いに拘わらず、抗移植性免疫の程度は逆に高い結果が得られている。

このことは本免疫にあずかる抗体が必ずしもウイルスに対する液性抗体によるものではないことを示している。

移植免疫にあずかる抗体がどのようなものであるかについては、細胞性抗体 (cell-bound antibody) によるものと考え方が強いが、これは免疫動物の血清中に、補体の存在下でさえ腫瘍細胞を溶解 (cytotoxicity) させる抗体がないこと (1, 2, 3, 16), 受身免疫ができないこと (3), ウイルス抗原に対する抗体価と無関係で (16), 特にウイルスをアジュバントと共に接種し、ウイルス抗体価を高めても抗移植性免疫は高まらないこと (1) などから支持されている。

しかし、これに対し抗移植性免疫にあずかる抗体が、蛍光抗体法によって検出される細胞表面抗原と反応する液性抗体と同一のものであるらしいとする報告もあり (7, 17, 19), また最近SV40でTSTAが *in vitro* で cytotoxic に作用する液性抗体と同じものであるという報告もなされており (26), 一方 TSTA を含む可溶性分画をアデノウイルス感染細胞あるいはアデノウイルス誘発ハムスター腫瘍細胞の膜成分より分離することに成功したという報告もあり (10), 本抗体の本質については今後さらに検討される必要があると思われる。

本実験においても、今後表面抗原の存在を蛍光抗体法で証明し、さらに移植抗原と表面抗原との関連も明らかにする必要がある。

免疫期間については、初回接種後攻撃まで2週間を要したという Bermann (1967) の報告に従い一応3週間後としたが、一部実験において2週と3週を比較し、3週間免疫期間をおいた方がより効果が高いという成績を得ているので、この点についてはさらに期間を延長して検討したい。

今回実施し得なかった大きな問題点は、この免疫の特異性の点であろう。

SV40 とポリオーマウイルス間では、その生化学的性状がかなり近似しているが、この抗腫瘍免疫の面では全く交差がなく、完全にそれぞれのウイルスに特異的であることが証明されている (2, 6, 16)。

しかしヒトアデノウイルスの型間での交差の有無については対立した意見がある。

従来ヒトアデノウイルスは免疫学的に31の血清型に分けられており、これらはハムスターへの腫瘍原性の面からは、強い腫瘍原性のある型例えば Ad. 7, 12, 18型と、全く腫瘍原性のない型および中間型の3つの群にまとめられ、腫瘍抗原 (T抗原) は群内の型間では交差するものとされていた。

このような交差反応が抗移植免疫の面でも存在するのを知ることが興味ある点であるが、Bermann (1967) は Ad.12 腫瘍が Ad.18 とは若干交差するが、Ad.7 や5とは交差しないといい、これに対し Sjögren ら (1967) はさらに Ad.7 と、また Schild ら (1967) は Ad.5, 7ともそれぞれ交差があると述べている。

ICHウイルスもアデノウイルスの一員として群共通の抗原を有しているが、腫瘍免疫の点で上記の Ad. 7, 12, 18 とどのような関連を有しているか検討する必要があるし、またそれを解明することはヒト腫瘍との関連で興味ある点である。今回パポバウイルスは勿論、ヒトアデノウイルス腫瘍移植に対する抵抗性をテストし得なかった点で、今後の問題として残されている。

次にこの種の研究で問題となるのは、組織適合性抗原の点である。今回の実験では一応純系の A P G ハムスターを用い、できるだけその問題を排除しうるように配慮したが、さらに厳密に規制する必要があると感じた。

Habel and Belcher (1963) および Bermann (1967) は大量の腫瘍細胞接種によって起る heterogeneity を最小限に抑えるために攻撃の部位として脳内を選んでおり、またそのような方法によった方が顕著な抵抗性が認められたと述べているが、移植攻撃の部位についても、そのような配慮をすることが、移植免疫の本質を究明する上に重要であろう。

今回著者は、はじめて ICH ウイルス腫瘍のシステムにおいても抗移植免疫の成立することを明らかにし得たが、さらにこれらのデータを基礎に、ウイルス腫瘍の免疫の本態を探るためのよきモデルとなるよう研究を進めていきたい。

## V 総 括

イヌ伝染性肝炎ウイルス誘発腫瘍において抗移植性免疫が成立するか否かを検討する目的で、ハムスターをあらかじめウイルスで3日おき3回免疫しておき、初回接種後3週目に、同ウイルス誘発ハムスター腫瘍より *in vitro* で株化した HT-7 細胞を移植し、腫瘍移植に対する抑制効果の有無を観察した。

得られた成績は次の通りである。

1. ICH ウイルス $10^7$ あるいは $10^5$  TCID<sub>50</sub> を腹腔内接種し免疫した場合、50%腫瘍発現に要する HT-7 腫瘍細胞数 (TPD<sub>50</sub>) は対照の非免疫ハムスター群のそれに比して、 $10^7$  免疫群で約60倍、 $10^5$  免疫群で約10倍多く要し、ウイルス接種によって抗移植免疫が成立した。
2. ウイルス免疫ルートを皮下接種に代えると、抗移植性免疫の程度が腹腔内接種のそれに比しやや低下する。
3. 免疫原としてウイルスの代わりに、ウイルス接種ハムスター胎児細胞を用いた場合、ウイルス単独接種の場合に比し、ウイルス中和抗体の産生は低いに拘わらず、抗移植性免疫効果は同程度に高い。
4. 以上の成績より著者の確立した ICH ウイルス腫瘍の系でもウイルスに特異的な抗移植性免疫が成立し、しかもそれはウイルス粒子に対する液性抗体とは必ずしも同一のものでないことが示唆された。

## 謝 辞

本研究は財団法人 三菱財団の第1回(昭和45年度)自然科学研究助成費の援助によって行なわれた、記して感謝の意を表します。

また使用した純系 A P G ハムスターを分与下さった日本生物科学研究所の御好意に深謝致します。

## 文 献

1. Berman, L. D. 1967 On the nature of transplantation immunity in the adenovirus tumor system, *J. exp. Med.*, **125** : 933~999

2. Defendi, V. 1963 Effect of SV40 virus immunization on growth of transplantable SV40 and polyoma virus tumors in hamsters, *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, **113** : 12~16
3. Habel, K. 1961 Resistance of polyoma virus immune animals to transplanted polyoma tumors, *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, **106** : 722~725
4. ——— 1962 Immunological determinants of polyoma virus oncogenesis, *J. exp. Med.*, **115** : 181~193
5. ——— and Belcher, J.H. 1963 Immunologically privileged sites in studies of polyoma tumor antigens, *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, **113** : 148~152
6. ——— and Eddy, B. E. 1963 Specificity of resistance to tumor challenge of polyoma and SV40 virus-immune hamsters, *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, **113** : 1~4
7. 浜田忠弥, 中島節子, 植竹久雄 1970 アデノウイルス腫瘍細胞および感染細胞のウイルス特異的表面抗原 III. トランスホーム細胞および腫瘍細胞表面抗原の組織化学的検索, *ウイルス*, **20** : 79
8. Hamada, C. and Uetake, H. 1967 An evidence for the appearance of transplantation antigens on cells infected cytocidally with an oncogenic virus, adenovirus type 12, *Ann. Rept. Inst. Virus Res. Kyoto Univ.*, **10** : 63~66
9. Hellström, I. and Sjögren, H. O. 1963 Demonstration of common specific antigen(s) in mouse and hamster polyoma tumors, *Int. J. Cancer*, **1** : 481
10. Hollinshead, A. and Alford, T. C. 1969 Identification of soluble transplantation antigen from the membrane fraction of adenovirus tumor cells, *J. gen. virology*, **5** : 411~418
11. Jonson, N. 1966 Studies on the occurrence of common specific transplantation antigens in Rous tumor of various mammalian species, *Acta Path. Microbiol., Scand.*, **67** : 339~353
12. 金城俊夫 1971 イヌ伝染性肝炎ウイルスでトランスホームしたハムスター胎児細胞からの株化細胞の作出とその性状, *琉大農学報*, **18** : 185~198
13. Kinjo, T., Nishi, T. and Yanagawa, R. 1969 In vitro transformation of hamster cells by infectious canine hepatitis virus, *Jap. J. vet. Res.*, **17** : 128~136
14. ———, Yanagawa, R. and Fujimoto, Y. 1968 Oncogenicity of infectious canine hepatitis virus in hamsters, *Jap. J. vet. Res.*, **16** : 145~158
15. ———, ——— and Nishi, T. 1968 Characteristics in tissue culture of infectious canine hepatitis virus-induced hamster tumor cells, *Jap. J. vet. Res.*, **16** : 183~194
16. Koch, M. A. and Sabin, A. B. 1963 Specificity of virus induced resistance to transplantation of polyoma and SV40 tumors in adult hamsters, *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, **113** : 4~12
17. Malmgren, R. A., Takemoto, K. K. and Carney, P. G. 1968 Immunofluorescent studies of mouse and hamster cell surface antigens induced by polyoma virus, *J. nat. Cancer Inst.*, **40** : 263~268
18. Sachs, L. 1961 Tumor transplantation in mice inoculated with polyoma virus,

- Exp. Cell Res., **24** : 185~188
19. 佐藤節子, 浜田忠弥, 植竹久雄 1969 アデノウイルス12型感染細胞による ハムスターでの腫瘍発生抑制について, ウイルス, **19** : 203~204
  20. Sjögren, H. O. 1961 Further studies on the induced resistance against isotransplantation of polyoma tumors, Virology, **15** : 214~219
  21. ———, Hellström, I. and Klein, G. 1961 Resistance of polyoma virus immunized mice against transplantation of established polyoma tumor, Exp. Cell Res., **23** : 204~208
  22. ———, Minowada, J. and Ankerst, J. 1967 Specific transplantation antigens of mouse sarcoma induced by adenovirus type 12, J. exp. Med., **125** : 689~701
  23. Tevethia, S. S., Couvillion, L. A. and Rapp, F. 1968 Development in hamsters of antibodies against surface antigens present in cells transformed by papova virus-SV40, J. Immunol., **100** : 358~362
  24. ———, Katz, M. and Rapp, F. 1965 New surface antigen in cells transformed by simian papovavirus SV40, Proc. Soc. exp. Biol. & Med., **119** : 896~901
  25. Trentin, J. J. and Bryan, E. 1965 Virus induced transplantation immunity to human adenovirus type 12 tumor of the hamster and mouse, Proc. Soc. exp. Biol. & Med., **121** : 1216~1219
  26. Wright, P. W. and Law, L. W. 1971 Quantative in vitro measurement of simian virus 40 tumor-specific antigens, Proc. nat. Acad. Sci., **68** : 973~976

### Summary

To determine whether a transplantation immunity could be demonstrated in infectious canine hepatitis (ICH) virus-induced tumor system, hamsters were immunized by 3 intraperitoneal or subcutaneous injections of ICH virus at intervals of 3 days and at 3 weeks after the 1st injection were challenged with graded doses of HT-7 cells, established from ICH virus-induced hamster tumors.

The existence of transplantation immunity was conjectured by difference in 50% tumor producing doses (TPD<sub>50</sub>) of test and control animals.

In the hamsters immunized intraperitoneally with the virus of 10<sup>7</sup> or 10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>, TPD<sub>50</sub> were usually about 60 or 10 times higher than in controls, respectively.

In the subcutaneous immunization groups, an effect of transplantation immunity was somewhat lower than that of the intraperitoneal groups.

When the hamsters were preimmunized with ICH virus-infected hamster embryo-cells instead of free virus, the same degree of transplantation immunity was demonstrated.

In these cases, however, no correlation was existed between degree of transplantation immunity and neutralization antibody titer.

From the presented data, it was found that preimmunized hamsters with ICH virus or the virus infected hamster cells induce a state of relative resistance against the transplantation of established HT-7 cells, originally induced by ICH virus. Evidence was also suggested that the resistance was not due to humoral antibody to virion antigen.