— 原 著 —

原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者の末梢血リンパ球 Natural Killer (NK) 活性と Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity (ADCC) に 及ぼす化学療法の影響

渋谷 昌彦

日本医科大学臨床病理学教室 (主任：仁井谷久暢教授)

Effect of chemotherapy on natural killer (NK) activity and
antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) in
carcinoma of the lung and metastatic pulmonary tumor

Masahiko Shibuya

Department of Clinical Pathology, Nippon Medical School

NK activity and ADCC of lymphocytes for Oat cells were measured in patients with pulmonary tumors. NK activity was not less in patients with stage III and IV primary lung cancer and with metastatic pulmonary tumors compared with healthy volunteers. Changes in NK activity and ADCC were analyzed according to the performance status (PS) of tumor-bearing patients. Although NK activity was significantly less in PS 3 and PS 4 patients, ADCC was higher in three groups. It is clear that NK activity in patients with tumors depends on the grade of PS. Furthermore, the effect of chemotherapy on NK activity and ADCC in 15 patients with advanced carcinomas of the lung was examined with regard to the drug, dose, route and timing of administration. The relationship between the effect of chemotherapy on the prognosis for the patients, and the changes in NK activity and ADCC, were also analyzed. NK activity and ADCC were significantly less in patients with poor prognosis, even before treatment. NK activity and ADCC began to decrease 2 weeks after the initiation of treatment, and reached the lowest level during the 3rd or 4th week in all patients. Thereafter, they returned to the pretreatment level in 8 patients evaluated as no change according to the criteria of WHO. On the other hand, NK activity and ADCC did not return in 7 patients whose disease was progressive and prognosis poor. In 4 patients, it was found that the effect of chemotherapy with Peplomycin (PLM) and Carbazilquinon (CQ) on NK activity and ADCC differed according to the drug used. Finally, we examined the effect of Cisplatin (CDDP) on NK activity and ADCC, and it was found that CDDP had no effect on their activities. From this study, it is suggested that NK activity and ADCC are valuable prognostic factors in patients with advanced carcinoma of the lung. Detailed analysis of the effect of each anticancer agent on NK activity and ADCC is desirable for the establishment of a better treatment regimen for advanced carcinoma of the lung.

Key words: NK activity, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), lung cancer, chemotherapy

緒 言

担癌状態における宿主免疫能を正確に把握すると

もに、治療による抗癌免疫能の変動を明らかにして、効果的な治療計画を検討していくために、従来から担癌患者における PPD 皮膚反応、Phyto-haemagglutinins に対するリンパ球の幼若化反応¹⁾、T 細胞と B 細胞の比率、T 細胞の subset (Tr と T_μ 細胞) などの、非特異的免疫反応に関する諸検査が行われてきてい

Present address: Department of Clinical Pathology, Nippon Medical School, 1-1-5, Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

る。しかし、担癌患者の治療効果もしくは予後と、これらのパラメーターの変化との関係は必ずしも明確ではなく、新たなパラメーターの出現が望まれているのが現状である。

killer T 細胞, lymphokine activated killer (LAK) cell, マクロファージ, 顆粒球などとともに, Natural killer (NK) 細胞や Killer (K) 細胞は癌の増殖や進展に対する生体の resistance の一翼を担うと考えられている²⁻⁶⁾。NK 細胞は前感作なしに異種, 同種および同系腫瘍細胞に対し障害を及ぼすリンパ球系細胞であり, *in vivo* で腫瘍増殖抑制に関与していることを示唆する成績はすでに数多く報告されている⁷⁻¹⁴⁾。

著者らも, マウス NK 細胞の表面マーカーとして知られている asialo GM₁ に対する抗体を C57 BL/6 マウスに静脈内投与することにより, 同系黒色腫 B-16 細胞の spontaneous および artificial metastasis が増加することから, NK 細胞の転移抑制効果を明らかにしてきた¹⁵⁻¹⁷⁾。

しかし、担癌患者末梢血リンパ球 NK 活性の変動に関する報告には一定の傾向が見られず、その臨床的意義は明らかでない¹⁸⁻²⁴⁾。腫瘍関連抗原に対する特異的細胞性免疫反応を再現性をもって検出しえない現在では、担癌患者における NK 活性と antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) の臨床的意義を明らかにすることは適切な治療計画を確立していくために重要な課題の一つと考えられる。

本稿では、NK 活性および ADCC が、今までの非特異的免疫反応に比べて、担癌患者の治療効果もしくは予後を反映する適格なパラメーターになりえるか否かを確かめるために、正常人と未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者の NK 活性と ADCC を比較検討するとともに、原発性肺癌患者 15 例に対する化学療法による NK 活性と ADCC の変動を化学療法前より投与後 6 週にわたって検討した。さらに、抗癌剤の NK 活性と ADCC に及ぼす影響を薬剤、経過、投与経路、投与タイミングに関して検討した。また現在、肺癌治療に広く使用されている Cisplatin (CDDP) の NK 活性および ADCC に及ぼす影響についても検討を加えた。

研究対象および方法

(1) 対象

stage III (12 例), stage IV (13 例) の未治療原発性肺癌患者 25 例, 原発巣に対する手術後未治療の転移性肺腫瘍患者 5 例(原発巣: 直腸, 頭頸部, 肺, 胆管,

前立腺, 子宮)および正常健康者 58 例を対象とし, Oat 細胞(肺小細胞癌由来)に対する NK 活性と ADCC を測定した。

さらに、未治療原発性肺癌患者 25 例のうち、15 例に対しそれぞれの組織型に従って種々の抗癌剤の投与(後述)を行い、投与前より投与後 6 週にわたって K-562 細胞(白血病細胞由来), PC-9 細胞(肺腺癌由来)に対する NK 活性および PC-9 細胞に対する ADCC を測定した。

原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者 30 例の performance status (PS) の grade は、0～2 が 22 例、3～4 が 8 例であった。

PS の grade の判定は以下に示す日本癌治療学会判定基準に準拠した。PS 0: 無症状で社会活動ができ、制限を受けることなく発病前と同等にふるまえる。PS 1: 軽度の症状があり、肉体労働は制限を受けるが、歩行、軽労働や坐業はできる。たとえば、軽い家事、事務など。PS 2: 歩行や身のまわりのことはできるが、ときに少し介助がいることもある。軽労働はできないが、日中の 50% 以上は起居している。PS 3: 身のまわりのある程度のことはできるが、しばしば介助がいり、日中の 50% 以上は就床している。PS 4: 身のまわりのこともできず、常に介助がいり、終日就床を必要としている。

また、原発性肺癌 1 例、転移性肺腫瘍 1 例(原発巣: 肺)、悪性縦隔腫瘍 2 例を対象に CDDP 単独投与による K-562 細胞および PC-9 細胞に対する NK 活性、PC-9 細胞に対する ADCC の変動を検討した。

(2) 方法

1) 原発性肺癌および転移性肺腫瘍に対する化学療法

原発性肺癌患者 15 例に対する治療は Table 1 に示したプロトコールに基づき、封筒法により無作為に決定した。すべての化学療法は、治療開始後 4 週間以内に投与を完了した。胸水を有する 3 例については、tube drainage により胸水をできる限り排除し、20～40 ml の生理食塩水に溶解した Mitomycin C (MMC) 10 mg、もしくは Adriamycin (ADM) 40 mg を週 1～2 回胸腔内に投与した。

1 例の患者(F.S.)に対し、Nocardia rubra cell-wall skeleton (N-CWS) 500 μ g を 1 回胸腔内投与した。

治療開始 5 週間後、Carbazilquinone (CQ) 8 mg の気管支動脈注入を行った 1 名の患者(Y.K.)を除き、この study 中に他の全身的化学療法を行った患者はい

Table 1 Chemotherapy regimens

- 1) For small cell carcinoma
 - a) VCR+ADM+ACNU
 - VCR(i.v.) 1~2mg weekly 4times, ADM(i.v.) 0.8mg/kg (day 3 and 4)
 - ACNU(i.v.) 3mg/kg (day 10)
 - b) VCR+CPA+ACNU
 - VCR(i.v.) 1~2mg weekly 4times, CPA(i.v.) 20mg/kg (day 3)
 - ACNU(i.v.) 3mg/kg (day 10)
- 2) For non-small cell carcinoma
 - a) PLM+CQ
 - i) PLM 2.5mg(i.m.) twice daily (day 1~5, and day 15~19)
 - CQ(i.v.) 0.12mg/kg weekly 3times
 - ii) PLM 0.4mg/kg(i.v.) weekly 4times
 - CQ(i.v.) 0.12mg/kg weekly 3times
 - b) PLM+MMC
 - i) PLM 2.5mg(i.m.) twice daily (day 1~5, and day 15~19)
 - MMC(i.v.) 0.20mg/kg weekly 3times
 - ii) PLM 0.4mg/kg(i.v.) weekly 4times
 - MMC(i.v.) 0.20mg/kg weekly 3times

VCR: vincristine, ACNU: nimustin, ADM: adriamycin, CPA: cyclophosphamide, PLM: pepleomycin, CQ: carbazilquinone, MMC: mitomycin C

Table 2 Administration schedule of CDDP

Day 1	pre-hydration*	Glucose Ringer's solution 1000ml
	CDDP	80mg/m ² in Saline 1000ml
	post-hydration*	mannitol 200ml Glucose Ringer's solution 1000ml
Day 2	post-hydration*	Glucose Ringer's solution 1500ml
Day 6		

*includes domperidone 10mg

なかった。

CDDPはTable 2に示すごとく、3,200 mlの輸液とともに、80 mg/m²を3週間隔で点滴静注した。制吐の目的でDomperidoneを全例に投与したが、Corticosteroidは併用しなかった。

2) 治療の評価

治療開始前に病巣の進展を確認するため、胸部レントゲン撮影、胸部断層撮影、CT scan、骨シンチグラム、肝シンチグラム、脳シンチグラム、血液算定、肝機能検査、血液生化学検査、尿検査などを行った。

毎週1回、患者の全身状態(PS)、薬剤の副作用、胸部X線撮影による腫瘍の測定などを行い、NK活性およびADCCを毎週1回測定した。

治療開始6週後に、原発腫瘍と軽移巣の治療効果を判定した。

抗腫瘍効果の判定は以下に示す日本肺癌学会判定基準に準拠した。著効(complete response, CR):臨床

的に観察しうるすべての腫瘍所見がほぼ完全に消失、その期間が4週間以上あるもの。新病巣の出現がないこと。有効(partial response, PR):少なくとも4週間、腫瘍の二方向の径の積が50%以上縮小したものおよび多発病巣の直径と最大幅との積の合計が50%以上縮小したもの。一方向のみ測定可能なものは4週間30%以上の縮小が認められたもの。新病巣の出現がないこと。不変(no change, NC):二方向測定可能病変の縮小率が50%未満、一方向測定可能病変においては、縮小率が30%未満であるかまたはそれぞれが25%以内の増大にとどまり、腫瘍による二次的病変が増悪せず、かつ新しい病変が出現しない状態が少なくとも4週間以上持続した場合。進行(progressive disease, PD):測定可能病変の積または径の和が25%以上の増大または他病変の増悪、新病変の出現がある場合。

3) リンパ球の分離

各患者より得たヘパリン加末梢血10~20 mlをEagle's minimal essential medium (100 mg/mlのstreptomycinおよび100 U/mlのPenicillinを含む、MEM)液にて2倍希釈後、比重1,080のFicoll-Conrey液に重層した。450 g, 30分間遠心後、血漿とFicoll-Conrey液境界面に存在する単核球を分離²⁵⁾、MEM液にて3回洗浄後10%非働化ウシ胎児血清(FCS)を含むRPMI 1640 (100 mg/mlのStreptomycinおよび100 U/mlのPenicillinを含む、RPMI-

FCS) に浮遊させた。

コールターカウンター (Coulter Electronics Co., Florida, USA) にて細胞数を算定し、 $2 \times 10^6/\text{ml}$ に調整したこの単核球浮遊液 (in RPMI-FCS) を Falcon 3003 plastic dish (Falcon Plastics Co., USA) に入れ、5%CO₂, 37°C にて 1 時間培養した後、non-adherent cells を MEM 液での洗浄を繰り返すことにより集めた。この non-adherent cells の 95% 以上はペルオキシダーゼ陰性のリンパ球であった。

得られた non-adherent cells 浮遊液は、NK 活性および ADCC 測定の effector cells として必要な細胞濃度に調整した。(effector cells/target cells (E/T) ratio=12.5~100:1)

4) 腫瘍細胞

標的細胞として、継代培養されている急性転化した慢性骨髄性白血病患者の胸水中から採取された K-562 細胞、肺の腺癌由来の PC-9 細胞 (東京医科大学教授、早田義雄博士より分与)、および肺小細胞癌由来の Oat 細胞 (新潟大学病理学教室樹立) を使用した。

5) 抗 PC-9 抗体と抗 Oat 抗体

ADCC 測定のために使用した抗体は、PC-9 細胞もしくは Oat 細胞を週 1 回計 5 回静注することによって免疫された NZW ウサギから得た。免疫前 NZW ウサギの血清を ADCC 測定における control として使用した。免疫血清および非免疫血清とも 56°C, 30 分間加熱することにより非働化した。続いてヒト AB 型赤血球にて吸収後、実験前に再び 56°C, 30 分間処理により非働化した。

PC-9 細胞により免疫した血清 (抗 PC-9 血清) および Oat 細胞により免疫した血清 (抗 Oat 血清) を、至適希釈濃度の検討の結果から、それぞれ 1:256, 1:512 に希釈し、すべての実験における ADCC 測定に使用した。

6) 腫瘍細胞の標識

RPMI-FCS $2.5 \times 10^6/0.25 \text{ ml}$ の培養腫瘍細胞に $125 \mu\text{Ci Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (日本アイソトープ協会) を含む RPMI-FCS 25 ml を加え、5%CO₂, 37°C にて 1 時間培養することにより腫瘍細胞の標識を行った。培養後、標識された腫瘍細胞を RPMI-FCS 40 ml にて 3 回洗浄後、RPMI-FCS を用いて $1 \times 10^5/\text{ml}$ に調整し、この ^{51}Cr 標識腫瘍細胞を標的細胞として実験に使用した。標識された腫瘍細胞のみの培養により自然遊離 (spontaneous release) した ^{51}Cr の量は最大遊離量 (maximum release) の 10~20% であった。

7) Cytotoxicity Assay

NK 活性測定においては、まず 96 穴 V 底マイクロプレート (Limbro scientific Co.) に ^{51}Cr 標識腫瘍細胞 ($1 \times 10^4/100 \mu\text{l}$ RPMI-FCS) とリンパ球浮遊液 ($1.25 \sim 10 \times 10^5/100 \mu\text{l}$ RPMI-FCS) を加え (E/T ratio=12.5~100:1), 総量 0.2 ml とし、5%CO₂, 37°C にて K-562 細胞、PC-9 細胞を標的細胞とする場合は 6 時間、Oat 細胞を標的細胞とする場合は 18 時間培養を行った。

ADCC の測定においては、マイクロプレートに ^{51}Cr 標識 PC-9 細胞もしくは Oat 細胞 $1 \times 10^4/50 \mu\text{l}$ および RPMI-FCS にて 1:256 に希釈された抗 PC-9 抗体もしくは RPMI-FCS にて 1:512 に希釈された抗 Oat 抗体 $50 \mu\text{l}$ を加え、5%CO₂, 37°C にて 1 時間培養後、リンパ球浮遊液 $1.25 \sim 10 \times 10^5/100 \mu\text{l}$ RPMI-FCS を加え、さらに 5%CO₂, 37°C にて PC-9 細胞の場合は 6 時間、Oat 細胞の場合は 18 時間培養した。

培養後、すべてのマイクロプレートを 400 g 10 分間遠心し、上清 $100 \mu\text{l}$ に含まれる放射活性をオート γ カウンター (Packard Co., USA) で測定した。標的細胞である標識腫瘍細胞からの ^{51}Cr の spontaneous release は effector 細胞であるリンパ球を含まない標的細胞のみの培養上清中の放射活性とした。maximum release はドライアイス・アルコールによる凍結融解を 5 回繰り返して、標的細胞を破壊することにより求めた。

すべての実験は triplicate culture で行った。

cytotoxicity は下記計算式にて算定した。

% cytotoxicity

$$= \frac{\text{experimental release (c.p.m.)} - \text{spontaneous release (c.p.m.)}}{\text{maximum release (c.p.m.)} - \text{spontaneous release (c.p.m.)}} \times 100$$

$$\text{ADCC} = (\% \text{ cytotoxicity with anti-PC-9 anti-body}) - (\% \text{ cytotoxicity with preimmune serum})$$

結 果

1. 至適測定条件の検討

(1) 抗 PC-9 血清および抗 Oat 血清の希釈濃度

PC-9 細胞および Oat 細胞に対するリンパ球の ADCC におよぼす抗 PC-9 血清および抗 Oat 血清の希釈濃度による影響を検討した結果、至適希釈濃度は抗 PC-9 血清においては 1:27 と 1:29 の間 (Fig. 1), 抗 Oat 血清においては 1:100 と 1:1,000 の間

(Fig. 2) であった。ゆえに、すべての実験における ADCC 測定には、抗 PC-9 血清は 1 : 256 に、抗 Oat 血

Fig. 1 ADCC of lymphocytes for PC-9 according to the dilution of anti-PC-9 serum (●) and preimmune serum (○)
Also shown is NK activity against PC-9 (●).

Effector/Target=50 : 1, Incubation time=18h
Fig. 2 Titration of anti-Oat serum

Fig. 3 NK activity for K-562 (●) and PC-9 (○) and ADCC for PC-9 (○-○) according to effector : target ratio

清は 1 : 512 にそれぞれ希釈し使用した。

非免疫血清を用いた ADCC の値は NK 活性とほとんど同じ値を示した (Fig. 1, 2)。

(2) effector cells/target cells (E/T) ratio

Ficoll-Conray で分離した末梢血リンパ球 (effector cells) と ⁵¹Cr 標識腫瘍細胞 (target cells) の細胞比 (E/T ratio) の変化による NK 活性および ADCC の変動を、K-562 細胞および PC-9 細胞の各々について検討した (Fig. 3)。K-562 細胞および PC-9 細胞に対する NK 活性と PC-9 細胞に対する ADCC は、E/T ratio=12.5 : 1 ~ 50 : 1 の範囲で漸増し、それ以上 E/T ratio を高めても著明な活性の増加を認めなかった。また図では示さなかったが、Oat 細胞に対する NK 活性および ADCC は E/T ratio=50 : 1 でピークとなり、E/T ratio=100 : 1 ではむしろ低下した。以上の結果に基づき本研究においてはいずれの腫瘍細胞を標的細胞とした場合も特に記載のない限り E/T ratio=50 : 1 で行った。

2. 正常者と未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者における Oat 細胞に対する NK 活性と ADCC (Table 3)

正常者 58 名、未治療原発性肺癌患者 25 名 (stage III 12 名、IV 13 名) および転移性肺腫瘍患者 5 名につき検討を行った。

Oat 細胞に対する NK 活性は正常者 24.3±1.5%、stage III 肺癌患者 18.2±4.4%、stage IV 肺癌患者 20.7±5.5%、転移性肺腫瘍患者 16.3±4.2% で、正常者と未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者では有意な差は認められなかった。

Oat 細胞に対する ADCC は正常者 44.1±1.7%、stage III 肺癌患者 44.9±4.6%、stage IV 肺癌患者 47.7±5.2%、転移性肺腫瘍患者 41.2±6.5% で、正常者と未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者では有意な差は認められなかった。

次に、未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者の PS による Oat 細胞に対する NK 活性と ADCC の変動を検討した (Fig. 4)。NK 活性は PS 0~2 の患者では正常者との差は認められなかったが、PS 3~4 の患者では正常者および PS 0~2 の患者に比べ有意に低下していた。ADCC は PS 0~2 の患者では正常者との差は認められなかったが、PS 3~4 の患者では正常者および PS 0~2 の患者に比べ、有意ではないが増加傾向が認められた。

Table 3 NK activity and ADCC of lymphocytes against Oat in normal volunteers and tumor-bearing patients

	NK+ADCC	P value ^a	ADCC	P value ^a	NK	P value ^a
Normal volunteers (58)	68.4±1.7 ^b		44.1±1.7		24.3±1.5	
Lung Cancer Stage III (12)	68.4±4.4	N.S.	44.9±4.6	N.S.	18.2±4.4	N.S.
Stage IV (13)	67.8±5.0	N.S.	47.7±5.2	N.S.	20.7±5.5	N.S.
Metastatic pulmonary tumor (5)	57.5±3.2	0.01	41.2±6.5	N.S.	16.3±4.2	N.S.

Effector/Target ratio=50 : 1, Incubation time=18h

a : Significance between normal volunteers and each group, b : % cytotoxicity (mean±s.e.)

Fig. 4 Comparison of ADCC and NK activities between normal volunteers and lung cancer patients according to the initial performance status

Significance: (NK) A vs B NS, B vs C $p < 0.01$, A vs C $p < 0.01$ (ADCC) A vs B NS, B vs C $p < 0.1$, A vs C NS

3. 化学療法による K-562 細胞に対する NK 活性と PC-9 細胞に対する NK 活性および ADCC の変動

原発性肺癌患者個々の特徴は Table 4 に示したごとくで, stage III 10 例, stage IV 5 例, PS は 0 ~ 2, 12 例, 3 ~ 4, 3 例であった。組織型は扁平上皮癌 4 例, 腺癌 7 例, 大細胞癌 1 例, 小細胞癌 3 例であった。

(1) 治療前値と効果との相関

抗癌剤投与による抗腫瘍効果が NC のものを A 群, PD になったものを B 群とすると, A 群患者の化学療

法前の NK 活性および ADCC は正常者と差はなかったが, B 群患者の場合は正常者に比べ有意に低下していた (Table 5)。

(2) 治療による変動

未治療原発性肺癌患者 15 名に対し, それぞれの組織型に従って種々の抗癌剤投与を行い, 投与前より投与後 6 週にわたり NK 活性および ADCC を測定し, 治療効果および予後との関連性について検討した。

Fig. 5 は group A (no change 群) の患者 8 名の化学療法開始後の NK 活性および ADCC の変化を示したものである。

K-562 細胞と PC-9 細胞に対する NK 活性および PC-9 細胞に対する ADCC は治療開始 1 週後では低下しなかった。いずれの NK 活性も治療開始 2 週後には低下傾向を示し, 3 ~ 4 週後に最低値を示した。しかしながら, その活性は 5 週後までに部分的に回復し, CQ 8 mg の BAI を行った患者 Y.K. を除いた全例が治療開始 6 週後には治療前値に戻った。化学療法開始後の ADCC の変動は NK 活性とまったく同様であった。すべての患者は化学療法終了時において通院治療可能な状態であった。

Fig. 6 は group B (progressive disease 群) の患者 7 名の化学療法後の NK 活性および ADCC の変化を示している。

すべての活性は治療開始 2 週後に低下し始めた。PC-9 細胞に対する NK 活性は 2 週後で最低値に達し, K-562 細胞に対する NK 活性と PC-9 細胞に対する ADCC はそれぞれ 3 週後, 5 週後に最低値に達した。すべての活性は 6 週後においても治療開始前値に回復

Table 4 Characteristics of patients

	Name	Age	Sex	Histology	PS	TNM	Stage	Pleural effusion	Chemotherapy	Effect
group A	Y. K.	65	♂	sq. ^a	2	T ₃ N ₁ M ₀	III M ₀	—	PLM+MMC	NC ^g
	C. N.	58	♀	sq.	2	T ₂ N ₂ M ₁	III M ₁	—	PLM+CQ	NC
	T. N.	72	♂	sq.	0	T ₂ N ₂ M ₀	III M ₀	—	PLM+CQ	NC
	S. Y.	66	♀	ad. ^b (W/D) ^c	3	T ₃ N ₂ M ₁	III M ₁	+	PLM+CQ	NC
	F. S.	70	♂	ad.(W/D)	2	T ₃ N ₀ M ₀	III M ₀	+	PLM+CQ	NC
	S. S.	58	♀	ad.(P/D) ^d	1	T ₂ N ₁ M ₁	III M ₁	—	PLM+MMC	NC
	H. A.	79	♀	ad.(P/D)	1	T ₂ N ₂ M ₁	III M ₁	—	PLM+CQ	NC
	M. S.	70	♂	ad.(P/D)	1	T ₃ N ₂ M ₀	III M ₀	—	PLM+CQ	NC
group B	T. K.	80	♂	sq.	1	T ₃ N ₁ M ₀	III M ₀	—	PLM+MMC	PD ^h
	S. W.	55	♀	ad.(W/D)	1	T ₃ N ₂ M ₁	III M ₁	—	PLM+MMC	PD
	S. N.	49	♂	ad.(W/D)	1	T ₂ N ₂ M ₁	III M ₁	+	PLM+CQ	PD
	S. S.	40	♂	large ^e	1	T ₂ N ₂ M ₁	III M ₁	—	PLM+CQ	PD
	T. F.	54	♂	small ^f (Intermediate)	1	T ₂ N ₂ M ₁	III M ₁	—	VCR+CPA+ACNU	PD
	K. W.	52	♂	small(Oat)	4	T ₃ N ₂ M ₁	III M ₁	—	VCR+ADM+ACNU	PD
	Z. H.	61	♂	small(Oat)	4	T ₂ N ₂ M ₁	III M ₁	—	VCR+ADM+ACNU	PD

a: squamous cell carcinoma, b: adeno-carcinoma, c: well-differentiated, d: poorly-differentiated, e: large cell carcinoma, f: small cell carcinoma, g: no change, h: progressive disease

PS: performance status, PLM: pepleomycin(anticancer antibiotics), MMC: mitomycin C(anticancer antibiotics), CQ: carbazilquinone(alkylating agent), VCR: vincristine(vinca alkaloid), CPA: cyclophosphamide(alkylating agent), ACNU: nimustin(nitrosourea), ADM: adriamycin(anticancer antibiotics)

Table 5 Pretreatment level of NK activity and ADCC

	Normal	A group	Significance ^a	B group	Significance ^b
NK(K-562 ^c)	43.0±3.1 ^d	41.1±3.9	N.S.	27.4±7.1	p<0.05
ADCC(PC-9)	43.7±2.2	49.5±3.1	N.S.	30.4±4.5	p<0.02
NK(PC-9)	8.7±1.5	7.2±0.8	N.S.	4.2±0.4	p<0.01

a: Significance between normal and A group (no change), b: Significance between normal and B group (progressive disease), c: Target cell, d: Cytotoxicity (mean±s.e.)

せず、すべての患者が化学療法終了時にも通院治療不可能な状態であり、治療開始後3ヵ月以内に全員が死亡した。

(3) 6名の患者におけるNK活性およびADCCの詳細な分析

Pepleomycin (PLM) と CQ を投与した6名の患者について、これら抗癌剤のNK活性およびADCCに及ぼす影響を分析した。

PLM投与の経路と時期により患者らを3組に分類した。1組はPLMの少量分割投与群、他2組はPLMの大量間歇投与とともにCQをそれぞれ同時または交互に投与した群である。

Fig. 7にPLMの少量分割投与とCQ投与を行った2名の患者におけるNK活性およびADCCの変化を示した。患者Y.K.に対し、治療開始5週後にBAIにてCQ 8 mgを投与した。この2名の患者の治療に対する

効果はNCであった。両者とも、PLM少量分割投与ではNK活性およびADCCに変化はみられず、CQ 6 mg第1回投与後、K-562細胞とPC-9細胞に対するNK活性は低下し始めたが、PC-9細胞に対するADCCは変化しなかった。CQ第2回投与1週後、PC-9細胞に対するADCCは有意に低下し、K-562細胞とPC-9細胞に対するNK活性は最低値を示した。これらの活性は治療開始5週後に回復傾向がみられ、患者M.S.においては6週後に治療開始前値に回復したが、患者Y.K.においてはCQ 8 mgのBAIを行った1週後に再び低下した。

以上の結果から、PLM少量分割投与はNK活性およびADCCを低下されないことが認められた。また、週1回CQ 6 mg 静脈内投与は2回めにおいてこれらの活性を著明に低下させ、頸動脈内投与においても同様の現象が認められた。

Fig. 5 Changes in NK activity and ADCC after the beginning of chemotherapy in group A patients (no change)
Y.K. was administered 8mg of CQ by bronchial-artery infusion at 5 weeks.

Fig. 6 Changes in NK activity and ADCC after the beginning of chemotherapy in group B patients (progressive disease)

Fig. 7 Effect of chemotherapy on NK activity and ADCC in patients treated with small divided dose of peplomycin (PLM) whose disease was stabilized
●—●: NK (K-562), ○—○: ADCC (PC-9), ●—●: NK (PC-9), PS: performance status, BAI: bronchial artery infusion, N.C.: no change

Fig. 8 で PLM 大量間歇投与と同時に, CQ 投与を行った患者の NK 活性および ADCC の変化を示した。

患者 C.N. の場合, PLM と CQ 投与を同時に開始し, PLM 20 mg を 4 週めにおいても投与したところ, その治療効果は NC であった。また患者 S.S. の場合, PLM 20 mg 1 回投与後, PLM と CQ 投与を同時に 3

回行ったが, その治療効果は PD であった。

Fig. 8 で示すように, 患者 C.N. の NK 活性および ADCC は治療開始 1 週後に減少し, 2 週後も低値を続け, 3 週後にはわずかながらの回復を示した。患者 S.S. においては, PLM 20 mg 静脈内投与のみでは NK 活性および ADCC に影響を与えず, PLM と CQ 同時投与開始後, これらの活性は低下し治療前値への回復

Fig. 8 Effect of chemotherapy on NK activity and ADCC in patients treated with large intermittent dose of pepleomycin simultaneous with CQ
●—●: NK (K-562), ○—○: ADCC (PC-9), ●—●: NK (PC-9), PS: performance status, N.C.: no change, P.D.: progressive disease

Fig. 9 Effect of chemotherapy on NK activity and ADCC in patients treated with large intermittent dose of pepleomycin (alternating with CQ)
●—●: NK (K-562), ○—○: ADCC (PC-9), ●—●: NK (PC-9), N.C.: no change, P.D.: progressive disease

を示さなかった。

Fig. 9にPLM大量間歇投与と、交互にCQ投与を行った患者におけるNK活性およびADCCの変化を示した。

治療効果は患者H.A.でNC、患者T.K.でPDであり、NK活性およびADCCの変化は**Fig. 8**の場合と同様な傾向であった。すなわち、PLM投与のみではこれらの活性に影響を与えなかったが、CQ投与により両活性とも著明に低下した。

4. CDDPのK-562細胞とPC-9細胞に対するNK活性およびPC-9細胞に対するADCCに及ぼす影響

CDDPを投与した4例の患者の特徴は**Table 6**に示したごとくで、PS 3、1例、PS 1~2、3例であった。

Table 7で示すように、CDDP投与前のK-562細胞に対するNK活性の平均値(mean±SE)は、E/T ratio=25:1の場合24.6±5.5%であり、CDDP 80 mg/m²投与1週後は27.8±9.7%、2週後は19.4±3.2%、3週後では20.0±9.6%であった。すなわち、CDDP投与後のNK活性は投与前値と比べ有意な差

を示さなかった。

PC-9細胞に対するNK活性のCDDP投与前値(mean±SE, E/T ratio=25:1)は1.6±1.2%であり、ADCCは38.1±12.9%であった。PC-9細胞に対するADCCはCDDP投与1週後において34.7±12.2%と変化を認めなかった。すなわち、CDDP投与により、NK活性およびADCCは変化を受けないことが示された。

考 察

担癌宿主の免疫機能を正確に把握する的確な指標を確立することは、癌に対するより効果的な化学療法、免疫化学療法を追求するに際し重要である。担癌患者の免疫機能は概念的に、癌特異的なものと非特異的なものとに大別される。癌特異的免疫機能は腫瘍細胞や腫瘍抽出抗原によるリンパ球幼若化反応や、感作killer T細胞による腫瘍細胞障害試験などにより検索しうるが、①腫瘍特異抗原の抽出、精製が困難であること、②その成績を一率に評価することが難しいこと、さらには、③ヒトの腫瘍特異抗原の存在およびそれに対する宿主の特異的応答の証明がいまだ不十分である

Table 6 Characteristics of patients treated with CDDP

No.	Name	Age	Sex†	PS*	Histology**	TNM	Stage	metastatic site	Primary site of metastasis	Response ◇
1	K.Y.	79	f	3	Ad(P/D)	T ₃ N ₂ M ₁	IV	supraclavicular and axillar lymphnode		PR
2	Y.T.	31	f	2					mediastinal undifferentiated ca.	PR
3	H.M.	70	m	2	Sq	post-operation		lung		NC
4	S.I.	60	f	1					malignant thymoma	NC

†f: female, m: male, *PS: performance status, **Sq: squamous cell carcinoma, Ad: adenocarcinoma(P/D. poorly differentiated), ◇NC: no change, PR: partial response

Table 7 Influence of CDDP on NK activity* and ADCC*

Target cell		Pre-treatment	Post-treatment		
			1W	2W	3W
K-562 (n=4)	NK activity	24.6±5.5 ^a	27.8±9.7	19.4±3.2	20.0±9.6 (n=3)
PC-9 (n=4)	NK activity	1.6±1.2	2.4±1.6 (n=3)	0.3±0.2	1.8±1.8 (n=2)
	ADCC ^b	38.1±12.9	34.7±12.2	53.3±3.0	37.5±32.5

*effector: peripheral blood lymphocytes, E/T ratio=25:1, 5h-⁵¹Cr release assay

a: % cytotoxicity(mean±s.e.), b: dilution of serum=1:256

ことなどの理由により、“癌特異的”免疫応答の検出方法自身が疑問視されている。しかし近年、T cell growth factor (TCGF) や T cell hybridoma などに関する研究の進歩により、感作 killer T 細胞を選択的に増殖させる可能性とともに癌特異的免疫応答検索の可能性についても言及しうる時代になりつつある。

一方、非特異的免疫機能として、①皮内反応(DNCB, PPD, PHA など)、②リンパ球の Subpopulation (T : B 細胞比, T 細胞の Subset)、③リンパ球の幼若化反応 (PHA, Con A, PWM など)、④赤血球に対する ADCC、⑤マクロファージ遊走阻止テスト、⑥貪食能、⑦顆粒球の貪食、貪食能などが検討されてきた。しかし、これらの反応が宿主の腫瘍に向けられた免疫能を反映するか否かは疑問である。すなわち、担癌宿主の免疫機能を正確に評価するためには、癌細胞に対して障害性に働く免疫応答を把握することが最低必要条件であるとすれば、従来の非特異的免疫機能はその条件を満たすには程遠い反応であるといえよう。

最近、killer T 細胞以外に腫瘍細胞破壊能をもつ細胞として、K 細胞、NK 細胞、LAK 細胞、マクロファージ、顆粒球などが注目されてきている。

K 細胞は ADCC、すなわち標的細胞の表面抗原に対する抗体の存在下において標的細胞を障害する細胞である。この細胞は抗体分子の Fc 部に対する receptor を保有している。Hersh ら²⁶⁾は免疫療法、McCredie ら²⁷⁾は手術、放射線療法による ADCC の変動を検討し、治療効果との相関を分析しているが、ADCC に及ぼす抗癌剤の影響については十分な成績がない状態である。hybridoma によって腫瘍抗原に対する monoclonal 抗体の作製が可能となった現在、K 細胞機能の解析はさらに進むものと思われる。

Natural killer とは、in vitro においてリンパ球が様々な腫瘍細胞に対し、感作の必要なしに直接障害しうる能力をいう。すなわち、NK 細胞は killer T 細胞の場合と異なり、前感作を必要とせず標的腫瘍細胞表面の NK determinant を認識することにより細胞障害能を示すと考えられている²⁸⁾。

NK 細胞の免疫監視機構における意義に関する成績はすでにいくつかみられる^{2,29)}。胸腺をもたないヌードマウスの腫瘍に対する抵抗性は、これらの動物における高い NK 活性との関係において論じられている。一方、NK 活性の欠落したベージュマウスにおける移植腫瘍増殖速度は正常マウスに比べ早いこと、また正常マウス、ヌードマウスでは皮下移植した腫瘍の肺転移

は観察されないのに対し、ベージュマウスでは肺転移が多発することが知られている。Hanna らは、NK 活性の低い 3 週齢マウスや Cyclophosphamide 投与により NK 活性を低下させたマウスにおいては、腫瘍の静脈内移植による肺転移が著増すること、また、これらのマウスに NK 活性を持つ細胞を移入したり、Interferon あるいは Interferon inducer を投与することにより肺転移が抑制されることを報告している³⁰⁻³²⁾。さらに、NK 細胞のもつ NK-1 抗原や asialo GM1 に対する抗体、または抗 Interferon 抗体投与を行ったマウスでは腫瘍増殖促進が観察され、in vivo 腫瘍増殖抑制における NK 細胞の役割が注目されてきている⁷⁾。

また、われわれは抗 asialo GM 1 抗体を様々なタイミングでマウスに静脈内投与することにより、NK 細胞は血液循環中の腫瘍細胞に対して作用すること、すなわち癌の転移形成において NK 細胞が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた¹⁵⁾。

Herberman らは、¹²⁵IDUR で標識した腫瘍細胞をマウス静脈内へ移植後、各臓器への放射活性の分布を短時間内に検討すればマクロファージ活性や killer T 細胞誘導に時間的余裕を与えないために in vivo における NK 活性を選択的に検討しようと報告している³³⁾。

このように、NK 細胞は免疫監視機構において重要な役割を果たしていると考えられるが、担癌患者における意義に関する報告は極めて少ない¹⁸⁾。

この研究においてわれわれは特異的とは言えないまでも、腫瘍に直接向けられた免疫反応と考えられる末梢血リンパ球の NK 活性および ADCC を測定し、原発性肺癌および転移性肺腫瘍症例における変動を検討した。さらに、化学療法による影響を分析するとともに、これらの免疫反応が治療効果を反映する指標となりうるか否かを解析した。

担癌動物の NK 活性はごく初期では上昇するものの、癌の進行とともに低下あるいは消失すると報告されている。われわれの検討によると PS の不良な症例 (3~4) の NK 活性は治療開始前においても有意に低下していたが、かなりの進行癌症例においても、PS の良い症例 (0~2) では NK 活性の低下はみられないことから、NK 活性は担癌患者の prognostic factor の一つとして有用であることが示唆された。また、未治療原発性肺癌患者末梢血リンパ球の NK 活性および ADCC を化学療法前および治療開始後 6 週にわ

たって経時的に測定した結果、治療効果が NC を示す症例の NK 活性および ADCC は化学療法開始前にあって正常値との差は認められなかったが、PD では有意に低下していた。また、NC 症例では治療開始後 3～4 週を最低値とする NK 活性および ADCC の低下を認めたが、6 週後には治療開始前値への回復がみられたのに対し、PD 症例では治療終了後もこれらの活性は回復しなかった。すなわち、リンパ球の NK 活性および ADCC の変動は治療効果と相関することが示された。

さらに、抗癌剤の NK 活性と ADCC に及ぼす影響を薬剤、経過、投与タイミングに関して検討した結果、これらは使用される薬剤によって異なることが明らかとなった。

CQ 投与は投与経路に関わりなく NK 活性および ADCC を著明に低下させた。一方、PLM は投与の時期、投与量、投与経路に関係なく両活性に対して明らかな影響は示さず、CDDP もまた全く影響を与えなかった。

最近、尾崎らは、C57BL/6 マウスにおける B-16 melanoma の artificial metastasis 実験系で、NK 活性の低下を起こす抗癌剤投与により腫瘍の肺および肝転移が著増することを示すとともに、CDDP 最大有効量投与によっては NK 活性の低下および転移の増加もみられないことを報告している⁸⁾。

この事実からも臨床における癌化学療法を計画するにあたり、投与する化学療法剤の直接抗腫瘍効果とともに、NK 活性を始めとする抗癌 effector 機構に及ぼす影響を検討することは^{34,35)}重要であるといえる。さらに、化学療法により NK 活性などの低下を認めた場合には免疫療法の併用を行うことにより、早期にこれら免疫機能を回復させることが担癌患者の治療成績向上に結びつくことが予想されるので、効果的な免疫療法の導入が重要なポイントとなると思われる。

結 論

正常者と未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者の NK 活性および ADCC を、患者の stage 別、PS 別に比較検討するとともに、未治療原発性肺癌患者 15 名の化学療法による NK 活性および ADCC の変動を化学療法前から投与後 6 週にわたって調べ、NK 活性および ADCC の変化と、患者に対する治療効果および予後との関連性について検討した。また、抗癌剤の NK 活性および ADCC に及ぼす影響を薬剤、経過、投与経

路、投与時期に関して検討した。さらに、最近肺癌治療に対して広く使用されている CDDP の NK 活性および ADCC に及ぼす影響についても検討を加えた。

1) 未治療原発性肺癌 (stage III, IV) および転移性肺腫瘍患者の NK 活性および ADCC は、正常者との有意な差を認めなかった。

2) 未治療原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者において、PS 0～2 の患者の NK 活性は正常者との差は認められなかったが、PS 3～4 の患者では正常者および PS 0～2 の患者に比べ有意に低下していた。一方 ADCC は、PS 0～2 の患者では正常者と比べて変化は認められなかったが、PS 3～4 の患者では正常者および PS 0～2 の患者に比べ有意ではないが、増加傾向が認められた。

以上から、原発性肺癌および転移性肺腫瘍患者の NK 活性は患者の PS に依存することが示唆された。

3) 原発性肺癌患者において、NC 群では化学療法前の NK 活性および ADCC は正常者との差はなかったが、PD 群では有意に低下していた。化学療法剤投与により、NK 活性および ADCC は低下したが、NC 群では投与終了後回復した。しかし、PD 群では回復がみられなかった。

以上から、NK 活性および ADCC の prognostic factor としての意義が示唆された。

4) PLM は少量分割および大量間歇投与のいずれの場合においても NK 活性および ADCC を低下させなかったが、CQ は静脈内および動脈内投与により NK 活性および ADCC を著明に低下させた。CDDP 投与は NK 活性および ADCC の両者ともに影響を与えなかった。

以上から、抗癌剤別の NK 活性および ADCC に対する影響を分析することにより、さらに、効果的な化学療法を具体化しうる可能性が示唆された。

稿を終るにあたり、本研究について御指導と御援助をいただいた国立がんセンター内科の西條長宏博士に厚く御礼を申し上げます。なお、本論文の要旨は第 10 回日本臨床免疫学会総会 (1982. 6), 13th International Cancer Congress (Seattle, 1982. 9) において発表した。

文 献

- 1) Sone, S., Yata, K. and Tsubura, E.: Rebound phenomenon of phytohaemagglutinin skin reactivity in leukemia and malignant lymphoma after chemotherapy. *Gann*, 68, 483～490, 1977.
- 2) Herberman, R.B. and Holden, H.T.: Natural killer cells as antitumor effector cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, 62,

- 441~445, 1979.
- 3) Saijo, N., Shimizu, E., Irimajiri, N., Ozaki, A., Kimura, K., Takizawa, T. and Niitani, H.: Analysis of natural killer activity and antibody dependent cellular cytotoxicity in healthy volunteers and in patients with primary lung cancer and metastatic tumors. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 102, 195~214, 1982.
- 4) Saijo, N., Irimajiri, N., Ozaki, A., Shimizu, E. and Niitani, H.: Effects of BCG and ACNU on the cytostatic activity of macrophages in normal and tumor bearing rats. *Br. J. Cancer*, 42, 162~167, 1980.
- 5) 清水英治, 西條長宏, 渋谷昌彦, 滝沢妙子, 藤岡裕子, 星昭夫: Biological Response Modifier (BRM) による顆粒球抗腫瘍能の増強. *癌と治療*, 10, 2030~2035, 1983.
- 6) Shimizu, E., Saijo, N., Shibuya, M., Takizawa, T. and Hoshi, A.: The analysis of cytostatic activity of human peripheral blood granulocytes and its augmentation with *Nocardia rubra* cell wall skeleton (NCWS). *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 106, 130~135, 1983.
- 7) Habu, S., Fukumi, H., Shimamura, K., Kasai, M., Nagai, Y., Okumura, K. and Tamaoki, N.: In vivo effects of anti-asialo GM₁. I. Reduction of NK activity and enhancement of transplanted tumor growth in nude mice. *J. Immunol.*, 127, 34~38, 1981.
- 8) 尾崎彰, 西條長宏, 別府保男, 高橋健郎, 清水英治, 木又恵, 星昭夫: 抗癌剤による癌転移機構の解析. *癌と治療*, 11, 279~284, 1984.
- 9) Kiessling, R., Klein, E. and Wigzell, H.: Natural killer cells in mouse. I. Cytotoxic cells with specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.*, 5, 112~117, 1975.
- 10) Saijo, N., Irimajiri, N., Ozaki, A., Takizawa, T., Beppu, Y., Shibuya, M. and Shimizu, E.: Effect of BCG and cyclophosphamide on the spontaneous and antibody-dependent cell mediated cytotoxicity of peritoneal and spleen lymphocytes of ACI/N rats. *Gann*, 73, 270~277, 1982.
- 11) Talmage, J.E., Meyer, K.M., Prieur, D.J. and Starkey, J.: Role of NK cells in tumor growth and metastasis in beige mice. *Nature*, 284, 622~624, 1980.
- 12) Gorelik, E., Wiltrot, R.H., Okumura, K., Habu, S. and Herberman, R.B.: Role of NK cells in the control of metastatic spread and growth of tumor cells in mice. *Int. J. Cancer*, 30, 107~112, 1982.
- 13) Hanna, N. and Schneider, M.: Enhancement of tumor metastasis and suppression of natural killer cell activity by β -estradiol treatment. *J. Immunol.*, 130, 974~980, 1983.
- 14) Colin, G.B., Graham, R.F. and Neville, W.: Tumor cells in metastatic deposit with altered sensitivity to natural killer cells. *Int. J. Cancer*, 28, 191~198, 1981.
- 15) 渋谷昌彦, 西條長宏, 尾崎彰, 別府保男, 清水英治, 滝沢妙子, 星昭夫: 癌の転移形成における Asialo GM₁陽性細胞の役割. *癌と治療*, 10, 1781~1786, 1983.
- 16) Saijo, N., Ozaki, A., Beppu, Y., Takahasi, K., Fujita, J., Sasaki, Y., Nomori, H., Kimata, M., Shimizu, E. and Hoshi, A.: Analysis of metastatic spread and growth of tumor cells in mice with depressed natural killer activity by anti-asialo GM₁ antibody or anticancer agents. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 107, 157~163, 1984.
- 17) Saijo, N., Ozaki, A., Beppu, Y., Shibuya, M., Shimizu, E. and Hoshi, A.: Detailed analysis of artificial and spontaneous metastasis in mice with depressed natural killer activity by anti-asialo GM₁ antibody. *Proceedings of the International Symposium on Natural Killer Activity and Its Regulation, a Satellite Symposium of the 5th International Congress of Immunology, Kyoto, 1983-08, Excerpta Medica, Amsterdam*, p. 358~364, 1983.
- 18) Menon, M. and Stefani, S.S.: Lymphocyte mediated natural cytotoxicity in neoplasia. *Oncology*, 35, 63~67, 1978.
- 19) Eremin, O., Ashby, J. and Stephens, J.P.: Human natural cytotoxicity in the blood and lymphoid organs of healthy donors and patients with malignant disease. *Int. J. Cancer*, 21, 35~41, 1978.
- 20) Forbes, J.T., Niblack, G.D., Fuchs, R., Richie, R.E., Johnson, H.K. and Oldham, R.K.: Human natural cell-mediated cytotoxicity. I. Levels in peripheral blood, cord blood, and thoracic duct lymphocytes. *Cancer Immunol. Immunother.*, 11, 139~145, 1981.
- 21) Forbes, J.T., Greco, F.A. and Oldham, R.K.: Human natural cell-mediated cytotoxicity. II. Levels in neoplastic disease. *Cancer Immunol. Immunother.*, 11, 147~153, 1981.
- 22) Moore, M. and Potter, M.R.: Enhancement of human natural cell-mediated cytotoxicity by interferon. *Br. J. Cancer*, 41, 378~387, 1980.
- 23) Pross, H.F. and Baines, M.Q.: Spontaneous human lymphocyte-mediated cytotoxicity against tumor target cells. I. The effect of malignant disease. *Int. J. Cancer*, 18, 593~604, 1976.
- 24) 渋谷昌彦, 西條長宏, 清水英治, 谷口猛, 滝沢妙子, 藤岡裕子, 星昭夫: C-reactive protein による natural killer 活性の抑制. *癌と治療*, 10, 2341~2346, 1983.
- 25) Boyum, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 21(Suppl. 97), 77~89, 1968.
- 26) Hersh, E.M., Murphy, S.G., Quesada, J.R., Gutterman, J. U., Gschwind, C.R. and Morgan, J.: Effect of immunotherapy with corynebacterium parvum and methanol extraction residue of BCG administered intravenously on host defense function in cancer patients. *J. Natl. Cancer Inst.*, 66, 993~1002, 1981.
- 27) McCreddie, J.A., Macdonald, H.R. and Wood, S.B.: Effect of operation and radiotherapy on antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Cancer*, 44, 99~105, 1979.
- 28) Klein, E. and Vanky, F.: Natural and activated cytotoxic lymphocytes which act on autologous and allogeneic tumor cells. *Cancer Immunol. Immunother.*, 11, 183~188, 1981.
- 29) Collons, J.L., Patek, P.Q. and Cohn, M.: Tumorigenicity and lysis by natural killers. *L. Exp. Med.*, 153, 89~106, 1981.
- 30) Hanna, N.: Expression of metastatic potential of tumor cells in young nude mice is correlated with low levels of natural-killer cell-mediated cytotoxicity. *Int. J. Cancer*, 26, 675~680, 1980.
- 31) Hanna, N. and Fidler, I.J.: The role of natural killer

- cells in the destruction of circulating tumor emboli. J. Natl. Cancer Inst., 65, 801~809, 1980.
- 32) Hanna, N. and Burton, R.C.: Definitive evidence that natural killer (NK) cells inhibit experimental tumor metastasis in vivo. J. Immunol., 127, 1754~1758, 1981.
- 33) Gorelic, E. and Herberman, R.B.: Radioisotope assay for evaluation of in vivo natural cell-mediated resistance of mice to local transplantation of tumor cells. Int. J. Cancer, 27, 709~720, 1981.
- 34) Saijo, N., Shimizu, E., Shibuya, M., Irimajiri, N., Takizawa, T., Eguchi, K., Shinkai, T., Tominaga, K., Shimabukuro, Z., Taniguchi, T. and Hoshi, A.: Effect of chemotherapy on natural-killer activity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in carcinoma of the lung. Br. J. Cancer, 46, 180~189, 1982.
- 35) 尾崎彰, 西條長宏, 別府保男, 清水英治, 渋谷昌彦, 滝沢妙子: 7-N-(Phydroxyphenyl)-MMC のマウス脾細胞 NK 活性に及ぼす影響. 医のあゆみ, 125, 90~92, 1983.

(受付: 1986年7月1日)