悪性腫瘍の免疫学的狙撃化学療法

鈴 田 達 男

Jpn. J. Clin. Immun., 8(3) : 127~137, 1985.

Immunological targeting of malignant tumors

Tatsuo Suzuta

Department of Immunology and Serology, Tokyo Medical College

I. はじめに

悪性腫瘍の治療においてもっとも大きな問題点は、薬剤、アイソトープ、放射線などいずれにおいても感染症などの抗生物質療法と比べて正常細胞に対する感受性と腫瘍細胞に対するその比（安全域）が著しく小さいことである。したがってこれらによる抗腫瘍治療においては、1) できるだけ腫瘍細胞に高濃度に取り込まれる投与方法、2) 薬理学的効率の高い薬剤の開発、3) 目標以外の正常組織に対する毒性をできるだけ分散、低下させ、目標組織に対する集中的投与などの幾つかの工夫が必要とされる。たとえば持続的局所動脈内注入法は 1) の代表例であり、放射線の回転照射などは 3) の代表的な例であることは周知のとおりである。

一方最近の臨床免疫学の進歩により、従来ほとんど有効な排除機構の存在が明らかでなかった生体の免疫系が「免疫監視機構 (Immunological surveillance)」によって腫瘍の発生を見張っており、いったん not self の出現を認めると、細胞性免疫の働きによってその排除に当たっており、それらの監視から逃れた (escaped) 腫瘍が臨床的な腫瘍として発現してくることが明らかになった¹⁾。その応用により悪性腫瘍の免疫療法が開発され、幾つかのものはすでに臨床応用されている。

しかしそれらの大部分は BCG の例にみられるように非特異的な免疫増強効果を目標としたものであり、特異的に抗腫瘍免疫能を活動性にも受身にも高める試みは幾つか行われているが、いまだ十分な効果を期待しうる段階には到達していない。

ところで免疫反応の特性はその特異性にあり、その代

表的な例が古くから認められていた抗体である。しかし異種または同種動物で産生される抗体は腫瘍特異抗原以外の抗原決定基に対する抗体を圧倒的に多く含んでいる多クローン性の混合物であり、同系 (isologous) または患者自身の抗体はきわめてわずかな例外を除いて取得が困難である。

しかし Milstein らにより開発された細胞融合法を用いれば²⁾、手間と暇と資金を惜しみさえしなければ、理論的にはいかなる抗原決定基に対しても特異的な単クローン抗体を産生させる道が開け、幾つかの雑種細胞株の樹立が報告されている³⁾。

ところでこのようにお膳立てが整っても、破傷風やジフテリアのような抗血清療法の有効性を単独で期待することは困難と思われる。何となればこれらの毒素は体液中を自由に動き回れる「分子」であり、抗体が結合するのみで毒作用をただちに失うが、これに反し細胞を傷害するには補体やK細胞などの補助因子を必要とし、固形腫瘍の場合には表面の細胞は死滅しても内部まで効果が及ばず、旺盛な増殖に打ち消されてしまう可能性の方が高く、場合によっては抗体の結合により促進的に働く (enhancing antibody) ことさえあるからである⁴⁾。

そこで考えられたのが、なんらかの補助手段を利用して薬剤の腫瘍指向性を高めようとする試みである。この方法は targeting と呼ばれ⁵⁾、通常ミサイル療法などと訳されているが、私は狙撃療法という名前の方がより適訳だと考えているので以下この用語を用いることとした。

II. 狙撃療法の種類

まず狙撃療法のためには適当な担体 (carrier) が必

表 1 狙撃療法に用いられる担体

1) 被囊性担体	encapsulated carriers
a. 単純被囊性担体	simple encapsulated carriers
例	赤血球膜
	白血球膜
	リボソーム
	不溶化アルブミン
b. 複合被囊性担体	complex encapsulated carriers
例	磁性赤血球膜
	磁性体封入不溶化アルブミン
2) 結合性担体	conjugated carriers
例	アルブミン
	フィブリノーゲン
	ポリペプチド
	レクチン
	抗体

(文献 7) より出版社の許可を得て転載)

要である⁶⁾。この担体はその原理から、1) 被囊性担体 encapsulated carriers と 2) 結合性担体 conjugated carriers に、また前者はさらに、a. 単純被囊性担体 simple encapsulated carriers と b. 複合被囊性担体 complexed encapsulated carrier に分けられる⁷⁾。前者は赤血球膜⁸⁾やリボソーム⁹⁾のように細胞膜または類似のものを利用するものと、アクリルアミド¹⁰⁾や不溶化アルブミン¹¹⁾のように重合その他の方法で固定化する水溶性の物質に溶解させておいた薬剤を閉じこめる方法の 2 つがある (表 1)。

b はこれに何らかの指向性を与えるために第 3 の物質を包含させたもので、主として用いられるのは磁性体である¹²⁻¹⁴⁾。

これに対し 2) は主として化学結合によって薬剤と担体とを結合させたもので、アルブミン¹⁵⁾、フィブリノーゲン¹⁶⁾などの生体内に存在するたんぱく質のほか、レクチン¹⁸⁾、ホルモン、ウイルスの envelope などが用いられている¹⁹⁾。

III. 狙撃療法に用いられる担体 要求される特性

それではこれらの担体はどんな性質をもつことが必要かといえ^{12,6)}。

- 1) いろいろな種類の薬剤を多量に包含しうること
- 2) 担体と結合または包含によって薬剤の潜在活性を損なわないこと
- 3) 正常の体細胞に対し毒性がないこと
- 4) それ自体、または薬剤と結合させたときに抗原性がないこと

図 1 免疫狙撃療法の原理的分類
(文献 7) より出版社の許可を得て転載)

- 5) 目的とする腫瘍に到達するまでに途中での薬剤の損失ができるだけ少ないこと
- 6) 薬剤を運ぶ途中で生体の酵素作用をうけて崩壊してしまわぬこと
- 7) 生体の食食細胞自身が目標でない限りそれに取り込まれないこと
- 8) 生体内に均一に分布しうるに十分なほど小さいこと
- 9) 毛細血管を通過しうること
- 10) 目標細胞に到達したらなるべく早く、かつ十分に薬剤を放出しうること
- 11) 薬剤放出後はなるべく早く分解して体外に排出されうること

こんなに難しい条件をすべて満足した担体はこの世の中に存在しない。しかしこれらの一つが欠けても人体への適用はできない。

IV. 免疫学的狙撃療法

そこで担体に抗体を結合させるか、または抗体を担体として用いれば、両者の長短を補い合ってより有効な抗腫瘍療法(免疫狙撃療法, immunological targeting)の開発が可能となる。Leserman らは原理的にこれを5つに分類している(図1)。

第1は図1Aに示すようにあらかじめ腫瘍細胞と薬剤を含むリポソームに同じハプテンを導入しておき、これと対応する抗体とともに投与すると、抗体を介して抗原と結合した薬剤が交差反応して腫瘍細胞に結合しうる⁶⁾。

第2の方法は腫瘍細胞の産生する抗体を利用するもので、彼らは MOPC 315 細胞(dinitrophenyl 基に対する単クローン抗体を産生する骨髓腫)に対応する抗原(DNP)をあらかじめ薬剤、蛍光色素を含ませたリポソーム担体に導入しておき、腫瘍細胞と反応させることにより MOPC 315 上に斑点状にリポソームが結合したことを報告している^{20,21)}。この方法は抗体産生能力のない細胞には適用不可能であるから、利用が限定されるが、骨髓腫の場合に対応する抗原が明らかにされれば患者自身の単クローン抗体を用いて免疫学的狙撃が可能である点が最大の利点といえる。

第3の方法は Fc 受容体を利用するもので、図1Cに示すように Fc 受容体をもつ P 388D1 株を用い、上記のように蛍光色素と薬剤を含むリポソームに DNP を結合させ、対応する抗体を結合させて免疫複合体を作り、腫瘍細胞と反応させたと、蛍光が細胞表面のみならず、食食されて細胞質内にも認められ、³H で標識した deoxyuridine の取り込みの減少がみられたことから、抗腫瘍効果を確認している。ただしこの方法は前記骨髓腫の場合と異なり、臨床応用は期待できない。なぜならば患者体内においても Fc 受容体をもつ細胞はきわめて多く存在し、Fc 受容体に特異性がないからである。

今日もっとも普通に免疫学的狙撃療法と考えられているのは第4の方法で、腫瘍細胞に対する特異的抗体を直接薬剤、または薬剤を含む担体に結合させ、腫瘍に働かせる原理にもとづく。この歴史は古く今世紀初頭すでに Ehrlich²³⁾ によって記され、1958 年 Mathé ら²⁴⁾ により実験的に行われた。すなわち彼らはネズミの L1210 細胞でハムスターを免疫して得た抗血清と amethoptesin とを結合させたものを生体に投与し、抗体の代わりに正常動物のグロブリンと同じ薬剤との結合物を注入した対照に比し有意な生存延長を報告している。ただしこの時代にはまだ腫瘍特異抗原の概念が確立していなかったから、彼らの用いた抗体には allo または xeno 抗体がか

なり含まれていたと推定されるので、その点を割り引きして考える必要があるが、原理的にはまったく同じである。もちろん薬剤の代わりに放射性同位元素を用いることも可能で、この目的のためには ¹²⁵I がよく用いられる⁴³⁾。

異種抗体は生体に投与した場合、血清病のおそれがあるので、ペプシン分解によって Fc 部分を除いておくことがすすめられる。Koji ら²⁵⁾は α -fetoprotein に対するウマの異種抗体を酵素分解して F(ab')₂ とし、rat のヘパトーマのほか、手術不能の癌患者で人体実験を行い、血中 AFP の低下を認めている。

この免疫化学療法で薬剤としていろいろな抗癌剤が用いられるがそれらをまとめて表2に示す。

第5の方法は一種のキメラ抗体であって、抗体-毒素ハイブリッドと呼ばれる。最近の毒素の化学構造の解明の進歩につれて、毒素は細胞と結合する部分と、毒性を発揮する部分の2つから成ることが知られているので、後者の部分に抗体の全分子、F(ab')₂、あるいはメルカプトンで処理した半分子を結合させたものである^{39-41,45-51)}。

V. 免疫狙撃療法の問題点

このようにみると、本法は結構づくめのように思えるが、幾つかの問題点がある。第1は抗体そのものである。動物実験の場合なら同系 isologous の抗体を得ることはそれほど問題はないが、さきに述べたとおり狙撃療法に用いられる抗体は、i) 腫瘍に特異的で、生体の正常組織細胞と交差反応を呈しないこと、および ii) 生体にとって異類でないことの2つが要求される。第1の点は単クローン抗体を用いることによりほとんど解決され、ii) の点もマウスを実験動物として用いる場合には問題はない。しかしヒトに適用する場合にはヒトの抗体でなければならないので、ヒトの適当な酵素欠損骨髓腫細胞(partner cell)が必要である。現在数種の融合用の細胞株が開発されているが、まだマウスのものほど普及していない。しかし抗体に関しては原理的に障害はないといえる。

第2の問題点は適当な担体の選択である。Trouet ら¹⁹⁾はリポソーム、DNA、およびウシ血清アルブミン(BSA)をダウノルビシン(DNR)アントラサイクリンおよびビンクリスチンと結合または包含させ、マウスの腹腔内に接種された L1210 に投与して比較したところ、もっともよい成績をあげたのは DNA で、とくに DNA-アントラサイクリンは結合させるのが容易で、結合によって心に対する取り込みが遊離の薬剤より小となり、患者への臨床応用でも著明な毒性の減少を認めたという。ただし

表 2 免疫狙撃療法において抗体と結合させる細胞障害物質

薬 剤	文 献
Chlorambucil	Davies and O'Neill ²⁶⁾ , Ghose et al. ^{27,28)} Flechner ²⁹⁾ , De Weger et al. ³⁰⁾
Trenimon	Linford et al. ³¹⁾
Methotrexate	Mathe et al. ²⁴⁾ , Rowland et al. ³²⁾
Melphalan	Rowland et al. ³²⁾
Cyclophosphamide	Israels and Linford ³³⁾
Daunomycin	Arnon ³⁴⁾ , Arnon and Sela ³⁵⁾ Tsukada et al. ³⁶⁾
Daunorubicin	Hurwitz et al. ³⁷⁾
Adriamycin	Hurwitz ³⁸⁾ , Arnon ³⁴⁾
Diphtheria toxin	Moolten et al. ³⁹⁾ Ross et al. ⁴⁰⁾ Masuho et al. ⁴¹⁾
Enzyme	Philpott et al. ⁴²⁾
Radioisotopes	Ghose et al. ⁴³⁾ Ghose and Guclu ⁴⁴⁾ Koji et al. ²⁵⁾
Ricin	Vitetta ⁴⁵⁾ Raso and Griffin ⁴⁶⁾ Miyazaki et al. ⁴⁷⁾ Youle and Neville ⁴⁸⁾ Krolick et al. ⁴⁹⁾
Hybrid molecule	Masuho and Hara ⁵⁰⁾ Blythman et al. ⁵¹⁾

(文献 7) より出版社の許可を得て転載)

この方法は DNA と親和性をもつ薬物に対象に限られること、ならびに結合物の流血中での安定性が低いことの 2 つが欠点であるが、後者はアントラサイクリンの誘導体を作製することによりダウノルビシンよりも 5~10 倍も親和性の高い薬剤が得られるので解決可能であるという。これに反してリポソームは多層、1 層、陽性荷電、陰性荷電のものなどいろいろの種類のもを作り検討を行ったが生存率、生存延長日数、体重のいずれにおいても対照の薬剤単独投与と差がなく、もっとも不成績であった。その理由として血中での不安定性も多少は関与するが、主な原因は腫瘍に作用する前にこれらの薬剤包含リポソームが肝、脾、肺に高率に取り込まれるためであるという。

興味があるのはアルブミンと結合させた場合で、ダウノルビシン (DNR) を BSA にカルボジイミドで結合させるとき、直接結合させたのではライソゾーム酵素で切ったとき DNR をまったく遊離しないが、アミノ酸 1 個をスペーサーとして介して結合させると約 10%, アミノ酸 2, 3, 4 個から成るオリゴペプチドをスペーサーとし

て用いると、それぞれ約 24, 40, 80% に高まることを明らかにしている。

一般的にいうならば、被囊性担体は 5), 6), 7), 9) に問題があり、結合性担体はこれに反して 1), 2), 4), 10) に問題がある。とくにハプテンである薬剤を結合させることにより抗原性を与えてしまうことはもっとも大きな欠点であり、また両者とも腫瘍に対する特異的傷害性は幾つかの例外を除けば満足すべき状況ではなかった。

VI. 免疫ラテックス

ラテックスは元来はゴムの木の樹皮に傷をつけたときに流出する樹液を濃縮した、粘性の強い白色に乳濁した液で、天然ゴムの原料として用いられるもの (天然ラテックス) を指したが、現在では人工的に合成された高分子プラスチックの均一な懸濁液を指す語に転用されている。

重合に用いるモノマーによって、ポリマーの性質は変わるの一口にラテックスといっても組成からみると何

図 2 抗原解離による受身凝集反応の妨害

種類があるが、今日もっとも広く免疫学のうえで用いられているのはポリスチレンラテックスである。

周知のようにこれはリウマチ因子の検出を始め多くの受身凝集反応の担体として用いられているが、これは、④ それ自身で血清学的な活性がなく、⑤ 非特異的凝集を起こさず、⑥ 抗原と強固に結合し、抗原性に变化を与えず、⑦ 粒子径が均一で、⑧ 比重がほぼ 1.3 で媒質のそれと近く、⑨ 化学的に安定で保存に耐えることなどの望ましい性質を備えているためであるが、表面に抗原を結合するのに物理的吸着によっているので、図 2 に示すように解離と吸着とは平衡関係を保っているので、場合によっては解離する可能性がある。そうすると、i) 解離した抗原が抗体を中和する、ii) 解離により担体表面の抗原が減少する、の 2 つの理由で凝集を妨げる。

そこでこの欠点をなくすためには、化学的に強固な結合で抗原と結びつけられる粒子の出現が期待されるようになった。最近の高分子化学の進歩により、粒子の表面に複数の化学的官能基を保有させたラテックスの出現はこの要望を満たし、各種の抗原または抗体を結合させるとともに、他の官能基を介して蛍光物質、アイソトープ、薬剤などを結合させた bifunctional な粒子の作製を可能にした。

また免疫学の興味を中心も従来の流血中の抗体の検索を中心とした体液性免疫から、リンパ球や大食細胞などの細胞の表面マーカーの検索やその分離、機能の検査に

次第に転換しつつある。Bifunctional なラテックスはこのためにもっとも有効な道具となることが Rembaum らによって示され、Immunolatex と名付けられた^{52,53)}。

VII. 免疫ラテックスの作製

ラテックスは一般に乳化重合 (emulsion polymerization) によって作られる。免疫ラテックスはこの際に 1 種類のモノマーでなく、同系の化合物を何種か共重合させる。もっともよく用いられるメタアクリレート系の免疫ラテックス作成の処方方を例としてあげると⁵⁴⁾、

methylemethacrylate (MMA)	18.24 g
methacrylic acid (MAA)	3.2 g
2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)	9.6 g
ethyleneglycoldimethacrylate (EGD)	0.96 g
蒸留水	168 g
ドデシルベンゼンスルホン酸	97 mg
ナトリウム (SDBS)	
過硫酸アンモニウム	20 mg

以上の精製した原料を四ツ口フラスコにとり、空気を窒素で置換する。MMA は主剤で、MAA は COOH を、HEMA は OH を保有させる役割を果たしている。常温のまま約 1 時間攪拌し均一な乳濁液とし、徐々に加温しフラスコ内の温度を 96°C に上げ、1 時間反応させる。十分反応が進行したら攪拌、加温を止め、水蒸気蒸留を行い、未反応のモノマーを追出し、内容を濾紙で濾過

表 3 界面活性剤量の変化が免疫ラテックスの性状に与える影響

番号	SDBS (mg)	収率 (%) ラテックス	直径 (Å)	比重 (g/cm ³)	-COOH (基数/粒子×10 ⁻³)	-COOH (基数/10 ³ Å ²)
1	194	99	750	1.07	15	2.8
2	97	99	1,000	1.02	21	3.5
3	65	97	1,180	1.22	26	6.0
4	49	94	1,600	1.16	32	4.0
5	38	98	3,500	1.21	180	4.7

(文献 54) より出版社の許可を得て転載)

図 3 免疫ラテックスのたんぱく質の結合

(文献 54) より版権者の許可を受けて転載)

し、アモルファスな残留物を除き、10,000 rpm で 20 分遠心して上清を除き蒸留水を加えて洗浄し、この操作を 3 回繰り返して洗う。この操作により界面活性剤、触媒などを十分除いておく。最後の遠心後は一定量の蒸留水に懸濁して保存する⁵⁵⁾。

VIII. その他の官能基をもつ Immunolatex の合成

Na-styrenesulfonate と styrene との共重合⁵⁵⁾、あるいは polybenzylchloride ラテックスを Na-sulfite で処理することにより強い酸性基をもたせたり、または両性(酸性基と塩基性基をもつもの)⁵⁷⁾あるいは抗菌作用、抗真菌作用をもつもの⁵⁸⁾、抗凝血作用をもつもの⁵⁹⁾なども同様にして合成される。直径は界面活性剤の量を加減することにより 700 Å から 3,500 Å までの間で任意の大きさとすることができる⁵⁴⁾(表 3)。またシード重合をさせることによりそれ以上の粒子を作ることにも可能である。

IX. 免疫ラテックスへの抗原または抗体の結合

抗体と Immunolatex とを結合させるには 2 つの官能基のいずれか一方、たとえば -OH を CNBr で活性化するか、-COOH をカルボジイミドで -NH₂ と結合させる。この際直接抗体を結合させるよりも ε-アミノカプロン酸 (ACA)、またはジアミノヘプタン (DAH) などのようなスパーサーを介して結合させる方があとの効率がはるかによいことが知られている。1 例としてわれわれの ACA を用いる方法を略述する⁵⁴⁾(図 3)。

50 mg/ml の免疫ラテックス粒子懸濁液 4 ml をビーカーにとり、スターラーで攪拌しつつ 5 mg の ε-ACA と 20 mg の EDC を加える。pH を 7.0 とし、4°C で 2 時間攪拌し、反応終了後透析チューブに入れ、0.1 M NaCl に対し一晩透析する。ついで 10,000 rpm で 20 分遠心分離し、沈渣を 5 ml の 0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) に浮遊させ、粒子 50 mg に対してたんぱく 15 mg を加え、10°C、5 時間攪拌しながら反応させ、

表 4 免疫ラテックスに対するヒト IgG の結合

添加した ヒト IgG (mg)	結合されたヒト IgG (mg/100mg ラテックス粒子)		
	スペーサー		CNBrによる 直接結合
	ϵ -ACA	DAH	
10	6.8	8.2	—
20	11.0	16.0	—
30	15.6	15.2	—
40	19.4	30.0	—
50	—	—	45.6

(文献 54) より出版社の許可を得て転載)

12,000 rpm, 20 分遠心して 3 回洗浄し, 0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 2% 懸濁液とする。

このようにしてヒト IgG を Immunolatex に結合させた成績を表 4 に示す。これから結合量のみでみると CNBr 法がもっとも効率がよいが, あとの抗体としての働きを得るにはスペーサーを用いた方が有効である。また ϵ -ACA よりも diaminoheptane の方が結合量は多かった。

このほかに N-hydroxysuccinimide を用いる方法は, 免疫 latex と結合させた中間体が dioxane 中できわめて安定であるので, 長期間保存に便利である⁶⁰⁾。もし SH 基を解離させることができると 5-5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) で結合させることができる⁴⁷⁾。

グルタルアルデヒドまたはエチルクロロホルレートなどの bifunctional な薬剤を用いることも可能である⁶¹⁾。

X. 免疫ラテックスの応用

このようにして感作された免疫ラテックスは従来の単純ラテックスが食食機能の測定と受身凝集反応の担体くらの用途しかなかったのに対してはるかに広い応用が開けている。

その第 1 は免疫吸着剤としての使用で, セファロースなどの大きな粒子に比して免疫ラテックスは粒子がはるかに小さいので同一重量当たりの表面積ははるかに大で, したがって粒子の重量当たりの抗原または抗体の結合量が大きく, また結合の方法も -OH のみでなく -COOH も利用できるのも, それだけ適用範囲が広くなる。

第 2 の免疫ラテックスの有効な用途は細胞表面の抗原分布の形態学的観察で, 走査電子顕微鏡によって立体的に観察できるし, また超薄切片の作製などの特別な手技

を必要としない。この方法は Rembaum らにより B 細胞上の免疫グロブリンの検出⁶³⁾やわれわれによる T 細胞上の E レセプターの検出⁶²⁾に応用された。

その他この免疫ラテックスの中に蛍光色素や磁性体を含ませることによって効率の高い蛍光抗体法の開発や特異的な細胞分画法も可能となる⁶³⁾。

これらの用途の外に免疫ラテックスは上記のように 2 つの化学的官能基をもっているのも一方に特異的抗体を, 他方に薬剤を結合させることにより狙撃療法の有力な担体候補として脚光を浴びつつある。事実免疫ラテックスは前記の担体としての必要条件のかなりの部分を満たしている。また重合条件や素材を変えることにより大きさ, 荷電, 表面の性状, 官能基の種類, 数を自由に選べるので, 今後この方面での合成化学と characterization の進歩が望まれる。

すなわち, III の諸条件のうち, 1), 2), 3), 5), 6), 8), 10) は問題なく, 9) の毛細血管も大きさを加減すれば十分可能性がある。たとえば Le Fevre ら^{64, 65)}は経口投与したラテックスが腸管膜付属リンパ節のみならず, 肺にまで到達したことを報告している。

もっとも大きな問題点は 7) の食食細胞に取り込まれることと, 11) の易分解性であろう。

しかし食食には粒子径が大きく関与することが知られており, Roberts ら⁶⁶⁾は 0.088 μ から 28 μ までの大きさを異にするポリスチレンラテックスのモルモット多形核白血球への取り込みを検討した結果, 0.264 μ から 3.04 μ までの粒子はよく取り込まれるが, この範囲を外れたもの (0.0088 μ 以下, 7 μ 以上) は食食も受けず, 細胞の酸素消費も充進させないことを明らかにしている。したがって粒径を適度を選ぶことにより, 標的細胞に到達前に食食細胞によって除かれるおそれは回避可能である。

もう一つの易分解性については, ラテックスはこれまで他のプラスチックと同様に化学的に安定で変化を受けないと考えられていたが, Sjöholme ら⁶⁷⁾はアクリルアミドの粒子についてアイソトープを用いた実験で半減期はきわめて長い (肝では 10~14 週, 脾では 15~24 週) が, 異化をうけて崩壊していることを明らかにしている。適当な素材を選ぶことによって解決の道が開かれる可能性は多分にある。

これ以外の問題点としてはポリスチレンラテックスはアジュバント作用をもつ⁶⁸⁾ことがあげられる。したがって実際に臨床的に応用されるためには多くの検討が必要であるが, 人工的に性状を変えうる点に Immunolatex の最大の特徴があるので, アジュバント活性のない粒子

の作製は決して不可能ではないと思われる。

XI. ま と め

抗体の特異性と、抗腫瘍薬剤を組み合わせた新しい免疫学的狙撃療法の原理と現状を紹介し、担体として有望視されている免疫ラテックスについてその長所とともに問題点を含めて略述した。他の多くの分野と同様、合成化学者、物理化学者と基礎、臨床医学者の緊密な協力によって今後の発展が期待される。

文 献

- 1) Burnet, F.M. : The concept of immunological surveillance. *Prog. Exp. Tumor Res.*, 13 : 1, 1970.
- 2) Köhler, G., Milstein, C. : Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature (Lond.)*, 256 : 495, 1975.
- 3) Carrel, S., Accolla, R.S., Gross, N. et al. : Human melanoma-associated antigens identified by monoclonal antibodies. in *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridoma Perspectives and Technical Advances*. Hämmerling, G.J., Hämmerling, Y., Dearney, J.F., Eds., Elsevier, Amsterdam, 1981, 183.
- 4) Kaliss, N. : Immunological enhancement of tumor homografts in mice. A review. *Cancer Res.*, 18 : 992~1003, 1958.
- 5) Leserman, L.D. : Immunologic targeting of liposomes. in *Liposomes, Drugs and Immunocompetent Cell Functions*, Nicolau, C. and Parat, A., Eds., Academic Press, London, 1981, 109.
- 6) Trouet, A. : Increased selectivity of drugs by linking to carriers. *Eur. J. Cancer*, 14 : 105, 1978.
- 7) Suzuta, T. : Therapeutic and Diagnostic Applications of Latex Bound Immunoglobulins. in *Controlled Drug Delivery* (Bruck, S.D., ed.) II. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1983, pp. 149~188.
- 8) Tyrrell, D.A., Ryman, B.E. : The entrapment of therapeutic agents in resealed erythrocyte 'ghosts' and their fate *in vivo*. *Biochem. Soc. Trans.*, 4 : 677, 1976.
- 9) Gregoriadis, G. : The carrier potential of liposomes in biology and medicine. I. *N. Engl. J. Med.*, 295 : 704, 1976.
- 10) Couvreur, P., Kante, B., Roland, M., Speiser, P. : Adsorption of antineoplastic drugs to polyalkyl cyanoacrylate nanoparticles and their release in calf serum. *J. Pharm. Sci.*, 68 : 1521, 1979.
- 11) Szymendera, J., Mioduszevska, O., Licinska, E., Czarnomska, A., Lucka, B. : Pathologic changes in the lungs of mice following injection of human albumin microspheres. *J. Nucl. Med.*, 18 : 478, 1977.
- 12) Widder, K.J., Senyei, A.E., Ranney, D.F. : Magnetically responsive microspheres and other carriers for the biophysical targeting of antitumor agents. *Adv. Pharmacol. Chemother.*, 16 : 213, 1979.
- 13) Widder, K., Flouret, G., Senyei, A. : Magnetic microspheres : synthesis of a novel parenteral drug carrier. *J. Pharm. Sci.*, 68 : 79, 1979.
- 14) Morimoto, Y., Sugibayashi, K., Okumura, M., Kato, Y. : Biomedical applications of magnetic fluids. I. Magnetic guidance of ferro-colloid-entrapped albumin microsphere for site specific drug delivery *in vivo*. *J. Pharm. Dyn.*, 3 : 264, 1980.
- 15) Galmoni, P.G., Minia, A., Grossi, M.P., Barbanti-Brodano, G., Mattioli, A., Fiume, L. : Activity of albumin conjugates of 5-fluorodeoxyuridine and cytosine arabinoside on poxviruses as a lysosomotropic approach to antiviral chemotherapy. *Nature (Lond.)*, 264 : 181, 1976.
- 16) Szeckerke, M., Wade, R., Whisson, M.E. : Use of macromolecules as carriers of nitrogen mustards with proteins. I. Conjugates of nitrogen mustards with proteins, polypeptidyl proteins and polypeptides. *Neoplasma*, 19 : 199, 1972.
- 17) Wade, R., Whisson, M.E., Szeckerke, M. : Some serum protein nitrogen mustard complexes with high chemotherapeutic selectivity. *Nature (Lond.)*, 215 : 1303, 1967.
- 18) Kitao, T., Hattori, K. : Concanavalin A as a carrier of daunomycin. *Nature*, 265 : 81, 1977.

- 19) Trouet, A., Baurain, R., Deprez-De Campe-neere, D., et al. : DNA, liposomes, and proteins as carriers for antitumoral drugs. Recent Result Cancer Res., 75 : 229, 1980.
- 20) Leserman, L.D., Weinstein, J.N., Blumenthal, R., et al. : Binding of antigen-bearing fluorescent liposomes to the murine myeloma tumor MOPC 315. J. Immunol., 122 : 585, 1979.
- 21) Leserman, L.D., Weinstein, J.N., Moore, J.J., et al. : Specific interaction of myeloma tumor cells with haptenbearing liposomes containing methotrexate and carboxyfluorescein. Cancer Res., 40 : 4968, 1980.
- 22) Leserman, L.D., Weinstein, J.N., Blumenthal, R., et al. : Receptor-mediated endocytosis of antibody-opsonized liposomes by tumor cells, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 77 : 4089, 1980.
- 23) Ehrlich, P. : A general review of the work in immunity, in Collected Papers of Paul Ehrlich, Vol. 2, Pergamon Press, London, 1956, 442.
- 24) Mathé, G., Loc, T.B., Bernard, J. : Effect sur la leucémie 1210 de la souris d'une combinaison par diazotation d'A-méthoptérine et de γ -globulines de hamsters porteurs de cette leucémie par hétérogreffe. C.R. Acad. Sci., 246 : 1626, 1958.
- 25) Koji, T., Ishii, N., Munehisa, T., et al. : Localization of radioiodinated antibody to α -fetoprotein in hepatoma transplanted in rats and a case report of α -fetoprotein antibody treatment of a hepatoma patient. Cancer Res., 40 : 3013, 1980.
- 26) Davies, D.A.L., O'Neill, G.J. : *In vivo* and *in vitro* effects of tumour specific antibodies with chlorambucil. Br. J. Cancer, 28 : 285, 1973.
- 27) Ghose, T., Path, M.R.C., Higam, S.P. : Antibody as carrier of chlorambucil. Cancer, 29 : 1398, 1972.
- 28) Ghose, T., Norvell, S.T., Guclu, A., et al. : Immunochemotherapy of cancer with chlorambucil-carrying antibody. Br. Med. J., 3 : 495, 1972.
- 29) Flechner, I. : The cure and concomitant immunization of mice bearing Ehrlich ascites tumors by treatment with an antibody-alkylating agent complex. Eur. J. Cancer, 9 : 741, 1973.
- 30) De Weger, R.A., Dullens, H.F.J., Otter, W.D. : Eradication of murine lymphoma and melanoma cells by chlorambucilantibody complexes. Immunol. Rev., 62 : 29, 1982.
- 31) Linford, L.H., Frosse, G., Berczi, I., et al. : An alkylating agent-globulin conjugate with both alkylating and antibody activity. J. Natl. Cancer Inst., 52 : 1665, 1974.
- 32) Rowland, G.F., Davies, D.A.L., O'Neill, G.J., et al. : Specific cancer therapy by drugs synergising with or attached to tumor-specific antibodies: experimental background and clinical results. in Immunotherapy of Malignant Diseases, Rainer, H., Ed., Schattauer, Stuttgart, 1978, 316.
- 33) Israels, L.G., Linford, J.H. : Some observations on the reactions of chlorambucil, azo-mustard (CB 1414), and cyclophosphamide. Can. Cancer Conf., 5 : 399, 1963.
- 34) Arnon, R. : Anti-tumor antibodies as carriers for anticancer drugs. in Tumor-Associated Antigens and Their Specific Immune Response, Spreafico, F. & Arnon, R., Eds., Academic Press, New York, 1979, 287.
- 35) Arnon, R., Sela, M. : *In vitro* and *in vivo* efficacy of conjugates of daunomycin with anti-tumor antibodies. Immunol. Rev., 62 : 5, 1982.
- 36) Tsukada, Y., Bischof, W.K.D., Hini, N., et al. : Effect of a conjugate of daunomycin with antibodies to rat α -fetoprotein on the growth of α -fetoprotein-producing tumor cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78 : 621, 1982.
- 37) Hurwitz, E., Wilchek, M., Pitha, J. : Soluble molecules as carriers for daunorubicin. J. Appl. Biochem., 2 : 25, 1980.
- 38) Hurwitz, E., Levy, R., Maron, R., et al. : The covalent binding of daunomycin and adriamycin to antibodies with retention of both drug and antibody activities. Cancer Res., 35 : 1175, 1975.
- 39) Moolten, F.L., Schreiber, B.M., Zajdel, S.H. : Antibodies conjugated to potent cytotoxins as

- specific antitumor agents. *Immunol. Rev.*, 62 : 47, 1982.
- 40) Ross, W.C.J., Thorpe, P.E., Cumber, A.J., et al. : Increased toxicity of diphtheria toxin for human lymphoblastoid cells following covalent linkage to anti-(human lymphocyte) globulin or its F(ab')₂ fragment. *Eur. J. Biochem.*, 104 : 381, 1980.
  - 41) Masuho, Y., Hara, T., Noguchi, T. : Preparation of hybrid of fragment Fab' of antibody and fragment A of diphtheria toxin and its cytotoxicity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90 : 320, 1979.
  - 42) Philpott, G.W., Bower, R.J., Parker, C.W. : Selective iodination and cytotoxicity of tumor cells with an antibody-enzyme conjugate. *Surgery*, 74 : 51, 1973.
  - 43) Ghose, T., Cerni, J., Carter, M., et al. : Immunoradioactive agent against cancer. *Br. Med. J.*, 1 : 90, 1967.
  - 44) Ghose, T., Guclu, A. : Cure of a mouse lymphoma with radioiodinated antibody. *Eur. J. Cancer*, 10 : 787, 1974.
  - 45) Vitetta, E.S., Krollick, K.A., Uhr, J.W. : Neoplastic B cells as targets for antibody-ricin A chain immunotoxins. *Immunol. Rev.*, 62 : 159, 1982.
  - 46) Raso, V., Griffin, T. : Specific cytotoxicity of a human immunoglobulin-directed Fab'-ricin A chain conjugate. *J. Immunol.*, 125 : 2610, 1980.
  - 47) Miyazaki, H., Beppu, M., Terao, T., et al. : Preparation of antibody (IgG)-ricin A-chain conjugate and biologic activity. *Gann*, 71 : 766, 1980.
  - 48) Youle, R.J., Neville, D.M.Jr. : Anti-Thy 1.2 monoclonal antibody linked to ricin is a potent cell-type-specific toxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77 : 5483, 1980.
  - 49) Krollick, K.A., Villemez, C., Isakson, P., et al. : Selective killing of normal or neoplastic B cells by antibodies coupled to the A chain of ricin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77 : 5419, 1980.
  - 50) Masuho, Y., Hara, T. : Target-cell cytotoxicity of a hybrid of Fab' of immunoglobulin and A-chain of ricin. *Gann*, 71 : 759, 1980.
  - 51) Blythman, H.E., Casellas, P., Gros, O., et al. : Immunotoxins: hybrid molecules of monoclonal antibodies and a toxin subunit specifically kill tumour cells. *Nature (Lond.)*, 290 : 145, 1980.
  - 52) Rembaum, A., Dreyer, W.J. : Immunomicrospheres: Reagents for cell labeling and separation. *Science*, 208 : 364, 1980.
  - 53) Molday, R.S., Dreyer, W.J., Rembaum, A., et al. : New Immunolatex spheres: visual markers of antigens on lymphocytes for scanning electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 64 : 75, 1975.
  - 54) Marumoto, K., Suzuta, T., Noguchi, H., et al. : Synthesis and properties of polymeric latex particles and their conjugates with human immunoglobulin G. *Polymer*, 19 : 867, 1978.
  - 55) 鈴田達男, 丸本一彰 : Immunolatex 法, 免疫実験操作法B. 日本免疫学会編. 1974, pp. 1124~1128.
  - 56) Furusawa, K., Norde, W., Lyklema, J. : A method for preparing surfactant-free polystyrene latices of high surface charge. *Kolloid Z.Z. Polym.*, 250 : 908, 1972.
  - 57) Homola, A., James, R.O. : Preparation and characterization of amphoteric polystyrene latexes. *J. Colloid Interface Sci.*, 59 : 123, 1977.
  - 58) Rembaum, A. : Biological activity of ionene polymers. *Appl. Polymer Symp.*, 22 : 299, 1973.
  - 59) Ferruti, P., Arnoldi, D., Antonietta, M., et al. : Synthesis and properties of new potentially nonthrombogenic polymer materials. *J. Polymer Sci.*, 15 : 2151, 1977.
  - 60) Cuatrecasas, D., Parikh, I. : Adsorbents for affinity chromatography. Use of N-hydroxy-succinimide esters of agarose. *Biochemistry*, 11 : 2291, 1972.
  - 61) Monsan, P., Puzo, G., Magarguil, H. : Study of the mechanism of glutaraldehyde-protein bond formation. *Biochimie*, 57 : 1281, 1975.
  - 62) 丸本一彰 : Eロゼット現象の解析, 東医大誌, 40 (6) : 789~806, 1982.

- 63) 鈴田達男, 浅倉英樹: Immunolatex の設計並びに医学的応用の研究. 文部省特定研究, 多相系生医学材料の設計に関する研究, 昭和 59 年度研究成果報告書, 1984, pp. 167~169.
  - 64) Le Fevre, M.E., Hancock, D.C., Joel, D.D.: Intestinal barrier to large particulates in mice. J. Toxicol. Environ. Health, 6: 691, 1980.
  - 65) Le Fevre, M.E., Vanderhoff, J.W., Laissue, J.A., et al.: Accumulation of 2- μ m latex particles in mouse Peyer's patches during chronic latex feeding. Experientia, 34: 120, 1978.
  - 66) Roberts, J., Quastel, J.H.: Particle uptake by polymorphonuclear leukocytes and Ehrlich ascites-carcinoma cells. Biochem. J., 89: 150, 1963.
  - 67) Sjöholm, I., Edman, P.: Acrylic microspheres *in vivo*. I. Distribution and elimination of polyacrylamide microparticles after intravenous and intraperitoneal injection in mouse and rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., 211: 656, 1979.
  - 68) Van Oss, C.J., Singer, J.M., Gillman, C.F.: The influence of particulate carriers and of mineral oil in adjuvants on the antibody response in rabbits to human gamma globulin. Immunol. Commun., 5: 181, 1976.
-