有機ゲルマニウム Ge-132 によるヒトマクロファージ HLA-DR 抗原ならびに IgG-Fc レセプター発現の増強

花海 清・熊谷勝男*

Augmentation by an organic germanium compound Ge-132 of HLA-DR antigen- and IgG-Fc receptor-expression on human macrophages Carboxyethylgermanium sesquioxide, Ge-132 was investigated for its effect on the expression of HLA-DR antigens or IgG-Fc receptors (FcRI) on human peripheral blood monocytes and a human myelogenous leukemia cell line U937 in culture. Ge-132, when added in the cultures of either purified peripheral monocytes or U937 cells, did not produce any significant effect on expression of either HLA-DR antigens or FcRI on the cell. The peripheral blood mononuclear cells (PBMC) when being incubated with Ge-132 (800 $\mu\text{g/ml}$), however, produced a factor inducing augmentation of HLA-DR and FcR expression on the monocytes or U937. Pretreatment of this PBMC culture fluid with pH2.0 or specific antiserum against human interferon γ (IFN γ) resulted in a marked reduction of both HLA-DR and FcR-inducing activities, suggesting that a major factor induced by Ge-132 in the PBMC may be IFN γ . These results indicate that Ge-132 stimulates PBMC to produce a soluble factor (IFN γ), which in turn augments the expression of HLA-DR antigens and FcRI on the cell of myelogenous or macrophage series.

Kiyoshi Hanaumi・Katsuo Kumagai*

* Tohoku University School of Dentistry

key words: germanium, HLA-DR antigen, IgG-Fc receptor, interferon, macrophage

Ge-132 は水溶性有機ゲルマニウム化合物 carboxyethylgermanium sesquioxide) であり、種々の薬理的^{2,3)}、あるいは免疫学的作用^{4,5)}を有することが明らかにされている。そして、それらの薬理的、免疫学的作用を基礎に種々の疾患に対する Ge-132 投与の効果が検討されつつある。多くの試験のなかで、マウスで Ge-132 は、インフルエンザ感染症に防御効果を示すという報告⁶⁾や、ヒトで塵肺症患者に本薬剤を内服投与することによって、かぜの罹患率が有意に減少したという二重盲検試験の報告など⁷⁾は、本薬剤の作用機構上からきわめて興味ぶかい。

本物質の作用機構、特に、免疫学的作用機構の詳細はまだ十分には明らかになっていないが、筆者らは、先に、この物質をマウスに投与すると、その免疫機能やリンパ球機能にインターフェロン (IFN) 類似の作用を示すことを報告した⁸⁻¹⁰⁾。すなわち、Ge-132 投与マウスでは NK 活性が増強し⁸⁻¹⁰⁾、ヘルペス感染細胞に対するキラーT細胞の誘導が増強する⁹⁾。また、種々のT細胞サブセットは、Ge-132によってIFN類似の影響を受ける⁹⁾。Ge-132投与を受けたマウスやGe-132の内服(あるいは注射)を受けたヒトでは、実際に、血中にIFNが誘導されることが明らかになっている^{11,12)}。また、Ge-132で処理した細胞には2.5A合成酵素が誘導された¹³⁾。

Ge-132の投与を受けた動物では、また、マクロファージがさまざまな機能面で活性化されることも明らかになっている¹³⁾。筆者らは、Ge-132をマウスに投与すると、マウスの腹腔マクロファージにmajor histocompatibility gene complex (主要組織適合遺伝子複合体)でコードされる抗原のうち、Ⅱ型抗原(Ia抗原)の発現が高まることを報告した¹⁵⁾。Ia抗原はT細胞による免疫応答や、これを介したB細胞の抗体産生応答に密接に関連した自己抗原であることがよく知られている。したがって、この抗原の発現の促進は、免疫応答の増強に連なる。また、IFN、特にIFN γ にはIa抗原を誘導する作用が知られている^{16,17)}。したがって、このIa抗原発現の促進は、Ge-132が示したウイルス感染防御効果におけるもっとも基本的な機構である可能性がある。

本論文では、このような観点から、ヒトの末梢血単球ならびにヒト骨髓性白血病細胞由来の樹立細胞U937を用い、Ge-132のマクロファージIa(ヒトでHLA-D)抗原の発現への働きを追求した。その結果、Ge-132はリンパ球へ作用し、その働きを介して、マクロファージのHLA-D(DR)抗原の発現を促進することを明らかにした。そして、そのリンパ球由来の活性因子は、IFN γ であろうことが示唆された。この活性化因子は、また、上記のマクロファージ系の細胞のIgG-Fcに対するレセプター(FcR)の発現も強く促進することを明らかにした。

* 東北大学歯学部微生物学教室

材料と方法

(1) Ge-132

もつばら無色の Ge-132 結晶を PBS に溶解し、pH を中性に調整した溶液を、浅井ゲルマニウム研究所より供与を受け使用した。

(2) ヒト末梢血単核球と単球(monocyte)の調整

健康成人ボランティアより採血した末梢血から Ficoll-Isopaque 比重遠心法(比重 1.077)で単核球(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)を分離し、10%のウシ胎児血清(FCS)を含む RPMI 1640 培地(RPMI/FCS)に浮遊させて用いた。

末梢血単球は、上記の PBMC から分離した。すなわち、RPMI/FCS に浮遊した PBMC を、何枚かのカバーグラス(0.5×2 cm)を敷いたシャーレに注ぎ、60分間の培養後にカバーグラスを採りだし、よく洗浄する。このようにして非吸着細胞(リンパ球)を洗い除いた後、カバーグラスへの吸着細胞をもって単球とした。

(3) ヒト末梢単核球(PBMC)の培養と培養上清の調整

分離した末梢単核球(PBMC)(5×10^6 cells/ml)を特定の濃度の Ge-132(主として 800 μ g/ml)とともに 2～3 日間培養し、その培養上清を 3000 rpm, 10 分間遠心し、さらに限外濾過膜(PM10, アミコン社)を用いて約 20 倍に濃縮し実験に用いた。また、Ge-132 を添加しないで、同様の方法で培養して得た末梢単核球培養上清の濃縮液を対照として用いた。

(4) 末梢血単球の Ge-132 による処置

単球の吸着しているカバーグラスをプラスチックシャーレに入れ、目的の濃度の Ge-132 を添加した 1% FCS 加 RPMI 1640 液(RPMI/FCS 1%)で培養した。

(5) U937 の培養

ヒト骨髓系白血病細胞由来の U937¹⁵⁾は、RPMI/FCS 中で 5% CO₂ を含む空気条件下で 37°C に培養した。U937 は通常 5×10^5 /ml の細胞数で接種し、4～5 日ごとに継代培養した。 5×10^5 /ml U937 細胞を RPMI/FCS (1%)培地で培養すると、数日間ほぼ一定して 15～25% の HLA-DR (OKIa1) 陽性細胞と 15～20% の IgG-Fc レセプター陽性細胞が検出される。

(6) HL-AD 抗原の検出

被験細胞を HLA-DR(マウスの I-E に相当する)のフレームワークに対する単クローン抗体である OKIa1 抗体(Ortho Diagnostic Systems Inc.)で 1 次染色し(4°C 30 分間)、冷たい PBS(Dulbecco のリン酸緩衝液, 0.15 M, pH 7.4)で 2 回洗浄後、FITC 標識抗マウス IgG 抗体(Cappel 社)で 2 次染色を行い(4°C 30 分間)、再度 PBS で 3 回洗浄後、蛍光顕微鏡で観察した。1 被験体につき 3 検体をつくり、それぞれについて約 500 個の細胞を観察し、蛍光抗原陽性細胞率を算出した。検体間の標準誤差は常に 10% 以下であるので、成績はその平均値の

みであらわした。

(7) IgG-Fc レセプターの検出

ヒツジ赤血球(SRBC)と抗 SRBC マウス IgG_{2a} モノクローナル抗体(Clone Hy 1, 2, 東北大学医学部第一病理学教室, 能勢真人博士より供与)の抗原抗体結合物(EA)を用い、被験細胞とのロゼット形成試験により行った。IgG_{2a} SRBC 抗体を感作した SRBC (EA, 2×10^7 /ml)を末梢血単球あるいは U937 細胞(5×10^5 /ml)とともに 37°C 60 分放置後にロゼット陽性細胞を検出した¹⁹⁾。この方法は、ヒトの単球性細胞に表現する FcR 1 を検出する。検体間の標準誤差は常に 10% 以下であるので、成績はその平均値のみであらわした。

(8) 抗 IFN γ 抗体による中和試験

抗ヒト IFN γ モノクローナル抗体(Clone No. 30, シオノギ製薬供与)と被験培養上清を混和し、37°C 1 時間反応させた後、Fc レセプターの発現や HLA-DR 抗原の誘導実験に用いた²⁰⁾。

(9) 培養上清の酸処理

被験培養上清を pH 2.0 の Glycin HCl 緩衝液で 1 晩透析後、pH 7.4 の PBS、さらに RPMI 1640 培地で再度透析し、0.22 μ のミリポアフィルターで濾過滅菌し実験に用いた。

結果

(1) Ge-132 による末梢血単球(monocyte)上の HLA-DR 抗原発現の増強

ヒト末梢血からシャーレ吸着法で吸着細胞(単球を主体とする)を分離し、これに Ge-132, 50,500 μ g/ml を加えて 37°C に培養し、OKIa1 単クローン抗体で DR 抗原陽性細胞を検出した(表 1)。その結果、50,500 μ g/ml 両濃度において DR⁺細胞は、有意に増加し、500 μ g/ml では、陽性率は約 2 倍になった(表 1-a)。

この成績からは、Ge-132 は単球に働いて、その DR 抗原の発現を促進する作用を有すると思われる。しかし、この成績は必ずしも一定せず、実験によってはまったくこの作用を示さぬ場合もあった(表 1-b)。特に、単球の精製度がよいと思われる場合には、この作用が示されないことが多かった。これらのことから、Ge-132 による単球上の DR 抗原発現の促進は、Ge-132 が直接単球に働いて DR 抗原の発現を増強しているのではなく、混在するリンパ球に働いて、これを介して行っている可能性が考えられるようになった。このことを明らかにすべく、筆者らは、カバーグラスに吸着した単球から混在リンパ球を除去する目的で、吸着後頻回にシャーレを洗浄し、ほとんどリンパ球の混在のない単球精製標品についてのみ Ge-132 の DR 抗原発現に対する影響を 4 日間の培養期間について観察した(図 1)。

この実験では、単球に直接働いてその DR 抗原の発現

表1 分離単球に対する Ge-132 の HLA-DR 抗原発現増強作用

experiments	Ge-132 $\mu\text{g/ml}$	% HLA-DR ⁺ (OKIa1 ⁺)	% control
A	—	18.0	—
	50	25.6	142
	500	34.5	192
B	—	13.1	—
	200	14.4	110
	800	16.0	122

カバーガラス吸着法による分離単球を上記の濃度の Ge-132 の存在下で(RPMI/FCS 培地) 3日間培養, 実験Aのサンプルの単球の純度(酵母粒子食菌率)は約80%で, Bでは>95%の純度が示された。

図1 精製分離血中単球(monocyte) HLA-DR 抗原発現に対する Ge-132 と IFN γ の作用

分離単球(95%以上の純度でカバーガラス上に吸着分離した)を Ge-132 800 $\mu\text{g/ml}$ (■), 200 $\mu\text{g/ml}$ (▲),あるいは rIFN γ 500 U/ml(△)を含む RPMI/FCS(1%)培地で培養し, 経目的に(4日間) HLA-DR⁺細胞数(%)を蛍光抗体法で検出した。

を増強する IFN γ を陽性対象として用いた(図1)。その結果, 前実験とは異なり, Ge-132は, 800, 200 $\mu\text{g/ml}$ の濃度でも精製単球に対しては DR 抗原の発現を促さなかった。陽性対照としておいた IFN(rIFN γ , 500 U/ml)は著明に DR⁺細胞の増加を誘導した。この成績は, Ge-132には直接に単球に働いて, DR 抗原の発現を増強する作用はないということを強く示唆した。

(2) ヒト単球由来樹立細胞(U937)の DR 発現に対する Ge-132 の作用

Ge-132 は直接単球に働いて, その DR 抗原発現に影響しているのではないことをさらに確かめる目的で, ヒト単球由来株であって, IFN γ でその DR 発現が増強される U937細胞を Ge-132 の存在下で培養し, その DR⁺

表2 Ge-132 と IFN γ の U937 HLA-DR 抗原発現に対する影響

drugs added	dose	% HLA-DR ⁺ cells
—	—	25.9
Ge-132	800 $\mu\text{g/ml}$	21.4
Ge-132	200 $\mu\text{g/ml}$	27.2
rIFN γ	800 U/ml	77.2
	400 U/ml	79.9
	200 U/ml	73.4

U937細胞をそれぞれの濃度の薬剤を加えた RPMI/FCS(1%)培地中で3日間培養後, HLA-DR⁺(OKIa1⁺)細胞数(%)を算定した。

図2 Ge-132存在下に培養した末梢血リンパ球培養液の血中単球 HLA-DR 抗原および FcR の発現促進効果

分離単球培養に Ge-132 刺激 PBMC 培養濾液を20%に加え, 経目的に HLA-DR 抗原(a)ならびに FcR(b)の陽性細胞数を計測した。

a: Ge-132 培養液添加群(●)と対照(非添加群)(○)の HLA-DR 細胞数(%)

b: Ge-132 培養液添加群(●)と対照群(非添加群)(○)の FcR 陽性細胞数(%). ■は添加群を3日後に洗浄し, 新鮮対照培養液と交換した群の FcR 細胞数(%)をあらわす。

細胞の変動をみた(表2)。その結果, Ge-132 にはまったく U937上の DR 抗原発現の増強作用が認められなかった。この場合も, 対照に用いたヒト rIFN γ には著明な DR 抗原の増強作用が認められた(表2下段)。

(3) Ge-132 処理末梢血単核球(PBMC)培養上清の作用

以上の成績から, Ge-132には, 末梢血単球や単球由来 U937細胞に対する直接の DR 抗原の増強作用はないものと結論づけられた。それにかかわって, Ge-132 にはリンパ球に作用し, その作用を介して単球上の DR 発現を増強する働きが示唆される。そして, この場合は, リン

表3 Ge-132 誘導因子 (U937 の DR 抗原ならびに FcR 発現促進因子)の性状

culture supernatants added	% FcR ⁺ cell inhibition	%HLA-DR ⁺ cells inhibition
—	17.6	27.2
untreated sup.	83.4	77.1
pH 2.0-treated sup.	27.7(84.7)	35.8(82.7)
anti-IFN γ -treated sup.	34.1(74.9)	39.3(75.8)

Ge-132 刺激 PBMC 培養(4日)液を pH 2.0 あるいは抗 IFN γ 抗体(50単位/ml)での処理を施した後、それぞれ U937 培養液に25%に加えて3日間培養後、FcR、HLA-DR 陽性細胞数を算定した。

図3 Ge-132 刺激 PBMC 培養液の U937 HLA-DR 抗原ならびに FcR 発現促進効果

U937 培養に Ge-132 刺激 PBMC 培養濾液を20%に加え、経日的に HLA-DR(a)ならびに FcR(b)の陽性細胞数を計測した。

●: Ge-132 刺激 PBMC 培養濾液添加群
○: 非添加群

バ球からの DR 発現促進液性因子の産生という機構がもっとも考えられやすい。その点を明らかにすべく、末梢血リンパ球(単核球)をあらかじめ Ge-132 存在下で培養し、その培養濾液を精製単球および U937 細胞に加えて培養した。その結果、以下のような成績を得た。

① 培養上清の精製単球に対する作用: Ge-132 (800 μ g/ml)存在下で PBMC を3日間培養した培養濾液をよく精製した単球培養に加え、4日間培養し、その DR⁺細胞の変動を調べたのが図2aである。図に明らかなように、Ge-132 刺激リンパ球培養上清は、単球の DR 抗原をいちじるしく増強した。これに対して Ge-132 非存

在下に培養したリンパ球培養上清には、そのような作用はまったく示されなかった。

ついで、この Ge-132 刺激リンパ球培養上清中の単球活性化因子が、単球上の FcR⁺ 発現に対しても作用するか否かを調べた(図2b)。図から明らかなごとく、Ge-132添加 PBMC 培養上清は FcR の発現もいちじるしく増強した。この作用が可逆的であることは、単球培養上清を培養3日目に洗浄して除き、活性化因子を含まない新しい培養液にかえると、増加した FcR⁺ 細胞数は減少して対照値にもどることから明らかである。

2 培養上清の U937 細胞に対する作用: 上記のごとく、Ge-132 刺激リンパ球培養上清には、末梢血単球に働いて DR と FcR の発現を促す因子の存在することがわかった。ついで、この因子は U937 細胞にも働くか否かを調べたが、末梢単球と同様に U937 の DR 抗原ならびに FcR の発現をいちじるしく促進した(図3a・b)。

(4) Ge-132 刺激因子の性状(IFN γ との異同)

IFN γ は単球上の Ia 抗原の発現を促す Ia recruiting agent (IRA)の代表的な活性の一つである。また、IFN γ にはマクロファージやリンパ球上の FcR の発現を促す作用も知られている。したがって、Ge-132 によって誘導された Ia 抗原ならびに FcR 誘導因子と、IFN γ との異同を知る目的で誘導因子の性状検索を行った。表1に示すごとく、U937上の DR と FcR 発現増強を指標にすると、誘導因子は pH 2.0 の処理で失活し、ヒト IFN γ に対する特異的単クローン抗体で中和された。したがって、Ge-132 によってリンパ球に誘導される主たる活性因子は IFN γ と考えられる。

考 察

本研究で筆者らは、Ge-132 は、ヒト末梢血リンパ球に働いて、単球(monocyte)や骨髓系白血病細胞由来の樹立株化細胞上の HLA-DR 抗原や IgG-Fc レセプター (FcRI) の発現を促す液性因子を誘導することを明らかにした。両活性とも pH 2.0 の処理で失活し、ヒト IFN γ 特異抗体で中和されることから、その活性の主体は IFN γ であろうと結論づけられた。レコンビナントのヒト IFN γ は、実際に末梢血単球あるいは U937 細胞に作用して、HLA-DR 抗原と FcR の発現を増強した。

Ge-132 は、マウスに投与(経口あるいは非経口注射)で IFN の産生を誘導することが明らかになっている¹¹⁾。ヒトへの投与でも同様のことが確かめられており¹²⁾、IFN の主体は γ 型であろうとされている^{11,12)}。この IFN が、Ge-132 生体投与における NK 活性化あるいは他の *in vivo* における免疫増強作用に関与していることは疑いない。しかるに、現在のところ、Ge-132 が単独で *in vitro* でヒトやマウスのリンパ球に働いて IFN の産生を誘導するという確かな成績は得られていないのである。

本実験で、Ge-132 以外には刺激を加えないヒト末梢血リンパ球培養液中には、IFN の産生は検出できなかった(成績省略)。したがって、末梢血単球の HLA-DR 抗原の発現への Ge-132 の作用は、単球への直接の作用あるいはリンパ球の他の因子を介しての発現の促進と考えられた。しかし、成績に示されたように、Ge-132 の効果は単球系細胞への直接の作用によるものではなく、また、IFN 以外のリンパ球因子を介した作用によるものでもなかった。リンパ球の産生する IFN γ を介した働きであることが示された。

荒井らは、Ge-132 によって刺激を受けたヒトリンパ球培養液には、IFN は検出されないが、末梢血リンパ球から低比重分画(NK-enriched fraction)を精製分離し、これを培養すると、その培養液中に低濃度の IFN の産生が認められるとともに、この分画を Ge-132 とともに培養するとより、高濃度の IFN の産生が検出されることを報告している²¹⁾。したがって、Ge-132 は、末梢血の低比重分画リンパ球(large granular lymphocyte, LGL)に働いて、その機能の一つである IFN の産生を増強するものと思われる。しかし、通常のリンパ球の培養では検出されぬ程度の産生量であるか、あるいは産生した IFN は容易にT細胞などによって吸収されてしまうのではないと思われる。いずれにしても、Ge-132 によって刺激されたリンパ球は、その培養液中に検出されるほどの量ではないが、マクロファージ HLA-DR 抗原や FcR1 レセプターの発現を促進しうる程度の IFN γ を産生していることが強く示唆された。

T リンパ球やNK細胞は、刺激の種類に応じて IFN α (あるいは $\alpha + \beta$)を産生しうる。しかし、Kelley らは²²⁾、ヒト胎児単球や骨髄系白血病細胞(ML-1, HL-60)上の HLA-DR 抗原はレコンビナントの IFN γ によっては、その発現が増強されるが、レコンビナントの IFN α および IFN β では影響を受けないと報告している(HLA-A, B, C は α, β, γ いずれの IFN でも増強される)。ヒト単球性白血病細胞(HL-60)上の FcR1 も同様に、IFN γ によって増強されるが、IFN α , IFN β によっては増強作用されないと報告されている²³⁾。これらのことも、本実験の DR 抗原と FcR の増強因子が IFN γ であることを支持する。

以上のように、Ge-132 の存在下にヒトリンパ球を培養すると、マクロファージ上の HLA-DR および FcR1 の発現を促す活性化因子(IFN γ)の誘導が起こることが明らかになったが、すでに、筆者らは、マウスでも Ge-132 を腹腔内あるいは経口投与することによって、腹腔内マクロファージの Ia 抗原発現がいちじるしく増強することを明らかにしている¹⁵⁾。したがって、ヒトへの Ge-132 の投与でもマクロファージ単球系細胞の HLA-DR ならびに FcR の発現の増強が起こることが予想さ

れる。この作用が Ge-132 の実際の抗ウイルス感染予防効果にどのように関与しているかは、今後の重要なそしてきわめて興味ぶかい研究課題である。

結 論

有機ゲルマニウム carboxyethylgermanium sesquioxide, Ge-132 のヒト末梢血単球ならびに骨髄性白血病細胞由来 U937 の HLA-D (DR)抗原と IgG-Fc レセプター(FcR1)の発現に対する影響を観察してつぎの結果を得た。

① Ge-132(50~800 $\mu\text{g/ml}$)はよく精製した末梢血単球や、U937上の DR 抗原や FcR1 の発現には直接なんの作用も示さなかった。

② しかし、Ge-132 (800 $\mu\text{g/ml}$)の存在下に培養したヒト末梢血単核球は、その培養上清中に単球ならびに U937の DR 抗原および FcR1 の発現を促す液性因子を産生した。

③ この活性因子は pH 2.0 の処理およびヒトのレコンビナントインターフェロン γ (IFN γ)に対する特異抗体の処理でその作用は中和された。

以上の成績から、Ge-132 は、ヒト末梢血単核球(リンパ球)に働き、IFN γ の産生を誘導し、この IFN γ を介して末梢血単球上の HLA-DR 抗原ならびに FcR1 の発現を促す作用を有することが明らかになった。

文 献

- 1) Tsutsui, M. et al.: Crystal structure of "Carboxyethylgermanium sesquioxide" J. Ame. Chem. Soc. 98: 8287-8289, 1976.
- 2) 佐藤隆一・他: カルボキシルエチル三二酸化物の高血圧ラット(SHR)の血圧におよぼす影響。基礎と臨床 7: 105-112, 1973.
- 3) 富沢齋夫・他: ゲルマニウム化合物の一般薬理作用に関する研究。応用薬理 16: 671-682, 1978.
- 4) 佐藤 博・他: 新規有機ゲルマニウム化合物 Ge-132の抗腫瘍性。癌と化学療法 6: 76-83, 1979.
- 5) 水島 裕, 東海林洋子: ゲルマニウムの免疫調節作用。医学のあゆみ 114: 1055-1056, 1980.
- 6) 鈴木富士夫・他: Carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) のマウスインフルエンザ感染症に対する防御効果。Chemotherapy 34: 488-494, 1986.
- 7) 長浜文雄・他: Ge-132 内服によるじん肺患者のかぜ症候群予防効果に対する研究(二重盲検試験)。日本災害医学会会誌 34: 214-222, 1986.
- 8) 熊谷勝男: Ge-132 によるマウス NK 細胞の活性化。第2回ゲルマニウム研究会記録: 18-21, 1980.
- 9) 倉根一郎・他: 有機ゲルマニウム Ge-132の免疫調節作用—インターフェロンによる免疫調節との類似性—。医学と薬学 9: 159-168, 1983.
- 10) Itoh, K., Kumagai, K.: Augmentation of NK activity by several anti-inflammatory agents. In Natural killer Cells and Its Regulation. (ed. by Hoshino, T., Koren, H.S. Uchida, A.),

- Excerpta Medica, Amsterdam, 1984, p. 460-464.
- 11) Aso, H. et al.: Induction of interferon and activation of NK cells and macrophages in mice by oral administration of Ge-132 an organic germanium compound. *Microb. Immunol.* 29: 65-74, 1985.
 - 12) Miyao, K. et al.: Toxicology and phase I studies on a novel organogermanium compound, Ge-132. *Current Chemother. Infect. Dis.* (Proc. 11th ICC& 19th ICAAC Am. Soc. Microbiol.). 2: 1527-1529, 1980.
 - 13) 宗川吉汪・他: Ge-132 投与によるヒト白血球 2-5A 合成酵素の誘導. 第7回ゲルマニウム研究会記録: 11-14, 1982.
 - 14) Suzuki, F. et al.: Important of T cells and macrophages in the antitumor activity of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132). *Anti-cancer Res.* 5: 497-484, 1985.
 - 15) 熊谷勝男・他: Ge-132 によるマウス, ヒトマクロファージ Ia 抗原性の増強. 第8回ゲルマニウム研究会記録: 14-17, 1983.
 - 16) Steeg, P.S. et al.: Regulation of murine macrophage Ia antigen expression by a lymphokine with immune interferon activity. *J. Exp. Med.* 156: 1780-1793, 1982.
 - 17) Basham, T.Y., Merigan, T.C.: Recombinant interferon- γ increases HLA-DR synthesis and expression. *J. Immunol.* 130: 1492-1494, 1983.
 - 18) Larrick, J.W. et al.: Characterization of a human macrophage-like cell line stimulated in vitro: a model of macrophage function. *J. Immunol.* 125: 6-12, 1980.
 - 19) Hanaumi, K. et al.: Fc γ receptor-mediated suppression of γ -interferon-induced Ia antigen expression of a murine macrophage-like cell line (P388D₁). *J. Immunol.* 133: 2852-2856, 1984.
 - 20) Itoh, K. et al.: Generation of activated killer (AK) cells by recombinant interleukin 2(rIL2) in collaboration with interferon- γ (IFN- γ). *J. Immunol.* 134: 3124-3129, 1985.
 - 21) 宗像哲男・他: Ge-132 による IL-2 刺激 NK 細胞からの Interferon 産生の増強作用. 第11回ゲルマニウム研究会記録: 10-13, 1984.
 - 22) Kelley, V.E. et al.: Cloned human interferon- γ , but not interferon- β or - α , induces expression of HLA-DR determinants by fetal monocytes and myeloid leukemic cell lines. *J. Immunol.* 132: 240-245, 1984.
 - 23) Perussia, B. et al.: Immune interferon induces the receptor for monomeric IgG1 on human monocytic and myeloid cells. *J. Exp. Med.* 158: 1092-1113, 1983.