遺伝子組換えヒト顆粒球増殖因子(G-CSF)の癌治療への応用

岡部哲郎*

Application of human granulocyte colony-stimulating factor to cancer chemo- and radio-therapy

Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (Re Hu G-CSF) was prepared and its stimulating effect on granulocytopoiesis was examined in mice. Human G-CSF was purified to homogeneity from conditioned media of a G-CSF producing cell line. The amino-terminal sequence was determined. By using oligonucleotides as probes, which were proposed by the amino acid sequence, a cDNA library prepared from human macrophages was screened. The cloned G-CSF cDNA was expressed in *E. coli* K12MM294, and the mature protein was purified to homogeneity. Mice were given intraperitoneal injections of Re Hu G-CSF everyday for 14 days. Peripheral blood granulocyte counts were examined after 4, 8, 12, and 14 days of injection. Mice were sacrificed on the 14th day for histologic examinations of bone marrow, and spleen. Granulocyte counts began to increase on the 4th day and reached about 80,000/mm on the 14th day. Cells of granulocyte lineage were markedly increased in the bone marrow and spleen. Granulocyte precursors (CFU-C) were remarkably increased in the spleen. When mice were treated with 5-fluorouracil, cyclophosphamide, or irradiation, the period of granulocytopenia was significantly shortened by subcutaneous injections of Re Hu G-CSF.

These results suggest that human G-CSF play a central role in granulocyte production *in vivo*. The ability of Re Hu G-CSF to stimulate granulocyte production implies that this factor will be clinically useful in neutropenic patients treated with anti-cancer agents or irradiation.

Tetsuro Okabe*

*The Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Tokyo

key words : neutrophil, cancer chemotherapy, leukemia

癌の化学療法を行う場合、その薬剤が目的とする癌に効果があるか否かは、その薬剤が人体の正常組織に対して回復可能な程度の障害をきたす用量を投与した場合に、腫瘍縮小効果を示すか否かということによって決まる。したがって、生体の正常組織のその薬剤に対する抵抗力を増大させた場合、その薬剤の投与を増やすことが可能である。たとえば、多くの抗癌剤の dose-limiting factor である骨髄抑制に対して、他人の、または保存しておいた本人の骨髄を薬剤投与後に移植してやることにより、その抗癌剤の投与量を数倍に増やすことが可能である。実際に骨髄移植により造血器の悪性腫瘍の治療は飛躍的に改善し、いわゆる寛解から完全治癒へと転換した。骨髄抑制の中でもっとも重要な顆粒球減少に対して、顆粒球に特異的な増殖因子である G-CSF はこのような生体側の薬剤に対する抵抗力を増大させることが可能な因子と考えられる(図1)。

癌の化学療法において生体側の条件を改善させることによって、その治療効果を増大させることは、今後さらにその重要度が高まってくると思われる。G-CSF の登場によって、そのような生体側の抵抗性増大による新

図1 生体防御因子による癌治療法の開発

図2 骨髄障害の造血因子による治療

しい化学療法の実現が実際の臨床にいちじるしい治療効果の改善をあげるものと期待される。かつて、結核などの感染症の成立に生体側の因子が重要であることが強調されたが、癌の臨床においても生体の因子に目を向け、これを化学的に分析し、増強させていくことにより癌治

* 東京大学医学部第三内科学教室

図 3
血液細胞の増殖因子

図 4 4種のCSFとその作用点

療のうえで新しい展開がなされるであろう(図2)。

colony stimulating factor (CSF)

colony stimulating factor(CSF)は、白血球(顆粒球およびマクロファージ)の増殖分化を刺激する因子で Pluznick & Sachs¹⁾ および Bradley & Metcalf²⁾ の実験によりその存在が示唆された。彼らは、2層の寒天培養法を用い、上層に骨髓細胞を入れ、下層に腎や胎児の細胞を入れて培養すると、上層の骨髓細胞が増殖分化して顆粒球やマクロファージよりなるコロニーを形成することを発見した。このことにより、下層の細胞(feeder layer)が産生する液性因子(colony stimulating factor)が、骨髓中のある特定の造血幹細胞に働いて、その増殖分化を刺激していると考えた(図3)。したがって、すべてのCSFの活性は*in vitro*で測定され、現在まで至っている。このことは赤血球の産生を*in vivo*で調節しているエリスロポエチンとは対照的である。エリスロポエチンが、その活性が*in vivo*(血清中)で発見され、当初

より*in vivo*のバイオアッセイを用いて研究が進展したのに対し、CSFは現在に至るまで*in vitro*の測定系しか存在しない。したがって、*in vivo*でのCSFの作用については、ほとんど不明であった。ごく最近になって*in vitro*でのCSFといわれる活性を持つ物質には四つの種類があることが判明した³⁾。各CSFは、それぞれ特定の分化段階にある造血幹細胞に働くと考えられている(図4)。また、これらのCSFは現在では、その遺伝子構造が明らかにされ、遺伝子工学的手法により、量産化されたCSFは動物での*in vivo*作用の研究や、ヒトでの臨床応用の段階にまで来ている⁴⁾。したがって、今まで不明であった各CSFの*in vivo*での作用や役割が明らかにされるのも時間の問題であろう。

CSF と granulopoietin

顆粒球は感染防御にもっとも重要な前戦部隊である。したがって、顆粒球産生の調節が四つのCSFのうちどのCSFによって行われているか明らかにすることは、感染症の予防や治療を行ううえで重要な意義を持つ。特に、悪性腫瘍の治療の際の重大な副作用である造血障害や、そのほか造血器疾患や免疫疾患などに伴う易感染状態などの治療上で、顆粒球を増加させることは他のいかなる抗生物質の投与よりも有効であろう。したがって、生体において、赤血球に対するエリスロポエチンに相当する因子が顆粒球に対しては、どのCSFであるかは造血因子の研究や造血組織の細胞生物学的研究に劣らず重要な臨床研究の課題であった。

従来より、種々の悪性腫瘍に伴う原因不明の白血球増多症が知られていたが、筆者らの教室で見つかった白血球増多症を伴う肺癌は、首尾よくヌードマウスに移植され、その結果、担癌ヌードマウスにいちじるしい白血球増多症を引き起こすことが確認された⁵⁾(図5)。この際

表 1 CSF 産生腫瘍の培養株

cell line	origin	type of CSF	doubling time	
T3M-1	squamous cell carcinoma of oral cavity	G-CSF	17hr	
T3M-1-T2	squamous cell carcinoma of oral cavity	G-CSF	30hr	serum-free*
T3M-5	squamous cell carcinoma of thyroid glands	G-CSF	22hr	
Blanche-1	squamous cell carcinoma of thyroid glands	G-CSF	18hr	serum-free
T3M-10	large cell carcinoma of lung	G-CSF M-CSF	46hr	
T3M-15	large cell carcinoma of lung	M-CSF	—	
T3M-20	large cell carcinoma of lung	M-CSF	—

図 5 ノードマウス移植ヒト CSF 産生腫瘍による白血球増多症

に増加した白血球の大部分は顆粒球であった。このノードマウスでの白血球増多症の再現によって、筆者らはこの腫瘍が *in vivo* で顆粒球の産生を調節している造血因子(*granulopoietin*)を産生していると考えた。当時、白血球の増殖分化因子として *in vitro* でその活性が測定されていた CSF が報告されており、この時点で筆者らは、この肺癌が産生する顆粒球増多因子(*granulopoietin*)は、おそらく CSF であろうと考えた。*granulopoietin* をこの腫瘍より物質として分離するために、この腫瘍より細胞培養株の樹立を試みた⁹⁾。この最初の *granulopoietin* 産生腫瘍の発見から 1~2 年の間に、顆粒球増多を伴ういくつかの腫瘍が、首尾よくノードマウスにおいて、その顆粒球増多の再現が認められ、これらの腫瘍よりいくつかの細胞培養株が樹立された⁷⁻⁹⁾。これらの培養株の培養液中には、ヒトおよびマウスの骨髓を用い

表 2 CSF 産生腫瘍株の産生する CSF によって刺激される白血球の種類

dilution	colonies	morphology (%)		
		neutrophil	mixed	macrophage
1 : 5	63	87	11.5	1.5
1 : 10	19	84	10.5	5.5
1 : 20	12	83	17	0

Plates of 100,000 nonadherent human bone marrow cells were stimulated by 0.1ml of stimulus/2ml agar plate at the indicated dilution in tetraplicate cultures. Colonies of 50 cells were counted at day 10. The percentage of each colony type is shown. No eosinophil colonies were detected in any of the plates examined.

た *in vitro* アッセイでつよい CSF 活性が認められた¹⁰⁾(表 1)。したがって、おそらくこれらの腫瘍が産生している *granulopoietin* は、CSF であろうと考え、その精製を進めた。精製純化の過程で、当時、2 種類あるとされていた CSF (現在の M-CSF および GM-CSF) と筆者らの発見した CSF とは異なることが明らかになってきた。この時点で筆者らは、この CSF を G-CSF と名づけた。というのは、この CSF は選択的に顆粒球の産生のみ刺激し、骨髓細胞の培養で形成されてくるコロニーはほとんどが顆粒球を成分としていた¹¹⁾(表 2)。すなわち、当時、刺激リンパ球が産生する GM-CSF が主にマクロファージコロニーの形成を刺激し、マウスの骨髓細胞には活性を示さないのに対し、筆者らの G-CSF は、顆粒球に特異的に働き、ヒトおよびマウスでその *in vivo* および *in vitro* の作用があることなどから、GM-

表 3 無血清培養株を用いたヒト G-CSF の精製分離

fraction	total protein(mg)	total volume(ml)	total activity units	specific activity units/mg protein	purification fold	yield (%)
conditioned medium	1,200	200,000	200×10^5	1.7×10^4	1	100
acidification	450	50	750×10^5	1.7×10^5	10	375*
DEAE-Sepharose	68	8	250×10^5	4.4×10^5	26	125
TSK gel filtration	10.4	2.08	76×10^5	29.2×10^5	172	38
isoelectric focusing	1.2	1.5	87×10^5	73.0×10^5	429	43.5*
reverse-phase HPLC	0.024	7.5	36×10^5	$1,500 \times 10^5$	8,824	18

Protein concentration in individual fractions was assayed by the dye-fixation method, using the Bio-Rad protein assay kit. Bovine serum albumin was used as the calibration standard.

* Increase in total activity units due to elimination of inhibitory factors.

1 5 10
Pro-Leu-Gly-Pro-Ala-Ser-Ser-Leu-Pro-Gln-Ser-Phe-Leu-(Leu)-
15 20 25
Lys-X-X-Glu-Gln-Val-Arg-Lys-Ile-Gln-Gly-X-X-Ala-(Ala)-.

図 6 blanché-1 細胞より分離したヒト G-CSF の N 端アミノ酸配列

CSF とは異なる分子量と考えられた。また、当時よりマウスやヒトの尿より分離されつつあった M-CSF は、マウスの骨髓細胞に働いてマクロファージのコロニー形成を刺激するが、ヒトの骨髓細胞にはほとんど無効とされていた¹⁰⁾。その後、Nicola らは、胎盤に含まれる CSF 活性が二つに分離できること、一つは、主にマクロファージや好酸球のコロニー形成を刺激する CSF で (GM-CSF- α)、他は顆粒球主体のコロニー形成を刺激する (GM-CSF- β) ことを報告した¹²⁾。筆者らは G-CSF はおそらく胎盤の GM-CSF- β と同一の分子種であろうと考えた。

granulopoietin (G-CSF) の分離

G-CSF を培養細胞より分離するため、いくつかの試みを行ったが、最大の障害は培地に添加するウシの血清やアルブミンなどの血清成分からの分離が困難な点であった。この点を解決するために、従来より試みていた無血清無蛋白質培地で G-CSF 産生細胞を増殖させることにした。当時、樹立した二つの G-CSF 産生株は、それぞれ30時間および18時間の倍加時間で長期に継代することが可能となった¹³⁾。これらのうち、G-CSF をより大量に産生する blanché-1 株を用いて G-CSF の分離をはじめた。blanché-1 は、約18時間の倍加時間できわめてよく増殖し、これを roller bottle にて大量培養することにより、約20 l の培地より 24 μ g の G-CSF の純品を得た。純化の方法および結果は表 3 に示す。

最後のステップである逆相 HPLC の活性ピークは、SDS-PAGE にて単一のバンドを示し、分子量約 19,000 と推定された。これを気相のアミノ酸配列決定装置にて

図 7 遺伝子組換えヒトグラニュロポエチンの *in vivo* 効果

N 末端より25個のアミノ酸配列を決定し(図 6)、これに対応する合成オリゴマー-DNA をプローブとして、ヒトマクロファージの cDNA ライブラリーより G-CSF の cDNA をクローニングした¹⁴⁾。

遺伝子工学による granulopoietin (G-CSF) の産生と *in vivo* での granulopoietin 活性の再現

得られたヒト G-CSF の cDNA は、大腸菌に組み込みその大量発現を行った。大腸菌由来の G-CSF は、マウスに投与するといちじるしい顆粒球の増多をきたし(図 7)、顆粒球およびその前駆細胞が脾臓や骨髓でいちじるしく増加していることが確認され、この G-CSF が *in vivo* においても、顆粒球の産生の調節に重要な役割を果たしていることが確認された¹⁵⁾。このことにより、筆者らが、当初肺癌患者で発見し、ヌードマウスの移植で観察された顆粒球増多症は、実はこの G-CSF に

図 8 endoxan 投与マウスの顆粒球減少に対する G-CSF 前投与の効果

図 9 5-FU 投与マウスの顆粒球減少に対する G-CSF の効果

よって引き起こされていたことが確認されたことになる。

G-CSF による抗癌剤投与後の顆粒球減少の治療

筆者らが臨床的に用いる抗癌剤のほとんどが、その副作用として造血障害を引き起こす。そのなかでも dose-limiting factor として顆粒球の減少と血小板減少がもっとも重要な副作用である。

ヒトのリコンビナント G-CSF が、抗癌剤による顆粒球の減少の予防または、治療に有効であるか否か、マ

図 10 放射線照射マウスの顆粒球減少に対する G-CSF の効果(300rad)

図 11 放射線照射マウスの顆粒球減少に対する G-CSF の効果(500rad)

ウスに endoxan (cyclophosphamide) を投与し、その前および後に G-CSF を投与した。endoxan 200mg/kg の投与を行い、その前 7 日間連続 G-CSF の投与を行ったが、顆粒球減少を防止することはできなかった。しかし、endoxan 投与と同時に G-CSF を投与開始した場合、顆粒球減少症からの回復は著明に促進されることが判明した(図 8)。

この結果は、endoxan の dose を 400mg/kg にあげても同様であった(図 8)。endoxan による顆粒球減少を予防できるか否かは、その投与量と投与時期などの検討が必要であるが、筆者らの実験では、その効果は否定的であった。しかし、いったん減少した顆粒球減少から、G-CSF は著明にその回復を促進することが認められた。さらに、5-FU 投与マウスにおける実験でも、G-CSF は 5-FU 投与と同時に投与開始することにより(図 9)、dose-dependent に顆粒球減少からの回復促進効果を示すことが証明された¹⁰⁾。

以上の結果より、抗癌剤投与後に G-CSF を投与することによって、顆粒球減少の期間を短縮できることが期待できる。このことは、現在行われている抗癌剤による癌の治療が骨髓障害からの回復が遅いために、延期や中断したりせざるをえない現状に対し、プロトコールどおりの治療を可能にし、さらに治療のインターバルの短縮、さらに抗癌剤の投与量の増加などのことが G-CSF

図 12 放射線照射マウスの生存率に対する G-CSF の効果(700rad)

図 13 遺伝子組換えヒト G-CSF の骨髄移植への応用

の併用により可能となることを示唆している。

G-CSF による放射線照射後の顆粒球減少症の治療

外科治療、化学療法と並んで放射線による癌の治療は癌治療の 3 本柱である。

放射線治療の際、骨髄障害がその dose-limiting factor となる大きな副作用の一つである。G-CSF が放射線照射マウスにおいて、その顆粒球減少症からの回復を促進するか否かを検討した。放射線にもっとも感受性の高い骨髄中の顆粒球の前駆細胞は、endoxan などの抗癌剤によるものよりも未分化な段階の前駆細胞と考えられている。したがって、そのような未分化な前駆細胞が障害された場合でも、G-CSF の投与が効果を示すか否か、興味ぶかい問題であった¹⁷⁾。

マウスに 300rad の放射線を照射後、G-CSF の投与を行うと図10に示されるように、G-CSF による顆粒球減少からの回復効果をはっきりと認められる。さらに、放射線を 500rad 照射した場合も、G-CSF 投与による効果は認められた(図11)。

つぎに、マウスの sublethal dose である 700rad の放射線を照射し、G-CSF がマウスの生存を延長するか否かを検討した。図12に示されるように、G-CSF 投与による生存延長効果は認められなかった。このことは、骨髄の幹細胞が全滅してしまったため、G-CSF の効果が

なかったものと考えられる。しかし、放射線照射による顆粒球減少の期間を、G-CSF 投与により短縮することは可能と考えられる。

骨髄移植における G-CSF の効果

近年、悪性腫瘍の根治療法を行うために、骨髄移植による抗癌剤大量投与が行われている。特に白血病などの造血器腫瘍では、同種骨髄移植を併用した抗癌剤大量投与および放射線治療によって、半数以上の患者で根治が得られるようになった。このことは、癌の治療上画期的なことである。化学療法によって癌が完治することが証明されたことになる。したがって、今後このような治療法をさらに固型腫瘍の治療に応用することにより、癌治療は新しい段階に入るであろう。

骨髄を移植した場合、移植された骨髄が生着し、造血を開始し、白血球や血小板が末梢血中にでてくるまでには数週間の時間がかかる。この間、患者はきわめてきびしい状態で生死の境界にある。このような状態をできるだけ短くするために、G-CSF は有効であると考えられる。筆者らは、マウスに 1,000 rad という大量の放射線を照射し、骨髄を移植後 G-CSF 投与を行った。図13に示されるように、G-CSF 投与によって、顆粒球減少の期間は明らかに短縮されることがわかる。G-CSF を骨髄移植の際に併用することによって、患者の感染症による死亡を防止できる可能性が示唆された。

G-CSF による末梢血顆粒球機能の調節とその特異的受容体

G-CSF が *in vitro* および *in vivo* で骨髄の造血幹細胞を刺激して、顆粒球の産生を促進していることが示された。一方、G-CSF は成熟顆粒球の機能も調節していることが判明した。ヒトの顆粒球を分離し、これを G-CSF で処理することによって、顆粒球による活性酸素の産生が約 2 倍に上昇することがわかった。

骨髄の造血異常をきたす疾患である myelodysplastic syndrome (MDS) の患者では、感染症にかかりやすいことが問題となっているが、おそらくそれは顆粒球機能の異常によるものと考えられる。すなわち、MDS では顆粒球の活性酸素の産生の低下やアルカリフォスファターゼなどの酵素の活性低下が認められる。この活性酸素の産生やアルカリフォスファターゼ活性も、G-CSF によって上昇することが証明された¹⁸⁾(図14)。G-CSF の特異的な細胞膜受容体が正常人の末梢血好中球に存在することが確認された。この受容体の構造は、骨髄細胞のそれと同じく、分子量約 150,000 の単一の蛋白よりなることが判明した¹⁹⁾(図15)。したがって、このような顆粒球機能の異常のために、感染症にかかりやすい疾患の予防的治療にも G-CSF が有用であると思われる²⁰⁾。

図 14 MDS 患者の顆粒球の O_2 産生に対する G-CSF の効果

図 15 ヒト末梢血好中球への ^{125}I 標識 G-CSF の特異的結合のスキヤウチャード分析

癌患者への CSF 投与の実例

筆者らの教室では²⁰⁾、肺癌の化学療法後に G-CSF を投与することによって好中球減少からの回復がいちじるしく促進されることを観察している (図16)。最後に G-CSF を前白血病状態 (myelodysplastic syndrome) (MDS) の患者に投与し、異常な白血球細胞が正常の好中球に似た分化を示したことを述べる。好中球減少を示す MDS の患者に G-CSF を $10\mu\text{g/kg/day}$ 以上を連日投与することにより、末梢血中の好中球数がいちじるしく増加することが示された。また、この成熟好中球は白血球細胞由来である可能性も示唆され、白血球の分化誘導療法への期待を抱かせる結果であった。

以上のように G-CSF の臨床応用は、まだ開始され

図 16 肺癌の化学療法における G-CSF の効果 (H.K. 56 F. lung cancer, adeno ca.)

ただかりであり、結論は得られていないが、これまでの臨床経験の報告では、筆者らが動物実験で示したこととほぼ同様の結果となっている^{21~23)}。

G-CSF 投与の際の問題点

大腸菌由来の G-CSF は、分子に糖鎖がなく pH は酸性(4.0付近)では安定であるが、中性付近では凝集して活性低下をきたす。したがって、点滴溶媒には投与直前に溶解する。溶媒にはヒト血清アルブミン 2mg/ml を含んだ生理食塩水、または5%ブドウ糖溶液などを用いている。また、ガラスなどに吸着されやすいため、上記のようにヒト血清アルブミンを含んだ溶媒を用いている。

抗癌剤投与の G-CSF のタイミングについては、いまだ試行錯誤の段階であるが、抗癌剤が有効血中濃度よりも低くなるまでクリアランスされておればよいと考えられている。したがって、通常、抗癌剤24時間後でよいと考えられる。また、G-CSF を抗癌剤投与の直前まで投与した場合は、白血球減少の Nadia がより低くなることがある。これは、G-CSF により骨髓の前駆細胞の細胞周期が同調しているため、抗癌剤による顆粒球減少がよりひどくなるものと考えられる。したがって、G-CSF の投与は、抗癌剤投与終了後24時間より開始し、2回目の抗癌剤投与の48時間前までには G-CSF の投与をやめておく必要がある。また、1回目の G-CSF 投与よりも2回目の G-CSF の投与のほうが効果がいちじるしい。すなわち、G-CSF によって前もって骨髓の顆粒球前駆細胞のリザーブを増やしておくと、その後の G-CSF の投与効果がいちじるしくなり、顆粒球減少を完全に防止できる可能性もある。すなわち、かなり前より G-CSF を投与しておいて、抗癌剤投与前数日間は中止し、投与後24時間後より G-CSF を再開することにより、顆粒球減少を防止できるかもしれない(図17)。

また、抗癌剤の投与方法には、最初の抗癌剤投与開始後1週間たってから抗癌剤を追加するプロトコールもあ

図 17 G-CSF による顆粒球減少の予防と治療

表 4 骨髓障害を克服できた場合の抗癌剤の最大投与量

endoxan	500—7,500mg/sq・m
VP-16	300—2,400mg/sq・m
BCNU	100—1,000mg/kq・m

る。このような場合は、上に述べた原則（前の G-CSF と抗癌剤投与の間は48時間以上間隔をおく、抗癌剤投与終了より24時間後から G-CSF をスタートする）を一応念頭において、それぞれのプロトコールと G-CSF の投与法の組合せの中で最適なものを探案していく必要がある。

つぎに、投与量であるが、現在筆者らが日常使用している抗癌剤の投与量に対して、G-CSF を用いる場合は、5~10 μ g/kg の G-CSF を1日1回点滴静注することで十分な効果が期待できる。すなわち、G-CSF の血中の生物活性は約10時間で1/100程度となる。5 μ g/kg の G-CSF を静注後の最高血中濃度は、40~50ng/ml程度であり、したがって、10時間後は400~500pg/mlの血中濃度（ほぼ G-CSF の有効血中濃度）となる。したがって、連日5 μ g/kg 以上の G-CSF を1日1回点滴静注することで、ほぼその効果が発現されている。しかし、すでに大量の抗癌剤や放射線の投与歴がある場合や、通常よりも大量の抗癌剤を投与する場合は、G-CSF の投与量を増大させる必要がある。

CSF による新しい癌治療法の開発の可能性

抗癌剤や放射線による骨髓障害は癌の治療を行う場合の dose-limiting factor である。もし、骨髓障害をまったく考える必要がない場合、それでは癌の治療法はどこまで進歩するであろうか。表4にもし骨髓障害を度外視した場合、既存の抗癌剤の投与量がどの程度まで増大可能を示す。ほとんどの抗癌剤が、現在の投与量の10倍以上の大量投与が可能となると考えられる。したがって、もし CSF などの造血因子を用いることにより、骨髓障害の程度を非常に軽く抑えられるとなると、癌の化学療法に大きな進歩が期待できる(図1,2)。

通常量の10倍の薬剤がルーチンに投与可能となれば、癌のなかにはその根治療法を確立できるものも出現するかもしれない。

また、現在まで開発の途中でその強い骨髓抑制のため中座しているニトロソウレア系の抗癌剤なども、CSF を

併用することによって使用が可能となるかもしれない。

おわりに

G-CSF は、顆粒球の産生を促し、また、その機能を亢進させる作用を持つことが示された。このことは G-CSF が顆粒球の減少や機能低下をきたすような状態の患者に有用な感染症の予防または、治療薬となることを示唆している。このように生体側の防御機能を各種の造血ホルモンを用いて高めることにより、効果的な癌の治療法が開発されることを期待したい。

文 献

- 1) Pluznik, P.H., Sachs, L.: The cloning of normal "mast" cell in tissue culture. J. Cell Comp. Physiol. 66: 319-324, 1965.
- 2) Bradley, T.R., Metcalf, D.: The growth of mouse bone marrow cells *in vitro*. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 44: 287-300, 1966.
- 3) 岡部哲郎, 浦部晶夫, 高久史磨: エリスロポエチンと colony stimulating factor. 臨床科学 22: 356-365, 1986.
- 4) 岡部哲郎: CSF とグラニューロポエチン. 実験医学 5: 805-810, 1987.
- 5) Asano, S., Urabe, A., Okabe, T. et al.: Demonstration of granulopoietic factor(s) in the plasma of nude mice transplanted with a human lung cancer and in the tumor tissue. Blood 69: 845-852, 1977.
- 6) Okabe, T., Suzuki, A., Ohsawa, N. et al.: Immune elimination of host fibroblasts for the cultivation of human tumors transplanted into nude mice. Cancer Res. 39: 4187-4194, 1979.
- 7) Okabe, T., Sato, N., Kondo, Y. et al.: Establishment and characterization of a human cancer cell line that produces human colony stimulating factor. Cancer Res. 38: 3910-3917, 1978.
- 8) Okabe, T., Nomura, H., Ohsawa, N.: Establishment and characterization of a human colony-stimulating factor(CSF)-producing cell line from a squamous cell carcinoma of the thyroid. J. Natl. Cancer Inst. 69: 1235-1243, 1982.
- 9) Okabe, T., Fujisawa, M., Kudoh, H. et al.: Establishment of a human colony-stimulating factor (CSF)-producing cell line from an undifferentiated large cell carcinoma of the lung. Cancer 54: 1024-1029, 1984.
- 10) Okabe, T., Ohsawa, N.: Human colony-stimulating factor producing cell line. Cell Mol. Biol. 27: 157-167, 1981.
- 11) Okabe T., Nomura, H., Sato, N. et al.: Large-scale preparation and characterization of a human colony-stimulating factor. J. Cell Physiol. 110: 43-49, 1982.
- 12) Nicola, N.A., Metcalf, D., Johnson, G.R. et al.: Separation of functionally distinct human granulocyte macrophage colony-stimulating fac-

- tors. Blood 54: 614-627, 1979.
- 13) Okabe, T., Takaku, F.: Long-term cultivation of human colony-stimulating factor (CSF)-producing cell line in a protein-free chemically defined medium. Cancer Res. 44: 4503-4506, 1984.
 - 14) Okabe, T., Takaku, F.: *In vivo* granulocytopoietic activities of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor. Exp. Hematol. 14: 475, 1986 (abstr.).
 - 15) Fujisawa, M., Kobayashi, Y., Okabe, T. et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor induces granulocytosis *in vivo* Jpn. J. Cancer Res. 77: 866-869, 1986.
 - 16) Shimamura, M., Kobayashi, Y., Yuo, A. et al.: Effect of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic injury in mice induced by 5-fluorouracil. Blood 69: 353-355, 1987.
 - 17) Kobayashi, Y., Okabe, T., Urabe, A. et al.: Human granulocyte colony-stimulating factor produced by *Escherichia coli* shortened the period of granulocytopenia induced by irradiation in mice. Jpn. J. Cancer Res. 78: 763-766, 1987.
 - 18) Yuo, A., Kitagawa, S., Okabe, T. et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor repairs the abnormalities of neutrophils in patients with myelodysplastic syndrome and chronic myelogenous leukemia. Blood 70: 404-411, 1987.
 - 19) Uzumaki, H., Okabe, T., Sasaki, N. et al.: Characterization of receptor for granulocyte colony-stimulating factor on human circulating neutrophils. Biochem. Biophys. Res. Commun. 156: 1026-1032, 1988.
 - 20) Kobayashi, Y., Okabe, T., Uzumaki, H. et al.: Differentiation therapy of myelodysplastic syndrome by recombinant granulocyte colony-stimulating factor. Am. J. Med. 86: 1989. (in press).
 - 21) Bronchud, M.H., Scarffe, J.H., Thatcher, N. et al.: Phase I / II study of recombinant human granulocyte colony stimulating factor in patients receiving intensive chemotherapy for small cell lung carcinoma. Br. J. Cancer 56: 809-813, 1987.
 - 22) Gabrilove, J.L., Jakubowski, A., Scher, H. et al.: A study of recombinant human granulocyte colony stimulating factor in cancer patients at risk for chemotherapy induced neutropenia. New Engl. J. Med. 318: 1414-1422, 1988.
 - 23) Morstyn, G., Campbell, L., Duhsen, U. et al.: Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF): Abrogation of cytotoxic chemotherapy induced neutropenia. Lancet 1: 667-671, 1988.