脳腫瘍に対する細胞性免疫機構の私見と 非特異的免疫療法

栗坂 昌宏・坪川 孝志・森安 信雄

A Role of Brain in Cell-mediated Immunity and Non-specific Immunotherapy of Brain Tumors

MASAHIRO KURISAKA, TAKASHI TSUBOKAWA and NOBUO MORIYASU

Department of Neurological Surgery, Nihon University

Summary

A role of brain in cell-mediated immunity and non-specific immunotherapy for brain tumor patients were studied, not only experimentally but also clinically, employing stereotaxic operation and intravenous injection of heparinoid extracted from tragacanth gum (TGDS). The following interesting results were obtained:

1. Destruction of the striatum in rabbits leads to hypofunction of the reticuloendothelial system (RES) and lymphopenia in the peripheral blood.
2. Unilateral thalamotomy for involuntary movement or thalamic pain caused lymphopenia, mainly of T-cell, as well as decrease of IgE globulin in the peripheral blood of the patients.
3. In the tumor bearing host with severe disturbance of consciousness lymphopenia in the peripheral blood or suppressed function of cell-mediated immunity occurred frequently. This phenomenon is considered to be the result of dysfunction of brain stem, including basal nuclei.
4. The effectiveness of heparinoid (TGDS) was proved clinically, and tuberculin (PPD) skin test turned positive in patients with marked dysfunction of RES and negative PPD reaction after TGDS administration and transfusion of fresh blood from TGDS administered donors.

I はじめに

腫瘍の発生や侵入という現象が、宿主における immunological surveillance system の障害に由来するものであらうと考えられてから³⁾、癌治療への道として免疫療法が注目され、特に障害された reticuloendothelial system (RES) の機能を中心とする免疫機構を修復することにより癌を治療しようという試みがなされつつある²⁾。脳腫瘍患者に対しても同様の発想から免疫療法が行なわれているが、脳には他臓器とは異なるいくつかの解剖学的特殊性があり、脳腫瘍患者においてはこの特殊性が免疫応答を主体とする免疫現象に多くの特異性を発現する

であらうと推測される。

我々は脳腫瘍患者の末梢血リンパ球数を算定する際、特に意識障害の出現する前後で著明にリンパ球数が変動することに着目し、実験的にこの mechanism を究明する一方、免疫抑制の強い脳腫瘍例に heparinoid の一種、tragacanth gum degradation sulfation (TGDS)²⁾ を用いて非特異的免疫療法を行ない効果が得られたので報告する。

II 脳と細胞性免疫

1. 対象

実験対象として体重 2 kg 以上の成熟家兔の雄 50 頭を用

Fig. 1 The RES function (congo red index) following to destruction of the striatum or others

意し、2週間の経過観察のち体重の増加が良く下痢や脱毛のない45頭を対象として選んだ。金属ゲージに各box 1頭ずつの家兎を収納し、水と固型飼料を自由に与えた。

臨床例から glial tumor 22例 (glioblastoma multiforme 5, oligodendroglioma 2, ependymoma 2, ependymoblastoma 1), non-glial tumor 21例 (meningioma 8, meningosarcoma 2, pituitary adenoma 11) 及び thalamic pain 2例, parkinsonisms 4例を選び control 群として健康成人68名を選んだ。

2. 方法

家兎を無麻酔下に固定し、右 coronal suture の前部で正中線より約 5 mm 外側に burr hole を穿ち、stereotaxic method により 70McH_z の高周波で10秒間焼灼し、striatum に lesion を作製した。このほか hypothalamus, cerebral cortex に lesion を作製し、burr hole のみ穿った control 群と末梢血 leukocyte 数及び RES 機能の変化について、lesion 作製前と後3時間における値を比較検討した。Leukocyte count は routine の方法で行ない、lymphocyte count は smear を引き Giemza-Wright 染色

を行なったのち、leukocyte 200 個 count にてその比率を算定した。RES 機能は Adler の方法¹⁾ に準じ congo red index で計測した。

congo red index (CRI) =

$$\frac{60 \text{ 分後の serum congo red 濃度}}{4 \text{ 分後の serum congo red 濃度}} \times 100$$

臨床例における T-cell count は、矢田らの方法¹⁶⁾ に準じて行ない、腫瘍群、非腫瘍群及び健康成人における末梢血 lymphocyte subpopulation を比較した。

意識障害に伴う末梢血 lymphocyte 数の変化は、入院時における leukocyte 数及び lymphocyte 数と、高度な意識障害 (semicoma ~ coma) が出現して3日以内に算定した leukocyte 数ならびに lymphocyte 数を比較することにより検討した。

Thalamic pain や parkinsonisms 例には入院時の leukocyte 数及び serum immunoglobulin と thalamotomy (70McH_z 高周波で10秒間焼灼) 施行後3時間、24時間、3日さらに7日後における末梢血 leukocyte 数、serum immunoglobulin 及び T-cell 数の変化を検索した。顔面頭痛例には右側の CM thalamotomy を行ない (Fig.2), parkinsonisms 例には一侧の Vim か VL と subthalamic area との thalamotomy を施行した。

3. 結果

Stereotaxic に striatum を破壊した家兎は、翌日死亡したものや lesion が striatum 以外に波及するものを除き8頭が満足すべき対象となった。このため各グループからそれぞれ8頭を対象として選び、この32頭について検索した。Lesion 作製後3日目の各群における RES 機能は Fig. 1 に示すとおり striatum 破壊群で著明な機能低下を認め、CRI は38から59までの分布を示し平均47であった。Cerebral cortex 破壊群と hypothalamus 破壊群の CRI はほぼ同様の分布を示し平均値は22と24であり、control 群の平均値20.5をわずかに下回る程度で完全な RES 機能低下とは言えない。

Lesion 作製前後における末梢血中 leukocyte 及び lymphocyte 数の変動は Table 1 に示すごとくであり、striatum 破壊群では lesion 作製後に % lymphocyte 数及び lymphocyte 絶対数の著しい減少を認めるが leukocyte 数の減少は軽度であった。Cerebral cortex 破壊群では lesion 作製前後で特に変化を認めなかったが、hypothalamus 破壊群では lesion 作製後に leukocyte 数の軽度減少傾向と lymphocyte 絶対数の減少を認めるとともに % lymphocyte 数の軽度の増加傾向を認めた。Control 群では術後 leukocyte 数及び lymphocyte 数の増加傾向が見られた。しかし striatum 破壊群以外で

Shino T. 56 y. male; thalamic pain
(sensory evoked potential)

Fig. 2

Table 1 The changes in the numbers of circulating leukocytes
following to destruction of the striatum or others

	before operation			after operation		
	wbc (mm ³)	lymphocyte %	total no.	wbc (mm ³)	lymphocyte %	total no.
striatum	8400	23	1932	6900	13	897
cerebral cortex	9100	27	2457	8800	28	2464
hypothalamus	10500	25	2625	8700	28	2436
control(burr hole)	7200	18	1296	7500	20	1500

Table 2 The average population of T-cells in peripheral blood

no.	cases	population	T-cell(%)
1	glial tumor	22	32±15
2	non-glial tumor	21	36±9
3	thalamic pain	2	43±3
4	involuntary movement	4	39±7
5	healthy human	68	41±13

lesion 作製前後に末梢血細胞数の著しい変動を見るものではなく、統計学的に5%の危険率で有意の差を認める変化はなかった。

健康成人68名の末梢血 T-cell 数は Table 2 に見るごとく41±13%であり、脳疾患例のうち glial tumor 群22例では32±11%でありわずかに低値を示した。Non-glial tumor 群21例では36±9%とこれもやや低値を示したが、thalamic pain の2例では43±3%, parkinsonisms の4例では39±7%とほぼ正常の値を呈した。

意識障害のない tumor 例で T-cell のみ著明に減少している例はなく、また T-cell が正常値より著しく減少している例もなかった。しかし高度の意識障害が出現したときには、Table 3 に見るように leukocyte 数にはほとんど変化を見ないが、% lymphocyte 数、lymphocyte 絶対数及び T-cell 数の著しい減少を認めた。しかもこのような変化は、必ずしも組織学的悪性度とは一致せず意識障害の強さに依存している点が興味深い。

非腫瘍群の thalamotomy 前後における末梢血細胞数

Table 4 The changes in the numbers of circulating leukocytes and the amount of immunoglobulins following to the thalamotomy

		Thalamic pain	Parkinsonisms
Before thalamotomy	White blood cell (mm ³)	5800	6100
	Lymphocyte (%)	41	37
	population T-cell(%)	2378	2257
		31	34
	Immunoglobulins		
	IgG (mg/dl)	1620	1005
	IgA (mg/dl)	160	140
	IgM (mg/dl)	110	96
	IgE (iu/ml)	100	75
After thalamotomy	White blood cell (mm ³)	9600	7100
	Lymphocyte (%)	6.0	3.5
	population T-cell (%)	576	248
		22	28
	Immunoglobulins		
	IgG (mg/dl)	1600	1020
	IgA (mg/dl)	180	125
	IgM (mg/dl)	115	110
	IgE (iu/ml)	55	55

の変化は Table. 4 のごとくで、leukocyte 数には大した変化を見ないが、腫瘍群の場合と同様に % lymphocyte 数、lymphocyte 絶対数及び T-cell 数の著明な減少と免疫グロブリン IgE の減少を認めた。しかし IgE 以外の免疫グロブリンは lesion 作製前後ではほとんど変化し

Table 3 The changes in the numbers of circulating leukocytes following to consciousness disturbance

histological diagnosis	population	clear				semicomatous			
		wbc	lymphocyte			wbc	lymphocyte		
			(%)	total	T-cell		(%)	total	T-cell (%)
glioblastoma multiforme	5	6700	21	1407	31	6900	6.5	449.5	25
astrocytoma grade I-III	7	6300	20	1260	37	7100	4.0	284.0	24
medulloblastoma	5	7000	24	1680	33	6400	9.5	608.0	27
oligodendroglioma	2	7100	20	1420	30	~	~	~	~
ependymoma	2	6800	32	2176	36	~	~	~	~
ependymoblastoma	1	8200	17	1394	35	5400	3.5	189.0	28
meningioma	8	7100	30	2130	42	~	~	~	~
meningiosarcoma	2	6600	24	1584	36	7300	6.5	474.5	24
pituitary adenoma	11	6800	28	1904	39	~	~	~	~
mean		6956	24	1662	35.4	6620	6.0	401.0	25.6

なかった。

4. 考察

血液の諸性状が自律神経系により支配されていることは、理論的にもまた神経系疾患における諸種の症状からもきわめて古くから想像されていたが、Eppinger と Hess (1910)⁴⁾ が実験的にこのことを証明して以来、その機能中枢の局在は脳幹部に求められた。やがて白血球の中枢性支配が明らかにされ、末梢血リンパ球数の変動に関しても岡本ら(1952)¹⁰⁾の報告を見る。我々は免疫担当細胞の中枢性支配の可能性をさぐるため、基底核群を含む脳幹部を破壊しその結果見られる末梢血中の免疫担当細胞数の増減ならびに RES 機能を検索したわけである。その結果家兎の striatum 破壊群では RES 機能の著明な低下とともに末梢血 lymphocyte 数の減少を認めた。しかし leukocyte 数はほとんど変化しなかった。一方、hypothalamus 破壊群では諸家ら¹¹⁾の報告に反し末梢血 leukocyte 数及び lymphocyte 数に著変を認めなかったが、このことは lesion を作るとき破壊巣が大きく同時に数種の核を破壊しているためであろうと考えられる。

これらの結果は、末梢血リンパ球数を左右する機能の局在が白血球数を左右する部とは異なっていることを示唆しており、白血球数とリンパ球数とは必ずしも正比例的に変動するものではないことを呈示した。基底核群のうち striatum 特に caudate nucleus に RES 機能及び末梢血リンパ球数を左右する機能の局在があるように思われる。

一方、一側性の striatum 破壊例では lesion 作製後60分より末梢血 lymphocyte 数の相対的ならびに絶対的数の減少を認めるが、この現象は4~6週以内に徐々に改善傾向を示し、7週以後においてはほとんどの症例で RES 機能及び末梢血 lymphocyte 数は lesion 作製前に回復する。CM thalamotomy を施行した臨床治験例では、術後3時間目に行なった検査で末梢血 lymphocyte 数特に T-cell の相対数及び絶対数が B-cell のそれよりもはるかに減少していること、また免疫グロブリンのうち IgE のみが減少する結果を得た。この結果は、間脳が RES 機能に関与することのみならず T-cell を中心とする cell-mediated immunity に相関関係のあることを示唆しているものと考ええる。

脳は immunological weak site の organ と考えられ、ここに発生する腫瘍は一部を除いて組織学的に良性とみなされており、異物としての抗原性に乏しい腫瘍と理解されている。しかし最近になって脳腫瘍患者の血清中に自己抗体の存在することが、免疫粘着法¹²⁾や組織蛍光抗体法⁸⁾で証明されるにつけ、脳腫瘍患者の末梢血 lym-

phocyte 数が検討され、悪性脳腫瘍患者では他臓器の腫瘍例と同様に減少傾向を示すことが指摘された⁹⁾。我々の検索では Table 3 に見るごとく、意識障害のない状態で著明な lymphocyte 数の減少を認める例はなく、特に T-cell のみ減少している例はなかった。このような症例も高度の意識障害に陥ると直ちに末梢血 lymphocyte 数特に T-cell 数の著しい減少をきたし、tuberculin skin test (PPD 反応) はしばしば陰転した。従って諸家の報告は、意識障害の有無を無視して脳腫瘍患者の末梢血 lymphocyte 数を算定した結果を示したものと考えられる。意識障害に伴う免疫機能の低下は、意識障害をきたすような病態が基底核群を含む脳幹部の機能を低下させるために惹起されるものと推察される。このため高度の意識障害に陥った脳腫瘍例に対しては、一刻も早く意識障害を脱しうる手段が講じられるべきであり、意識障害が遷延する場合には人為的に末梢血 lymphocyte 数特に T-cell 数を増加させ、RES の機能を回復または亢進させ、免疫機構を改善するための処置が講じられなければならない。

これらの論拠により、免疫抑制の著しい脳腫瘍患者6例に非特異的免疫療法を行なった。

III 脳腫瘍の非特異的免疫療法

1. 対象と方法

Table 5 に示す6例 (astrocytoma, germinoma, ependymoblastoma, medulloblastoma, meningosarcoma 2例) を対象とした。年齢は9~43才にわたり、男女比は3:3である。

これらの症例に TGDS 20~40 mg を経静脈的に5日間1クールとして連日投与し、leukocyte 数が6000/mm³以上で、lymphocyte が25%以上か1500/mm³以上に達

Table 5 Prognosis of the TGDS administed patients

no.	name	age	sex	path. diagnosis	prognosis
1	S. O.	34	female	astrocytoma g-Ⅱ	61 mon. survival
2	I. S.	12	female	germinoma	39 mon. survival
3	K. H.	9	male	ependymoblastoma	6 mon. death
4	A. S.	6	male	medulloblastoma	36 mon. survival
5	T. T.	19	female	meningosarcoma	27 mon. death
6	S. I.	43	male	meningosarcoma	31 mon. survival

Fig. 3 Case 3. 9 y. male ependymoblastoma

Fig. 4 Case 4. 6 y. male medulloblastoma

したものは一時的休止経過観察した。これと並行して末梢血 T-cell 数の算定ならびに PPD 反応を検索した。PPD 反応は 0.05 μ g/0.1ml PPD solution を前腕屈側正中部に皮内注射し、48時間後に判定し、発赤または硬結範囲が 4 mm 以下のものを陰性、5 ~ 9 mm のものを疑陽性、10 mm 以上のものを陽性とした。

2. 結果

TGDS による非特異的免疫療法を行なった 6 例の脳腫瘍患者の予後は Table 5 に示すとおりで、すでに 6 例中の 2 例を失っているが残りの 4 例中 2 例は完全に社会復帰している。このうちの症例 3 と 4 の臨床経過を Fig. 3 と 4 に呈示した。

症例 3 は小児科からの転科時に高度の意識障害が見られ、% lymphocyte 数は 3.5%、絶対数は 480/mm³ であり T-cell は 30% であった。手術予定の前日に呼吸停止をきたし、TGDS の投与と mechanical respirator による人工呼吸を開始した。12時間後に 7 ~ 8 回/分の自発呼吸が見られるようになり vital sign は安定してきた。

TGDS を 5 日間投与したが、monocyte が 3% から 6% に増加した以外特に変化を見なかった。PPD 反応は陰転しており、低蛋白血症に対して行なった新鮮血輸血も一過性に末梢血 leukocyte 数が増加したにすぎず、1 カ月後には再び減少してしまった。再び輸血が必要になったとき、donor に TGDS を投与し lymphocytosis の最も著明に出現する注入後 90 ~ 120 分後に採血し、これを新鮮血輸血した。このような免疫能賦活血液の注入とともに recipient にも TGDS を継続投与した結果、意識レベルの著明な改善とともに lymphocytosis が見られ、PPD 反応が陽転した。T-cell 数も 44% にまで改善され、経管栄養が可能となり入院 6 カ月目に radical operation を試みたが、術中 vital sign の悪化が見られ biopsy にとどまった。術後に meningitis が合併し、再び吸収停止に見まわれ死亡した。

症例 4 は、腫瘍の部分切除ののちより radiotherapy を行ない、vermis に 3500 rad, spinal cord に 1500 rad を照射し一時軽快退院していたが、再び意識障害が著明となり再入院してきた例である。⁶⁰Co の照射により意識レベルの改善と神経症状の改善を認めたが、末梢血 leukocyte 数の著明な減少が出現したため 1500 rad を照射したところで中止した。TGDS が donor に投与され免疫賦活血液を輸血したのち ataxia を残したまま退院した。その後は外来通院で TGDS の単独投与を行なった結果、3 カ月目にして末梢血に leukocytosis と lymphocytosis が認められ、ataxia も消失し元気で通学しており、激しいスポーツもこなせるようになった。

この症例においては全経過を通じて PPD 反応の陰転は見られていない。

3. 考察

現在、わが国では脳腫瘍患者に対して多種多様の免疫療法が行なわれているが、脳腫瘍例で特に意識障害が強く免疫抑制の著明な症例には単なるリンパ球輸注や免疫賦活剤の投与のみでは効果が得られない。このような例にはその donor の RES を賦活し immunological surveillance system を賦活した免疫能賦活血液を輸血することにより、免疫賦活剤に対する感受性が強化され免疫機構の著明な改善とともに、宿主の腫瘍に対する抵抗性が強化されるものと考えられる。一方、症例 4 では全経過を通じて PPD 反応の陰転を認めていない。このことは delayed hypersensitivity に関する T-cell が radiation に対して抵抗性のあることを示しており、T-cell の多く存在する症例では TGDS の単独投与で十分な効果が得られるものと考えられる。Chemotherapy の単独療法や radiotherapy との併用療法を行なった例ではしばしば

PPD 反応が陰転し, chemotherapy が cell-mediated immunity (CMI) に対し毒性の強いことを示唆している. このため chemotherapy を行なう場合は RES 機能の賦活剤などを併用する必要がある.

我々が TGDS による非特異的免疫療法を行なった 6 症例についてその予後を見ると, 延命効果はかなり期待できるが完全に社会復帰しえたものは 2 例であり, いまだに納得のゆく成績が得られていない.

現在の免疫療法は CMI の機能を中心として展開されており, 特に delayed hypersensitivity T-cell の増減で効果を見ているが, cytotoxic T-cell, helper T-cell, suppressor T-cell などの増減が注目されなければならない. Phagocyte と CMI との関係が明らかにされる必要があるし, 今後さらに免疫療法を進展させるためには phagocyte の賦活法についても検討が加えられなければならない. また, blocking factor⁹⁾ や immune complex の処理の問題, さらに null cell¹⁰⁾ 数の変化とその意義の解明が要求されている.

脳腫瘍の患者に steroid hormone の投与は欠くことのできないものであるが, prednisolone 60 mg の経口投与は末梢血 lymphocyte 数特に T-cell を減少させると報告されている¹¹⁾. しかし積極的に使用した方が良いという報告も見られる¹²⁾. Glucocorticoid の各種 T-cell への影響力をはじめ, immune complex や blocking factor⁹⁾ に対する相関関係を解明した上で, その使用量や使用方法が検討されるべきであろう.

最も重要なことは, 免疫賦活剤の投与と中止をどのように何を指標として実施するかということである. 中途半端な治療は, 抗腫瘍性を与えず, 逆に腫瘍の発育を促進させる可能性のあることを知るべきであろう¹³⁾.

IV 結 論

脳の細胞性免疫機構に対する役割と脳腫瘍の非特異的免疫療法について, 32頭の家兎による実験 data と 49名の脳疾患症例より得た data を解析し次の結論を得た.

1. Striatum の破壊は RES の機能低下と末梢血 lymphocyte 数の減少を惹起する.
2. CM, Vim 及び VL の破壊は末梢血 lymphocyte 数特に T-cell の減少と IgE の減少を惹起する.
3. 脳腫瘍患者が高度の意識障害に陥ると, 末梢血 lymphocyte 数の激減をきたすがこれは基底核群を含む脳幹部の機能障害によるものと考えられる.
4. 免疫抑制の強い症例には TGDS の継続投与と免疫能賦活血の輸血が効を奏すが, CMI が多少とも機能している症例では TGDS の単独投与で十分な効果が得

られた.

このほか免疫療法を進展させるための問題点について私見を述べた.

終稿に臨み御校閲いただいた京大病理瀆島教授に深甚なる謝意を表し, TGDS に関し御便宜いただいた日本医大産婦人科大川教授をはじめ御助言いただいた京大ウィルス研花岡教授, 本学病理川生助教授に心からなる感謝の意を表します.

文 献

- 1) ADLER, H. & REIMAN, F.: Beitrag zur Funktionsprüfung des Reticuloendothelialen Systems. *Zschr. Exp. Med.* 47: 617-633, 1925
- 2) 天野国秀: 人工ヘパリン体の網内系組織に及ぼす実験的研究, 第一報; リンパ節及び脾臓における組織学的ならびに電子顕微鏡学的研究. 日本網内系学会会誌 13: 1-25, 1973
- 3) BURNET, F. M.: Immunological surveillance. *Pergamon Press Oxford*: 1-280, London, 1969
- 4) EPPINGER, H. & HESS, L.: Zur Pathologie des Vegetativen Nervensystem. *Klin. Med.* 66: 345-351, 1909
- 5) HELLSTRÖM, I., HELLSTRÖM, K. E., SJOGREN, H. O. & WARNER, G. A.: Serum factors in tumor-free patients cancelling the blocking of cell mediated tumor immunity. *Int. J. Cancer.* 8: 185-191, 1971
- 9) 久保長生, 清水隆, 喜多村孝一, 高倉公朋: 脳腫瘍患者の免疫機能 — 末梢血リンパ球の動態ならびに遅延型免疫反応. 医学のあゆみ 89: 20-22, 1974
- 7) KURISAKA, M.: Nonspecific immunotherapy of brain tumors by Tragacanth Gum Degradation Sulfation (TGDS). *Nihon Univ. J. Med.* 17: 223-238, 1975
- 8) 栗坂昌宏, 森安信雄: 松果体部腫瘍における lymphoid cell の免疫学的意義. 脳神経 26: 987-992, 1974
- 9) LEVY, N. L.: Use of an in vitro microcytotoxic test to assess human tumor-specific cell-mediated immunity and its serum-mediated abrogation. *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 37: 85-92, 1973
- 10) 岡本道雄, 小田茂: 自律神経系とリンパに関する研究. 脳神経領域 5: 239-270, 1952
- 11) PREHN, R. T.: The immune reaction as a stimulator of tumor growth. *Science.* 176: 170-171, 1972
- 12) 清水隆, 鬼頭健一, 窪田惺, 喜多村孝一, 高倉公朋: 脳腫瘍に対する体液性自己抗体の検出. 脳神経外科 2: 747-756, 1974
- 13) 高倉公朋, 脳腫瘍に対する免疫療法. 臨床外科

30 : 1435-1441, 1975

- 14) 亘繁, 越智豊: 乳嘴体の生理学的機能について
大阪医会誌27 : 2183-2198, 1923
- 15) 矢田純一, 橘武彦: ヒトリンパ球と補体結合性
リンパ球の証明法: 免疫実験操作法Ⅱ. 日本免疫
学会編 473 p., 1972
- 16) YATA, J., TSUKIMOTO, I. & ARIMOTO, T.:
Human thymus lymphoid tissue (HTL) antigen,
complement receptor and rosette formation
with sheep erythrocytes of the lymphocytes
from primary immunodeficiency disease. *Clin.
Exp. Immunol.* 14: 309-317, 1973
- 17) YU, D.T., PETER, J. B. & PAULUS H. E.:
Human lymphocyte subpopulations effect of cor-
ticosteroids. *J. Clin. Invest.* 53: 565-573, 1974