悪性疾患患者に対する化学療法, 免疫療法, 免疫化学療法 施行前後に於ける細胞性免疫能の変動

—特に胃癌患者を中心に—

東京医科大学外科学第3講座 (指導教授: 牧野惟義)

大学院 田 淵 崇 文

FLUCTUATIONS IN CELLULAR IMMUNOABILITY BEFORE AND AFTER
CHEMOTHERAPY IMMUNOTHERAPY AND IMMUNOCHEMOTHERAPY
OBSERVED IN PATIENTS SUFFERING FROM MALIGNANT DISEASES

—Mainly Stomach Cancer—

Graduate Student: Takafumi TABUCHI

3rd Lecture Department of Surgery, Tokyo Medical College

(Instructing Professor: Koreyoshi Makino)

免疫不全状態を背景にしている担癌宿主の細胞性免疫能の変動を観察することは、治療の選択、予後判定の一指標となると考え、手術施行担癌患者に5FU, FT-207及びMMCの単独或は併用による化学療法, OK-432による免疫療法, さらに両者を併用した免疫化学療法を胃癌症例63例を中心に計98例に独自のプロトコールにのっとり施行し, 細胞性免疫能の変動を末梢血T細胞, 遅延型皮膚反応で観察した。

I. 実験方法

- 1) T細胞測定: 比重1.077の Sodium Metrizoate ficoll を用い, 比重遠心法にて分離したリンパ球をマイクロテストプレート法にてT細胞とB細胞に識別した。
- 2) 遅延型皮膚反応: PPD 及び PHA を抗原として, 患者前腕に皮内接種し, 平均紅斑径を測定した。

II. 実験結果及び結語

- ① 化学療法により担癌宿主の細胞性免疫能は低下する。
- ② 多剤化学療法に於いてその傾向は著明であった。
- ③ 治癒切除例では, 化学療法による細胞性免疫能低下は軽微であった。
- ④ 免疫療法により担癌宿主の細胞性免疫能は保持向上する。
- ⑤ 非切除例及び再発例では, 細胞性免疫能の保持向上は殆んど期待できない。
- ⑥ 免疫化学療法でも, 担癌宿主の細胞性免疫能は保持向上され, 化学療法による殺腫瘍効果と免疫療法による免疫賦活効果の相乗効果が期待できる。
- ⑦ いずれの治療法に於いても残存腫瘍の大きい非切除例及び再発例では, その効果はあまり期待できない。
- ⑧ 現状に於いて, 担癌宿主の細胞性免疫能を経時的に観察しつつ, 化学療法に免疫療法を併用した免疫化学療法が最も有効である。

第 I 章 緒 言

癌の治療は、従来外科的手術療法、放射線療法、化学療法の3大治療法が中心となり、単独に或は併用によってそれなりの効果を挙げてきた。又近年、診断技術の著しい向上により、より早期のものが発見されるようになり、その遠隔成績も向上している。然し、これらの治療法にも一定の限界があり、進行癌の5年生存率の面からも明らかな如く、現状に於いてこれ以上の飛躍の治療効果の向上は期待出来ない。しかし、近年腫瘍免疫学の発達とともに癌特異抗原 (tumor specific antigen TSA)、腫瘍関連抗原 (tumor associated antigen) が明らかになってきた。しかもこれらの抗原に应答するのは、マクロファージ、リンパ球であると考えられてきた。すなわち、生じた癌抗原はマクロファージによってまずとらえられ、リンパ球特にT細胞の表面の抗原受容体にわたり、リンパ球は刺激を受け分裂増殖し感作リンパ球が生じると言われており、この感作リンパ球が癌細胞に近づくと、lymphotoxin mitogenfactor, macrophage inhibitory factor などの諸因子が出され癌細胞を攻撃すると考えられている¹⁾²⁾³⁾。この様に癌の免疫応答は、細胞性免疫が主体をなしているが、一方では体液性免疫の関与も主張されている。しかし、このような免疫応答が担癌体に至るにもかかわらず癌増殖は現実には起っている。その理由の一つとして、癌の抗原性が低く、さらに癌細胞から遊離するある因子によって宿主の一般的免疫応答力の低下が考えられる。担癌体の基盤に免疫不全がある限り宿主の免疫機能改善が望まれ、免疫療法の導入が考えられてくる。しかも従来行われてきた化学療法では、大なり小なり免疫系に影響を与え、時として免疫不全を助長することも考えられ、免疫療法の併用を考えねばならない。そこで著者は、癌治療にあたって細胞性免疫能の動態を観察することは、治療の選択、予後判定の大きな指標となると考え本研究を行った。

第 II 章 実験材料及び方法

第 1 節 対象症例

対象症例は、表 1 左に示す如く、胃癌症例63例を中心に計98例につき、化学療法、免疫療法、免疫化学療法を施行し、その細胞性免疫能の変動を検討した。これらの症例は、進行癌術後及び再発癌であり、早期癌はその遠隔成績からしても化学療法の対象外と考え除外した。治療別にみた症例数は、表 1 右に示す如く、化学療法群37例、免疫療法群19例、免疫化学療法群42例である。

第 2 節 投与薬剤及びその投与方法

表 1

症 例 数		投 与 法		例数
疾 患	例数			
胃 癌	63	化学療法群	F	19
結腸癌	18		MF	18
肺 癌	3	免疫療法群	O	19
食道癌	2	化学療法 + 免疫療法群	FO	19
胆道癌	2		MFO	23
膵臓癌	3	計		98
乳 癌	4			
その他	3			
計	98			

表 2

投 与 方 法

化学療法	F 群
	MF 群
免疫療法	O 群
化学療法 + 免疫療法	FO 群
	MFO 群

F : 5Fu D. S or FT-207

M : MMC

O : OK-432

MMC 2mg 3/週 静注

5Fu D. S 200mg or FT-207 600mg

連日経口投与

OK-432 筋注 : 0.2 KE 3日間 0.5 KE 3

日間 1 KE 3日間以後 2 KE を維持量とする

—以上各種組合せ 5 週間を 1 クールとする—

投与薬剤は、表 2 に示す如く、化学療法として 5Fu dry syrop 200mg 或は FT-207 600mg を連日経口投与、M.M.C 2mg を週 3 回静脈内投与、免疫療法として OK-432 を筋肉内投与、すなわち 0.2KE を 3 日間、0.5 KE を 3 日間、1 KE を 3 日間と漸増し、以後 2KE を維持量として連日投与した。これらの薬剤を各種組合せ、化学療法として F 群及び MF 群、免疫療法として O 群、免疫化学療法として FO 群及び MFO 群の各群に分け 5 週間を 1 クールとして、施行した。全ての症例は 1 クール投与完了症例である。投与時期は術後生体の内部環境の改善がみられる術後約 2 週間を目やすとして投与開始したが、臨床症状及び臨床検査所見の状態によって投与時期は前後した。化学療法で問題となる副作用については、末梢白血球数 $3 \times 10^3/\text{mm}^3$ 以下、血小板数 $1 \times 10^5/\text{mm}^3$ 以下、トランスアミナーゼ 100 単位以

上、強度の食欲不振、悪心嘔吐、全身倦怠感、長期に渡る 38.0°C 以上の発熱などのいずれか出現した時点で薬剤投与は中止した。

第3節 使用剤料

第1項 末梢血液

末梢血液は、患者前腕よりヘパリン加注射器にてリンパ球分離用静脈血 2~3ml と非ヘパリン加注射器にてヘモグラム用静脈血 2ml を採血し検索に用いた。

第2項 リンパ球識別キット

リンパ球 Subpopulation の検索は、ヒトリンパ球T細胞B細胞微量測定用キット JIMCO T-I を使用した。

第3項 遅延型皮膚反应用抗原

遅延型皮膚反応の検索は、一般診断精製ツベルクリン (purified protein derivative of tuberculin PPD) 及び Wellcome 社製 (purified phytohemagglutinin PHA) を抗原として行った。

第4節 検索時期

T細胞、遅延型皮膚反応及びヘモグラムの検索時期は、クール開始前日を施行前の値とし、1クール終了後経時的に検索した結果、クール終了1週間後の値が妥当と考え施行後の値とした。

第5節 T細胞B細胞の識別法

T細胞B細胞の識別は JIMCO 測定法にのっとり以下の項目の如く行った。

第1項 リンパ球の分離

末梢血液からのリンパ球分離は、比重遠心法にて行った。すなわち、ヘパリン加末梢血液 2~3ml に 1/15 M. phosphate Bufferd salin (PBS) pH7.5 を等量加え、倍数希釈検体を比重1.077のリンパ球分離試薬 Sodium Metrizoate Ficoll (SMF) 混液 3ml 上に静かに重層し、 $400\times g$ にて30分間室温にて遠心する。比重遠心により、赤血球及び顆粒球は最下層に沈澱し、血小板及び血漿成分は上層に浮遊、その中間にリンパ球層を得る。この中間層のリンパ球分画のみを別の試験管に採集し、さらに高純度のリンパ球を得る為に充分量の 1/15 M. PBS を加え混和し、 $240\times g$ にて10分間室温にて遠心しリンパ球を最下層に沈澱させ一部の血小板及び血漿成分などを浮遊させ排除した。さらに試験管底に附着したリンパ球ペレットをミキシングして分離、再度充分量の PBS を加え $160\times g$ にて10分間室温にて遠心しリンパ球洗浄を行い上澄液を除去した。さらにもう1回洗浄を行い合計3回のリンパ球洗浄にて高純度のリンパ球を得た。

第2項 リンパ球数の調整

採取されたリンパ球は、 1×10^6 個/ml となる様に PBS にて調整した。

第3項 補体感作 ヒツジ赤血球 (EAC) の洗浄 EAC は溶血を起こしやすく、溶血赤血球を除去する為に洗浄を必要とする。すなわち、EAC 液を小試験管に移し充分量の PBS を加え、約 $800\times g$ にて10分間室温にて遠心し EAC を沈澱、上澄の不純物を除去し PBS 1ml に再浮遊させ EAC 液として使用した。

第4項 リンパ球のマイクロテストプレートへの滴下 1×10^6 個/ml に調整したリンパ球浮遊液を $50\mu\text{l}$ 用マイクロシリリングにて $1\mu\text{l}$ ずつT細胞判定用、B細胞判定用、ペルオキシダーゼ判定用の3枚のマイクロテストプレート各孔に滴下附着させる。これら3枚のプレートは蓋をし15分間室温にて放置しリンパ球を孔内に安定させた。

第5項 プレートの PLL ブロック

15分間放置した3枚のマイクロテストプレートの各孔に牛胎児血清 Fetal Calf Serum (FCS) をT細胞B細胞判定用プレート孔には $500\mu\text{l}$ マイクロシリリングにて $10\mu\text{l}$ ずつ、ペルオキシダーゼ反应用プレート孔にはロゼット形成不必要なため $0.5\mu\text{l}$ と少量静かに加え、30分間室温にて放置した。この様に FCS を添加することによりプレート孔表面の Poly-L-Lysine (PLL) をブロックし以後の反応をスムーズにした。

第6項 プレート孔の洗浄

PLL ブロックを終えたマイクロテストプレート各孔の FCS は、補体結合反応によるB細胞のロゼット形成を阻害するため FCS の排除が必要となる。すなわち、B細胞用プレート各孔の FCS を毛細管現象を利用してトランベット管にて除去し、各孔に PBS を盛り上げた後、プレートを静かに反転させトランベット管にて PBS と伴に残存 FCS を排除する。この操作を3回くり返し、できる限り FCS を除去する。T細胞のロゼット形成は FCS に阻害されない為、洗浄は不要であり FCS をトランベット管にて除去するだけで次操作を行った。

第7項 リンパ球とヒツジ赤血球及び補体感作ヒツジ赤血球との反応

ヒツジ赤血球 (E) 及び補体感作ヒツジ赤血球 (EAC) をそれぞれの条件下でリンパ球と反応させ、Eロゼット、EACロゼットを形成させた。すなわち、T細胞用プレート各孔にE液を、B細胞用プレート各孔にEAC液を各々 $500\mu\text{l}$ マイクロシリリングにて $10\mu\text{l}$ ずつリンパ

图 1

球浮遊液に滴下した。反応を鋭敏に行わせるために T 細胞用プレートは室温にて 90 分間放置後 4℃にて一晚放置し翌朝 30 分間倒置し反応を完了させた。B 細胞用プレートは 37℃恒常保温器内で 60 分間正置の状態で放置後 30 分間倒置にて反応を完了させた。

第8項 ペルオキシダーゼ反応及び染色

FCS を加え室温にて放置していたペルオキシダーゼ反応用プレートは、ドライヤーにて乾燥させペルオキシダーゼ溶液をパスツールピペットを用いて各孔にこぼれない程度に加え30~60秒間反応させ、さらに各孔に蒸留水を加えてペルオキシダーゼ溶液を希釈し4分間放置する。その後プレートを水洗し、10倍希釈 BCB 色素配合グルタルアルデヒド溶液を滴下染色し、そのままの状態にてプレートを倒置し400倍率で検鏡した。

第9項 Eロゼット EAC ロゼットの固定染色

反応完了プレートを PBS を満した適当な容器内に垂直に保持したまま浸してゆき約15分間静置し、各孔表面の余分な赤血球浮遊液を除去した。この際ロゼットは壊

れやすいので PBS が対流を起さないように注意した。
静置後プレートを静かに引き上げ、倒置のままやや傾斜
させ余分の PBS を除去し、BCB 色素配合グルタルアル
デヒド溶液をパスツールピペットにて静かにプレート
各孔に加え、固定染色を行った。

第10項 ペルオキシダーゼ反応及びロゼット判定法

ベルオキシダーゼ陽性細胞には黄褐色に染色された顆粒が認められ、1孔100個の有核細胞を算出し、合計5孔の陽性細胞の百分率を求めた。Eロゼット及びEACロゼット形成の判定は、光学顕微鏡下400倍にて行った。通常4個以上のE及びEACの附着した有核細胞をロゼット形成細胞とし、1孔約100個の有核細胞を算出し、合計5孔のロゼット形成細胞の百分率を求めた。これらEロゼット、EACロゼット及びベルオキシダーゼ陽性細胞の各百分率から、T細胞、B細胞の百分率を算出した。教室でのT細胞及びB細胞の正常値は、健康人30検体より検索し得た結果から、T細胞 $65 \pm 4\%$ 、B細胞 $35 \pm 6\%$ とし、以下の検査結果の対照とした。

第6節 遅延型皮膚反応の方法及びその判定法

遅延型皮膚反応は、図2に示す如く、患者両側前腕に PPD 0.05 μ g/0.1ml, PHA 5 μ g/0.1ml を抗原として 1ml 用テルモディスポーザブルシリンジを用いて皮内接種した。判定は、PPD 反応は48時間後の発赤紅斑平均径10mm 以上を陽性、PHA 反応は24時間後の発赤紅斑平均径20mm 以上を陽性とした。

第 III 章 検査結果

検査結果は、個々の患者に於ける治療前後の値の変動をみたもので、予後判定は、非切除例及び再発例の予後を考慮にいれ、クール終了後3ヶ月目の時点で行った。

第1節 F群施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化(図3)

T細胞比に於いては、その平均値は投与前62.7%、投与後59.7%、又個々の変動をみると19例中14例(73.7%)に低下を認めた。T細胞絶対数に於いては、その平均値は投与前1,192個/ml、投与後1,065個/ml、又個々の変動では19例中12例(63.1%)に低下を認めた。T細胞比及びT細胞絶対数とともに投与後値は低下の傾向を示し

PPD : 0.05 ug / 0.1 ml 接種 48時間後判定
PHA : 5 ug / 0.1 ml 接種 24時間後判定

判定基準

PPD 反応：平均径 10mm 以上を陽性

PHA 反応：平均径 20mm 以上を陽性

図2 皮膚反応の各種抗原と判定

図3 F群施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化

図4 MF群施行前後におけるT細胞および遅延型皮膚反応の変化

た。PPD 反応に於いては、その平均値は投与前6.2mm、投与後6.6mm、個々の変動では19例中5例(26.3%)に反応の低下、19例中8中(42.1%)に反応の上昇がみられた。PHA 反応に於いて、その平均値は投与前13.9mm、投与後13.8mm、個々の変動では19例中7例(36.8%)に反応の低下、19例中5例(26.3%)に反応の上昇がみられた。

第2節 MF群施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化(図4)

多剤による化学療法 MF 群に於いてT細胞比の平均値は投与前60.7%、投与後56.2%、又個々の変動では18例中15例(83.3%)に低下を認めた。T細胞絶対数に於いては、その平均値は投与前971個/ml、投与後874個/ml、個々の変動では18例中14例(77.8%)に低下を認めた。

PPD 反応に於いては、その平均値は投与前5.8mm、投与後4.0mm、個々の変動では18例中10例（55.6%）に反応の低下を認め、反応上昇例は1例のみであった。PHA 反応に於いては、その平均値は投与前12.2mm、投与後6.8mm、と可成の低下を認め、個々の変動では18例中15例（83.3%）に反応の低下を認め、反応上昇例は皆無であった。

第3節 切除別にみた化学療法施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化（図5、図6）

F 及び MF による化学療法施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化を切除別にみると、治癒切除例では、T細胞比の平均値は投与前65.2%、投与後63.1%、個々の変動をみると、14例中9例（64.3%）に低下を認めるが正常範囲での変動であった。T細胞絶対数で

図5 化学療法施行前後における T-細胞の変化

図6 化学療法施行前後に於ける遅延型皮膚反応の変化

は、その平均値は投与前1,330個/ml、投与後1,347個/mlと軽度増加を認め、又個々の変動に於いても14例中7例(50.0%)に増加を認めた。PPD 反応では、その平均値は投与前9.6mm、投与後8.9mm。個々の変動では14例中6例(42.9%)に上昇を認めた。PHA 反応では、その平均値は投与前20.2mm、投与後18.9mmと軽度低下、個々の変動では14例中9例(64.3%)に低下を認めるが軽度の変化が多かった。非治癒切除例では、T細胞比の平均値は投与前59.6%、投与後58.8%と平均値には有意な変化は得られないが、個々の変動をみると7例中5例(71.4%)に低下を認めた。T細胞絶対数をみると、その平均値は投与前973個/ml、投与後833個/mlと低下を示し、個々の変動に於いても7例中5例(71.4%)は投与後の低下を認めた。PPD 反応では、その平均値は投与前3.1mm、投与後1.6mm、又個々の変動をみても正常範囲まで増強しているのは1例のみで、投与後反応は低下を示した。PHA 反応では、その平均値は投与前7.1mm、投与後4.6mmと低下し、個々の変動に於いても1例の軽度反応増強をみたのみであった。非切除例では、T細胞比の平均値は投与前61.3%、投与後49.7%と著明な低下を示し、個々の変動に於いても全例低下を示した。T細胞絶対数をみても、平均値は投与前1058個/ml、投与後828個/mlと低下し、個々の変化に於いても9例中6例(66.7%)に低下を認めた。PPD 反応では、その平均値は投与前5.4mm、投与後5.3mm、個々の

変動では反応増強例もみられ有意な差は得られなかった。PHA 反応では、その平均値は投与前11.5mm、投与後6.3mmと反応低下を認め、個々の変動でも強度に反応低下例が7例中4例(57.1%)に認めた。再発例では、T細胞比の平均値は投与前57.4%、投与後49.8%と著明に低下し、予後的な面からみても生存例は1例のみであった。T細胞絶対数に於いても、その平均値は投与前668個/ml、投与後492個/ml、又個々の変動に於いても生存例1例のみ投与後の細胞数増加を認めた。PPD 反応では、投与前平均値は2.6mmと反応弱く、投与後も1.9mmと弱い反応であった。個々の変動に於いても無反応例が7例中4例(57.1%)に認めた。PHA 反応もPPD 反応と同様に反応は弱く、その平均値は投与前6.9mm、投与後4.4mm、個々の変動に於いても生存例1例のみ投与後反応が軽度増強したのみだった。

第4節 ○群施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化(図7)

T細胞比の平均値は、投与前61.0%、投与後61.3%と平均値に於いては変動はみられなかったが、個々の変動をみると、死亡例は全例とも値は不変もしくは低下しており、生存例では13例中9例(69.2%)に投与後の上昇を認めた。T細胞絶対数に於いては、その平均値は投与前1,217個/ml、投与後1,513個/ml、又個々の変動に於いても19例中16例(84.2%)は投与後T細胞数増加を認めた。PPD 反応に於いては、その平均値は投与前5.9mm

図7 ○群施行前後に於けるT細胞および遅延型皮膚反応の変化

投与後7.2mm, 個々の変動では, 生存例では1例のみ投与後の反応低下を認めた。死亡例では, 投与前無反応症例も多く, 全例とも反応は不変から低下を示した。PHA反応に於いては, その平均値は投与前13.2mm, 投与後14.3mmであったが, 個の変動では, 生存例全例とも投

与後の反応は増強した。すなわち, 生存例に於いては, T細胞及び遅延型皮膚反応とも投与後の値は上昇傾向にあった。

第5節 切除別にみた免疫療法施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化(図8, 図9)

図8 免疫療法施行前後に於ける T-細胞の変化

図9 免疫療法施行前後に於ける遅延型皮膚反応の変化

治癒切除例では、T細胞比の平均値は投与前66.8%、投与後70.4%と上昇、又個々の変動をみても、1例のみ正常範囲での低下を示した。T細胞絶対数では、その平均値は投与前1,594個/ml、投与後1,857個/mlと投与後T細胞数は増加した。個々の変動に於いても5例中4例(80.0%)に増加を認めた。PPD反応では、その平均値は投与前8.8mm、投与後12.2mm、又個々の変動に於いても全例反応は増強した。PHA反応に於いても、PPD反応同様全例反応の増強を認め、平均値でも投与前18.4mm、投与後23.4mmと増強している。非治癒切除例では、T細胞比の平均値は投与前60.7%、投与後64.3%、個々の変動に於いても6例中4例(66.7%)に投与後値の上昇を認めた。T細胞絶対数でも、その平均値は投与前1042個/ml、投与後1,514個/mlと増加し、個々の変動でも、投与後全例増加を認めた。PPD反応では、その平均値は投与前5.8mm、投与後7.4mmと反応は増強し、個々の変動に於いても、死亡例を除いて反応は投与後不変から増強を示した。PHA反応に於いても同様の傾向をとり、その平均値は投与前13.5mm、投与後15.8mm、であった。非切除例では、T細胞比の平均値は投与前56.5%、投与後48.0%と低下し、個々の変動でも全例とも低下した。しかしT細胞絶対数に於いては増加の傾向を示し、その平均値は投与前875個/ml、投与後1,252個/

mlであった。PPD反応では無反応症例が多く、その平均値は投与前3.0mm、投与後2.0mm、であり、又PHA反応に於いても同様の傾向で、その平均値は投与前3.0mm、投与後1.8mmであった。なお、これらの症例は全例死亡例であった。再発例では、T細胞比の平均値は投与前58.8%、投与後58.8%と不変であったが、生存例では投与後値は上昇している。T細胞絶対数に於いても、その平均値は投与前1,350/ml、投与後1,342/mlと不変であるが、生存例での投与後値は増加している。PPD反応では、その平均値は投与前5.3mm、投与後6.0mm、PHA反応では、その平均値は投与前11.3mm、投与後13.5mmであった。

第6節 FO群施行前後に於けるT細胞及び遅延型皮膚反応の変化(図10)

T細胞比に於いては、その平均値は投与前59.5%、投与後63.5%と上昇し、個々の変動に於いても、死亡例を除き12例中9例(75.0%)に投与後値の上昇を認めた。T細胞絶対数に於いては、その平均値は投与前802個/ml、投与後936個/mlと増加し、個々の変動に於いても生存例12例中10例(83.3%)に投与後の増加を認めた。PPD反応では、その平均値は投与前5.4mm、投与後8.3mmと反応増強がみられ、個々の変動では、生存例12例中9例(75.0%)に投与後反成増強が認められた。PHA反応

図10 FO群施行前後に於けるT細胞および遅延型皮膚反応の変化

図11 MFO 群施行前後におけるT細胞および遅延型皮膚反応の変化

も PPD 反応と同様な変化を示し、その平均値は投与前 10.6mm が投与後 14.3mm と反応増強がみられ、個々の変動に於いても生存例 12 例中 10 例 (83.3%) に反応増強が認められた。

第 7 節 MFO 群施行前後に於ける T 細胞及び遅延型皮膚反応の変化 (図11)

T 細胞比に於いて、その平均値は投与前 62.9%、投与後 62.6% とほぼ同様の値を示したが、投与後値の低下する症例はほとんど死亡例で、生存例に於いては 17 例中 11 例 (64.7%) に投与後値の上昇がみられた。T 細胞絶対数に於いても、その平均値は投与前 1059 個/ml 投与後 1097 個/ml とほぼ同数で、個々の変動では 17 例中 12 例 (70.6%) に投与後の増加がみられた。PPD 反応では、その平均値は投与前 7.7mm、投与後 8.7mm と軽度反応の増強を認め、個々の変動では、生存例 17 例中 9 例 (52.9%) に投与後反応の増強を認めた。PHA 反応に於いても PPD 反応と同様、その平均値は投与前 12.9mm、投与後 14.1mm と反応の増強がみられ、個々の変動に於いても生存例 17 例中 11 例 (64.7%) に投与後反応の増強を認めた。

第 8 節 切除別にみた免疫化学療法施行前後に於ける T 細胞及び遅延型皮膚反応の変動 (図12、図13)

治癒切除例に於いては、T 細胞の平均値は投与前 63.0%、投与後 66.3% と上昇し、個々の変動でも 1 例の低下

症例をみたのみであった。T 細胞絶対数では、その平均値は投与前 945 個/ml、投与後 1,456 個/ml と増加し、個々の変動に於いても低下症例は 2 例のみであった。PPD 反応では、その平均値は投与前 7.8mm、投与後 10.5mm と反応増強を認め、又 PHA 反応に於いても同様に、その平均値は投与前 17.7mm、投与後 20.3mm と反応の増強を認めた。個々の変動では、両者とも 2 例の反応減弱をみただけであった。非治癒切除例に於いては、T 細胞比の平均値は投与前 60.4%、投与後 63.0% と上昇し、個々の変動に於いては、生存例では 7 例中 6 例 (85.7%) に投与後値の上昇をみた。T 細胞絶対数に於いても、その平均値は投与前 1,136 個/ml 投与後 1,209 個/ml と増加し、個々の変動でも生存例では全例投与後に増加を示した。PPD 反応では、その平均値は投与前 5.4mm、投与後 7.9mm と反応は増強し、個々の変動でも 1 症例に反応減弱をみたのみであった。PHA 反応では、その平均値は投与前 12.2mm、投与後 14.9mm と反応は増強し、個々の変動でも生存例全例に反応増強をみた。非切除例では、T 細胞比の平均値は投与前 60.5%、投与後 57.5% と低下し、個々の変動に於いても 10 例中 5 例 (50.0%) に投与後値の低下を認めた。又 T 細胞絶対数に於いても、平均値は投与前 815 個/ml、投与後 696 個/ml と減少し、個々の変動でも 10 例中 4 例 (40.0%) に投与後の減少を認めた。しかし遅延型皮膚反応の平均値は投与後上

図12 免疫化学療法施行前後における T-細胞の変化

図13 免疫化学療法施行前後における遅延型皮膚反応の変化

昇し、PPD 反応では、投与前4.8mm、投与後7.1mm、PHA 反応では、投与前9.6mm、投与後10.5mm であった。個々の変動では、両者とも10例中4例(40.0%)に

反応の減弱がみられた。再発例に於いては、T細胞比の平均値は投与前61.3%、投与後60.6%と低下し、死亡例が多く、個々の変動に於いても14例中6例(42.9%)

に投与後値の上昇をみたのみであった。T細胞絶対数に於いても平均値は投与前867個/ml 投与後850個/ml と軽度減少し、又個々の変動でも14例中10例(71.4%)は投与後減少を認めた。PPD 反応では、その平均値は投与前8.0mm, 投与後8.4mm, PHA 反応での平均値は、投与前9.5mm, 投与後11.8mm で、両者とも軽度の反応増強をみたが、個々の変動では、PPD 反応は14例中7 例(50.0%), PHA 反応では14例中6 例(42.9%)にしか反応の増強はみられなかった。

第 IV 章 考 案

第 1 節 腫瘍免疫の概略

近年、免疫学を基礎にした癌の研究が再び脚光を浴びるようになってきた。癌細胞は本来自己の細胞から発生したもので、感染症の如く全くの異物が体内に侵入したものと本質的に異っている。しかし、Foley Edward J⁴⁾の実験、すなわち、マウスに methylcholanthrene で腫瘍を誘発し同系マウスに移植すると腫瘍は増殖発育するにもかかわらず、その腫瘍を摘除したマウスに腫瘍細胞を再移植しても腫瘍の発育は拒絶された事実、さらには Klein ら⁵⁾の報告により、腫瘍特異抗原(tumor specific antigen TSA)の存在が評価され癌免疫の存在が明らかになった。しかし癌細胞に対する免疫反応が引き起こされるにもかかわらず、多くの癌が生存し得るという逆説的な現象を探究することが、又今日の癌研究の主題であろう⁶⁾。癌特異抗原とは、一般には同系において癌細胞の成分が異物と認識され、それに対して同系宿主に免疫応答が起る際、その癌細胞成分は癌特異抗原であると考えられている。特に、自家或は同系の癌-宿主系の癌細胞移植拒否現象が起る場合、その免疫反応を規定する癌抗原を癌特異移植抗原(tumor specific transplantation antigen TSTA)と呼んでいる⁷⁾。人癌の場合、癌特異抗原はまだ一般化されるに至っていないが、抗原性があるても弱いものだと考えられている。しかし人癌に対する生体の免疫応答の存在は、臨床的にも支持する幾多の事実がある¹¹⁾¹²⁾。例ば、免疫不全症候群や免疫抑制療法をうけた患者では発癌頻度が高くなっており¹⁰⁾、生体の免疫応答と発癌は動かしがたい事実である。免疫機構の発達した高等動物ではリンパ球を中心とする細胞性免疫が出現した変異細胞を識別し排除して生体の恒常性を維持すると考えられており、この様な調節機構を Burnet¹¹⁾は免疫学的監視(immunological surveillance)という概念で総括した。この概念に従えば、発癌は変異細胞が宿主の免疫学的監視をのがれて増殖し得た場合に起る

ことになる。しかし、変異細胞が宿主の免疫学的監視をのがれる機序は解明されていない¹²⁾。自己の細胞を母地として発生した癌細胞に対する免疫応答は、感染症の如く外因性の抗原に対する免疫応答の原則に果してあてはまるだろうか。癌発生母地、組織構造、さらには複雑な発育様式などの相異によって必ずしも同じ免疫応答はありえないと思われる。いずれにせよ腫瘍免疫のエフェクター機構は十分に解明されなければならない。

第 2 節 腫瘍細胞に対する生体の応答

前述の如く、腫瘍特異移植抗原の存在がある程度確立されてきており、癌細胞に対する生体の応答は Burnet が提唱した免疫監視機構になっているという考えが主要であるが、なお明確でない事実も多い。しかしその機構の主体は、T細胞とマクロファージを中心とした細胞性免疫であろう¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。では、マクロファージ、リンパ球がどの様なエフェクター機構をもって癌細胞に対処するのだろうか。現在のところ癌細胞障害を示す細胞関与の免疫機構として次の事項が考えられている¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。

- 1) T細胞(cytotoxic lymphocyte)による細胞障害、
- 2) 抗体との協同作用による細胞障害(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity ADCC)、
- 3) アーミング因子によるマクロファージの特異的細胞障害、
- 4) マクロファージの活性化による非特異的細胞障害、
- 5) Natural Killer 細胞による細胞障害、などである。しかし、この様に癌に対する免疫応答があるにもかかわらず癌の増殖は現実には起っている。なぜ癌細胞が宿主の免疫監視機構から escape して増殖するのだろうか。明確な解答は得られないが、その理由の1つとして、癌の抗原性は低く、その抗原によって感作され癌細胞障害に働くような抗体が産生されてもその量は癌拒否を起こす程充分ではなく、又癌細胞障害に働く細胞性抗体が宿主に誘導されても同時にその作用を阻止するような因子(blocking factor)が産生される¹⁷⁾。一方、癌細胞が産生する毒性物質によって、T細胞、マクロファージの機能低下せしめることも認められており、癌増殖を余儀なくさせるといった悪循環をくり返すものと考えられる。

第 3 節 細胞性免疫能の検索

第 1 項 T細胞B細胞の同定

細胞性免疫の主役は、リンパ球及びマクロファージであり、特にリンパ球は免疫学的観点から2つの Population に分類されている¹²⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。その1つは胸腺由来細胞 thymus-derived lymphocyte T細胞、もう1つは骨髄由来細胞 bone marrow derived lymphocyte or bursa

equivalent-derived lymphocyte B 細胞である。これら細胞の同定は、細胞表面マーカーを利用して可能であり¹⁹⁾²⁰⁾、T 細胞マーカーとして、羊赤血球との spontaneous rosette formation (E rosette)²¹⁾、抗胸腺血清による細胞障害試験²²⁾、HTL 抗原 (human thymus lymphoid tissue antigen)²³⁾ などで、B 細胞マーカーとしては、感作ヒツジ赤血球に補体第 3 成分をつけた EA-Complement 細胞による rosette formation (EAC rosette)²⁴⁾ 細胞表面免疫グロブリンの存在²⁵⁾²⁶⁾、Fc-receptor の存在¹⁹⁾²⁰⁾などが知られている。しかし、T 細胞と言っても単一の細胞集団ではなく、その機能的検索によりいくつかの異った機能的分団 (subsets) が存在することが明らかになっている。細胞障害に働く T 細胞 (Killer T cell or cytotoxic lymphocyte C L), CL 誘導にあずかる T 細胞 (amplifier T cell), 遅延型過敏症を起こす T 細胞 (delayed hypersensitivity T cell) 抗体産生に際して B 細胞と協同作用を行う T 細胞 (helper T cell) などである¹²⁾¹⁴⁾²⁷⁾。中でもロゼット形成試験 (E-rosette EAC-rosette) による T 細胞 B 細胞の同定は、最近最も普及した検査と言える。著者も、橋、石川らによるマイクロテストプレート法にてロゼット形成試験を行ったが、微量検体で操作も簡単なり再現性も良好な結果を得ている。教室では、長田²⁸⁾の行った健康人症例 30 検体の T 細胞比 $65 \pm 4\%$ 、B 細胞 $35 \pm 6\%$ を正常域としている。諸家の報告では、橋は T 細胞 $60 \sim 70\%$ 、B 細胞 $30 \sim 50\%$ 、矢田は T 細胞 $40 \sim 60\%$ 、B 細胞 $20 \sim 30\%$ 、Ross は T 細胞 65% 、B 細胞 35% 、William は T 細胞 $75 \pm 15\%$ 、B 細胞 $23 \pm 7\%$ を正常域としている。一方、担癌体に於いては T 細胞は低下していることが多く、教室の長田の検索では、胃癌悪液質症例に於いては T 細胞比 $50 \pm 11\%$ 、その他の癌悪液質症例に於いては T 細胞比 $51 \pm 10\%$ と T 細胞比の低下を認めている²⁹⁾。文献的にも、肺癌、胃癌、乳癌などの固型癌に於いての T 細胞比は低下の傾向にあり、特に癌腫の発育進行と共にその傾向は強い様である²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾。しかし、末期癌症例に於いても T 細胞比が正常値或は高値を示す症例もあり、Subpopulation のみでは十分な検索とは言えず、そこに subsets 検索の必要性が存在するわけである。担癌体に於いて、癌細胞障害といった意味から Killer T 細胞の増加は有利なことで、逆にこれら T 細胞に抑制的に働く Suppressor T 細胞の増加は不利なことになる。近年この Suppressor T 細胞は、IgG-Fc リセプターを有するといった考えから³²⁾ その検索が進められており、癌の進行と IgG-Fc リセプ

ター陽性 T 細胞との相関を得ている報告もある³³⁾。今後リンパ球 subsets は十分な検索を要求される分野であろう。

第 2 項 遅延型皮膚反応の検索

リンパ球 subpopulation 及び subsets, その他の細胞性免疫能の検索に比べ、遅延型皮膚反応は簡単な手技で細胞性免疫能の一指標が得られ広く臨床に應用されている。この抗原としては、PPD, Candida albicans, Streptokinase, Streptodornase, Coccidioidin, Histoplasmin, Mumps, dermatophytin, trichophyton, 2-4dinitrochlorobenzen (DNCB), dinitrofluorobenzen (DNFB), さらには最近遅延型皮膚反応と類似の反応を起すことが注目されてきた PHA などがある。古くから Hodgkin 病では遅延型皮膚反応の低下が明らかにされており³⁴⁾、又 Hughes らは³⁵⁾、非癌患者の PPD 反応陽性率は 81% に対し、癌患者の陽性率は 52% と著明な反応低下が認められたと報告している。螺良らは³⁶⁾、胃癌患者の病期別に PHA 反応を検討し、癌の進行とともに反応低下が顕著になると報告している。著者の検索に於いても、切除不能癌及び再発癌では、PPD 反応、PHA 反応ともに反応性低下は著明であり、遅延型皮膚反応は、癌の病期をある程度反映するものと思われる。そこで著者は、治療前後に於ける T 細胞及び遅延型皮膚反応を観察した。

第 4 節 化学療法に於ける細胞性免疫能の変動

近年の癌化学療法は、薬剤の開発、投与形式、併用薬剤の改善などにより著しい進歩を遂げている。制癌剤の目的は、いずれにせよ腫瘍細胞壊死を期待することであるが、腫瘍細胞のみを選択的に破壊するものではなく、同時に正常細胞にも作用するので両者の量的差異を利用して抗癌効果を期待するものである。当然、免疫担当細胞にも大なり小なりその影響が出てくると考えられる。著者の臨床経験からも、制癌剤特に多剤併用投与により腫瘍縮小効果は認められるも生存日数はむしろ短縮したり、逆に腫瘍増殖が促進する症例もみられ、背景には制癌剤による免疫抑制が関与しているのではないかと思われる。T 細胞及び遅延型皮膚反応で細胞性免疫能を検索した著者の実験結果では、図 3 に示す如く単剤化学療法 F 群では、T 細胞比及び T 細胞絶対数は投与後低下の傾向を示したが、PPD 反応、PHA 反応では、投与前後に有意な変動は認められなかった。多剤併用投与による MF 群では、図 4 に示す如く T 細胞及び遅延型皮膚反応ともに投与後値は低下を示した。このことは、単剤化学療法に比べ多剤化学療法に於いて細胞性免疫能は低下す

ることを示唆している。しかし、担癌体は免疫不全を基盤と考えるならば、薬剤投与前の宿主の状態も考慮に入れなければならない。図 5、図 6 に示す如く、切除別に T 細胞、PPD 反応、PHA 反応の変化をみると、治療切除例では投与前の値は高く、又投与後の反応も著明な変化をとらなかつた。すなわち、主腫瘍を完全に切除することにより免疫不全の状態が改善され、細胞性免疫は保持されていると考えられる。しかし、腫瘍の残存する非治療切除、非切除、再発症例では、死亡例も多く、化学療法によって細胞性免疫能は低下を示した。このことは、正常細胞との量的差異を利用した抗癌効果は発揮できず、むしろ制癌剤により免疫不全状態に拍車をかけたことも考えられる。文献的にも制癌剤による免疫能低下の報告は多く、久野は³⁷⁾動物実験に於いて、FT-207 は胸腺細胞に与える影響が強く、特に、helper T cell への抑制が示唆され、MMC は T 細胞のやや増加を認めるも PHA による反応性は低下すると報告している。又 5Fu に於いては抗体産生能を低下させ³⁸⁾、PHA 及び PPD に対する反応性が低下する報告もある³⁹⁾。逆に 5Fu は遅延型皮膚反応を高める報告もある⁴⁰⁾。児玉ら⁴¹⁾によれば、実験腫瘍に於いて、MMC、5Fu、FT-207 は非投与群に比べ早い時期に MIF 活性が認められ、この時期に一致して一時的に腫瘍は縮小するが、早晚 MIF 活性は陰性化し腫瘍は増大すると報告している。この様に制癌剤の免疫抑制が考えられるならば、制癌剤投与は担癌体の免疫能を充分把握し、極力癌細胞を排除し免疫系への影響を最少限にし、抗癌効果を発揮できる投与方法が理想と考えるが、現在の制癌剤では十分と言えず、大きな抗癌効果を期待すれば免疫系の影響が強く出現する。従って何とか免疫能の保持向上を考慮すれば、近年注目を浴びている免疫療法との併用が現状に於ける大きな手段であろう。

第 5 節 免疫療法に於ける細胞性免疫能の変動

癌の免疫療法の歴史は古く⁴²⁾、すでに 80 年余を経過している。しかし、近年に至るまで癌治療の主役は、手術療法、放射線療法、化学療法であったが、腫瘍免疫学の発達、さらには既存療法による癌治療の行き詰りにもより、再び免疫療法が脚光を浴びるようになった。免疫療法は大別すると、active immunotherapy, passive immunotherapy, nonspecific immunotherapy、に分けられ⁴³⁾、現在広く臨床に応用されているのは免疫賦活剤を用いた nonspecific immunotherapy であり、BCG が中心に行われてきたが、近年に於いては、OK432、PSK、レバ

ミゾール、レンテナン等数多くの免疫賦活剤が開発され臨床に応用されている。著者も OK-432 を用いて免疫療法を施行し、細胞性免疫能の変動を T 細胞及び遅延型皮膚反応で検討した結果、図 7 に示す如く、T 細胞比、T 細胞絶対数の上昇、PPD 反応、PHA 反応の増強が認められた。しかし、全ての症例に反応増強が認められる訳ではなく、図 8、図 9 に示す如く、治療切除例及び非治療切除例では、明らかに T 細胞の上昇、遅延型皮膚反応は増強し、制癌剤投与にてその細胞性免疫能の低下した非治療切除例に於いても OK-432 によって免疫能は保持向上されている。しかし主腫瘍の残存する非切除例では全例死亡例で、T 細胞比の低下、PPD、PHA に対する反応性の低下を示し、免疫療法によっても免疫系への補強は期待できなかった。このことは、免疫療法の骨子⁴⁴⁾である免疫系を温存し腫瘍細胞数を何らかの手段で減少せしめ、少数の腫瘍細胞を選択的に生体の免疫力で根絶させるといった考えの裏づけの一つにもなると考えられる。一般に OK-432 の作用機序は、網内系の賦活、末梢白血球及びリンパ球数の増加、さらには腫瘍細胞に対する Cytocidal な効果などが挙げられている⁴⁵⁾⁴⁶⁾。

しかし、免疫療法による腫瘍細胞破壊は期待できず、担癌体の免疫能向上をみても終局的には腫瘍細胞の増殖は抑えきれず転移増殖の結果となる。しかも、腫瘍細胞は絶えず免疫抑制因子を放出しており、免疫不全状態にさらに拍車をかけることになる。そこで何らかの手段で腫瘍細胞に Cytocidal な効果を期待し、極力腫瘍細胞を減少させた上での免疫療法が望まれる。

第 6 節 免疫化学療法に於ける細胞性免疫能の変動

免疫不全を基盤としている担癌体に制癌剤投与は時として免疫不全状態に拍車をかけ腫瘍増殖を余義なくされることもある。しかも、免疫療法による免疫系の補強のみでは、元来抗原性の低い担癌体自身での Cytocidal な効果は十分と言えず、両者の相乗効果を期待した免疫化学療法の導入が検討される。著者は、図 10 に示す如く、5Fu 或は FT-207 に OK-432 を併用した免疫化学療法での細胞性免疫能を検討してみた。治療前後の T 細胞及び遅延型皮膚反応の変動をみると、治療後、これらの値は上昇しており、生存例ではほとんど細胞性免疫能は保持向上されている事が示唆される。さらに MMC を併用した多剤化学療法に免疫療法を併用してみると、図 11 に示す如く、T 細胞及び遅延型皮膚反応とも生存例では治療後値は上昇しており、制癌剤による細胞性免疫能の低下は、OK-432 投与によって保持向上されたものと考え

る。しかし、死亡例の多くは、細胞性免疫能は低下しており、全てに有効であるとは言いがたく、切除別にみると、図12、図13に示す如く、治療切除及び非治療切除例では、治療後T細胞比、T細胞絶対数の上昇、PPD 反応及び PHA 反応の増強が認められるが、非切除及び再発症例では死亡例も多く、これらの反応は一定の傾向は示さず、むしろ低下の傾向にあった。化学療法単独にて細胞性免疫能の低下を認めた非治療切除例に於いても、OK-432を併用することにより細胞性免疫能は保持向上されている。このことは、制癌剤による殺腫瘍効果と免疫賦活剤の免疫能向上の相乗効果が期待できたことを示唆している。しかし、主腫瘍の残存する非切除例或は再発例では、治療前すでに免疫不全状態の強い症例が多く、免疫療法による免疫系の補強は十分とは言えず、制癌剤投与により殺腫瘍効果はあったとしても、さらに免疫不全状態に拍車をかけたことも考えられよう。この様に化学療法と免疫療法の併用は、両者の作用を相乗し、現状では有意な療法と考えるが、治療前の細胞性免疫能は十分に把握した上で治療は決定されなければならない。今後免疫化学療法にあたり、その合併時期は充分考慮されなければならない⁴⁷⁾。全ての担癌体に同じ投与形式、投与方法、投与量というのではなく、併用療法にあたって、細胞性免疫能を十分把握して、化学療法に比重をおくか、免疫療法に比重をおくかを考慮しなければならない。

第V章 結 語

胃癌患者を中心とした悪性腫瘍患者に、化学療法、免疫療法、免疫化学療法を行い、治療前後の細胞性免疫能をT細胞比、T細胞絶対数、PPD 反応 PHA 反応にて観察し、治療の選択、予後の判定を中心に検討し、下記の結論を得た。

1) 担癌体のT細胞の変動と PPD 反応 PHA 反応は、ほぼパラレルに変動した。

2) F群では、T細胞比及びT細胞絶対数は薬剤投与後低下する傾向にあるが、PPD 反応及び PHA 反応は、あまり変化しない。

3) MF群では、薬剤投与後T細胞比の低下、T細胞絶対数の減少、PPD 反応及び PHA 反応の低下を認める。

4) 治療切除例に於ける化学療法は、免疫系に著明な変動を示さないが、腫瘍の残存する非治療切除、非切除、再発症例では、化学療法によって細胞性免疫能は低下する。

5) O群では、T細胞比の上昇、T細胞絶対数の増加、PPD 及び PHA に対する反応性の増強を認める。

6) 治療切除例に於ける免疫療法は、細胞性免疫能の保持向上を期待できるが、非切除及び再発症例ではその効果は期待できない。

7) FO群及びMFO群では、T細胞比の上昇T細胞絶対数の増加、PPD 反応及び PHA 反応の増強を認める。

8) 免疫化学療法は、制癌剤の殺腫瘍効果と免疫賦活剤による免疫系補強の相乗効果が期待できる。しかし全てに有効とは言えず、非切除及び再発症例では、その効果は十分でない。

9) 一般に、化学療法、免疫療法、免疫化学療法施行後、T細胞比の上昇T細胞絶対数の増加、PPD 反応及び PHA 反応増強例は経過良好である。

10) T細胞比55%以下、T細胞絶対数600個/ml以下、PPD 反応5mm以下、PHA 反応10mm以下の4項目を満たす症例は、各療法とも有効と言えない。

11) 化学療法、免疫療法、免疫化学療法にあたり、細胞性免疫能を観察することは、治療の方針、薬剤の投与量及び投与方法の選択、予後判定の大きな指標となる。

稿を終るにあたり、御校閲をいただきました恩師牧野惟義教授に深く感謝の意を表します。又、本研究に御理解、御援助を賜った永井純義教授に感謝致すとともに、終始、御指導、御教示いただきました相馬哲夫教授、大石山助教授、小沢靖講師、井上仁講師に深く感謝いたします。又、研究に御協力いただきました教室諸先生方にも心から感謝いたします。

なお、本論文の要旨は下記の学会に於いて発表した。

第15回 日本癌治療学会総会

第19回 日本消化器病学会

第11回 日本消化器外科学会総会

第99回 東京医科大学医学会総会

参考文献

- 1) 菊地浩吉、森 道夫、今村正克：医科免疫学、250—252、南江堂、1976。
- 2) 森沢成司：活性化リンパ球の産生する Chemical mediator リンホカイン、日本臨床、36：5、23—29、1978。
- 3) 服部孝雄：がんの免疫化学療法、癌と化学療法、2：1、9—12、1975。
- 4) Foley, E.J.: Antigenic properties of methyl-cholanthrene induced tumors in mice of the

- strain of organ. *Cancer. Res.*, 13: 835—837, 1975.
- 5) Klein, G., Sjögren, H.O., Klein, E. et al.: Demonstration of resistance against methylcolanthrene induced sarcoma in the primary autochthonous host. *Cancer. Res.*, 20: 1561—1572, 1960.
- 6) L.J. Old: *Cancer immunology*. Scientific American (日本版) 19: 26—41, 1977.
- 7) 菊地浩吉, 森 道夫, 今村正克 他: 医科免疫学, 南江堂, 1976.
- 8) 森 武貞, 中田俊平: 人癌と免疫, 61—66, ライフサイエンス, 1976.
- 9) Fefer, A.: Studies on the growth and regression of a transplantable moloney sarcoma. *Cancer. Res.*, 27: 2707, 1967.
- 10) Hoover, R. and Fraumeni, J.F. Jr.: Risk of cancer in renaltransplant recipients. *Lancet.*, 2: 55—57, 1973.
- 11) Burnet, F.M.: *Immunological Surveillance*. 1970. Pergamon Oxford.
- 12) 矢田純一: Tリンパ球とBリンパ球, 中外医学多書, 1975.
- 13) 藤井源七郎, 関口守正, 長田 功他: 担癌体の細胞性免疫, 医学のあゆみ, 91: 9, 400—405, 1974.
- 14) 橋 武彦: 人癌と免疫, 19—39, ライフサイエンス, 1976.
- 15) 橋本嘉幸: 癌の発生と免疫機構, 臨床医, 2: 9, 120—122, 1976.
- 16) 徳永 徹: BCGの抗腫瘍作用のメカニズム, 最新医学, 33: 8, 1513—1520, 1978.
- 17) 橋 武彦, 小林 博: 腫瘍免疫学, 朝倉書店, 1975.
- 18) Roitt, I.M.: *Lancet*, ii: 376—371, 1967.
- 19) 橋 武彦: ヒトの T cell と B cell の分離法ならびに surface maker による数の算定法, 日本臨床, 33: 1, 221—233, 1975.
- 20) 橋 武彦: T細胞とB細胞, 臨床免疫, 9: 2, 118—127, 1977.
- 21) Waltraut H. Lay and Nelson F. Mendes: Binding of sheep red blood cells to a larger population of human lymphocytes. *Nature.*, 230, 23: 531—532, 1975.
- 22) Y. Ishii, H. Koshiba, H. Ueno, et al.: Surface antigenic specificities of human thymus-derived lymphocytes. *Clin Exp. Immunol.*, 19: 67—74, 1975.
- 23) J. Yata, I. Tsukimoto and T. Tachibana: Human lymphocyte subpopulations. Human thymus-lymphoid tissue (HTL) antigen-positive lymphocytes forming rosettes with sheep-erythrocytes and HTL antigen-negative lymphocytes interacting with antigen-antibody-complement complexes. *Clin Exp. Immunol.*, 14: 319—326, 1973.
- 24) Celso Bianco: Theta-bearing and complement-receptor lymphocytes are distinct population of cells. *Science.*, 173: 154—156, 1971.
- 25) Fröland, S. and Nativig, B.J.: Surface-bound immunoglobulin as a marker of B lymphocytes in man. *Nature New Biology*, 234: 251—252, 1971.
- 26) 小坂昌明: 白根 曝, 三好和夫 他: リンパ球の表面 Ig および 内部 Ig 臨床病理, XXV 7: 547—553, 1976.
- 27) 矢田純一: T cell と B cell. *medicina* 13, 9: 14—17, 1976.
- 28) 長田省一, 田淵崇文, 相馬哲夫他: 悪性疾患患者に於ける T cell の動態, 最新医学, 32: 12, 2361—2367, 1977.
- 29) A. Lee Dellon, Claude Potvin and Paul B. Chretien: Thymusdependent lymphocyte levels in bronchogenic carcinoma: Correlations with histology, clinical stage, and clinical course after surgical treatment. *Cancer.*, 32, 3: 687—694, 1975.
- 30) Wybran, J. and Fudenberg, H.H.: Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease states: Cancer, lymphoma bacterial and viral infections and other diseases. *J. Clin. Invest.*, 52: 1026—1032, 1973.
- 31) Anthony, H.M., Kirk, J.A., Madsen, K.E. et al.: E and EAC rosetting lymphocytes in patients with carcinoma of bronchus. *Clin. Exp. Immunol.*, 20: 41—54, 1975.

- 32) Herzenberg, L.A., K. Okumura, Cantor, H. et al.: T-cell regulation of antibody responses: Demonstration of allotype-specific helper T cells and their specific removal by suppressor T cells. *J. Exp. Med.*, 144: 330—334, 1976.
- 33) 麦谷曜夫, 成木行彦, 大塚幸雄他: 消化器悪性腫瘍の治療におけるT細胞の変動, 日本癌治療学会誌, 13: 1, 12—19, 1978.
- 34) Alan C. Aisenberg: Studies on delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease. *J. Clin. Invest.*, 41, II: 1964—1970, 1962.
- 35) L.E. Hughes, and W.D. Mackay,: Suppression of the tuberculin response in malignant disease. *Brit. Med. J.*, 2: 1346, 1965.
- 36) 螺良英郎, 矢田健太郎, 小川紘一他: 癌患者免疫能の診断パラメーター, 癌と化学療法, 4: 4, 43—61, 1977.
- 37) 久野悟郎, 富永憲治, 螺良英郎他: 制癌剤及び免疫抑制因子のリンパ系細胞及び抗体産生に及ぼす影響, 癌と化学療法, 2: 1, 59—66, 1975.
- 38) M.C. Berenbaum,: A Screen for Agents inhibiting the Immune Response and Growth of Tumours. *Nature.*, 196, 1962.
- 39) E. Nordman, H. Saarimaa and Toivanen, A.: The influence of 5-fluorouracil on cellular and humoral immunity in cancer patient. *Cancer.*, 41: 64—69, 1978.
- 40) Blomgren, S.E.: *Can Res*, 25: 977, 1965.
- 41) 児玉 宏, 大垣和久, 日笠頼則 他: 制癌剤の免疫抑制作用の検討, 癌と化学療法, 3: 2, 105—110, 1976.
- 42) Currie, G.A.: Eighty years of immunotherapy, a review of immunological methods used for the treatment of human cancer. *Br. J. Cancer.*, 26: 141, 1972.
- 43) 東 市郎: 人癌と免疫, ライフサイエンス, 1976.
- 44) 折田薫三: 免疫療法へのアプローチ, 総合臨床, 26: 2, 310—318, 1977.
- 45) 小川一誠: 免疫療法, 月刊薬事, 19: 1, 75—78, 1977.
- 46) 木村郁郎: 溶連菌剤 OK-432と癌が免疫化学療法の可能性, 癌と化学療法, 2: 1, 21—23, 1975.
- 47) 細川真澄男, 水島 豊, 小林 博他: 癌の免疫および化学療法における合併時期の問題点, 癌と化学療法, 5: 6, 13—19, 1974.