日消外会誌　10（4）：436～442，1977年

Levamisole による癌患者細胞性免疫能の賦活効果

岡山大学医学部第1外科（主任：田中早苗教授）
三輪　恕昭　　中原　東亜　　折田　薫三

REACTIVATING EFFECT OF LEVAMISOLE ON CELL-MEDIATED IMMUNITY IN CANCER PATIENTS

Hiroaki MIWA, Harutsugu NAKAHARA and Kunzo ORITA
First Department of Surgery, Okayama University Medical School, Okayama, Japan
(Director: Prof. Sanae TANAKA)

消化器癌患者36例（治癒切除7例，非治癒切除5例，非切除，再発24例）に Levamisole 150mg/day，連続3日間投与を，毎週，隔週等で投与し細胞性免疫能の変化をみた．

Levamisole 4週連続投与23例では，リンパ球 PHA 幼若化率，Tリンパ球頻度および幼若化率40%以上例は投与開始3～4週後に上昇した．末梢血白血球数，リンパ球数には著明な変動はなかったが，それらの減少例に投与した場合には投与後早期より増加した．36例全体の傾向も連続投与例に類似した．Levamisole 投与開始24週後までの検査値の変動は，末期癌例が多いため癌病態に左右されるが，非治癒切除例では幼若化率，リンパ球数が高値に維持され，Levamisole の効果が期待できた．

索引用語：Levamisole, Gastrointestinal cancer, PHA-blastformation rate, cell-mediated immunity

はじめに

担癌生体における癌の進展や再発の様相が免疫学的検索により解析されつつある．われわれも非特異的，特異的な免疫反応による担癌生体のリンパ球を用いる細胞性免疫反応により，癌患者の癌進行度，治癒切除可能度，予後および再発予知が可能であることを度々報告してきた[1)~7)]．この基礎の上に，消化器癌患者に BCG, BCG-cws (BCG-cell wall skeleton) を主とする immunother-CWS を行っている[8)]．その一環として Lavamisole をも使い始め[9)]，細胞性免疫能賦活にかなりの効果が得られたので報告する．

研究対象

岡山大学第1外科入院中または外来通院中の主として消化器癌患者36例に，初期には抗癌療法による白血球，リンパ球減少対策として，途中からはその抗腫瘍効果を期待して Levamisole を投与した．その内訳は，食道癌2例，胃癌13例，大腸癌8例，乳癌4例，膵臓癌1例，その他の癌8例であり，治癒切除例は7例，非治癒切除例は5例，非切除および再発例は24例であり，末期癌例が62.5%を占めた（表1）．なお，対象例はほとんどすべてが Levamisole 投与期間中に抗癌療法を継続してうけている．

表1　Levamisole 投与対象

疾患名	治癒切除	非治癒切除	非切除再発	計
食道癌			2	2
胃癌	4	4	5	13
大腸癌	3	1	4	8
乳癌			4	4
膵臓癌			1	1
その他の癌			8	8
計	7	5	24	36例

研究方法

Levamisole 投与法はすべて経口的に行い，基本的には Levamisole 150mg/day を1週間に3日間連続投与とし，それを毎週，隔週，その他の方法で投与した．細胞性免疫能の指標としては末梢血リンパ球の PHA (phytohemagglutinin) に対する幼若化率（以下幼若化率），T

リンパ球頻度，末梢血白血球数，リンパ球数を検査した．

幼若化率測定法はすでに報告した[1)2)10)]が，簡略すると，癌患者よりヘパリン加血5 ml を採り Ficoll-Conray 法にてほぼ純粋なリンパ球を採り，20%仔牛血清加 TC—199液中にて1％（v/v）PHA-M（Difco）付加の下に72時間培養し，その沈渣標本を May-Grünwald 染色の上検鏡し，10^3 個中の（8 μ）^{2} 以上の幼若化リンパ球の出現率を幼若化率とした．

Tリンパ球頻度測定法は橘の micro plate method[11)]によった．

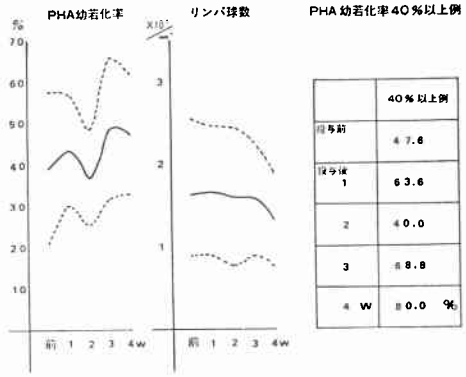
研究結果

1. 4週連続投与例での検討

対象36例中23例には，Levamisole 150mg/day，3日間投与を毎週連続4週間行った．これらの例の細胞性免疫能の変動は図1の如くになる．

幼若化率の変動をみると Levamisole 投与前では39.2±18.2%であったのが投与1週後には43.6±13.4%と軽度上昇するが，何故か2週後には36.9±11.5%と投与前値より低下する．しかし投与3週後には最も高く48.8±17.0%となり，4週後には47.4±14.4%と高値を保ち続ける．幼若化率40%以上例が全体の何%を占めるかを投与前より投与4週後までみると，図1右端の如く，投与前には全体の47.6%が幼若化率40%以上であったのが，投与1週後には63.6%と上昇，2週後には40%に低下，3週後には68.8%，4週後には80%と最も高率となり幼若化率の変動と極めて類似した傾向を示す．末梢血リンパ球数では，Levamisole 投与前1662±751/mm³であったのが投与2～3週後まではやや低下するに止まり大きな変動を示さない．しかし，投与4週後には1,329±570/mm³とかなり低下する．しかしながら Levamisole を抗癌療法等でリンパ球数が減少していた例に投与した場合は，投与1週後よりリンパ球数の急激な増加がみられている．

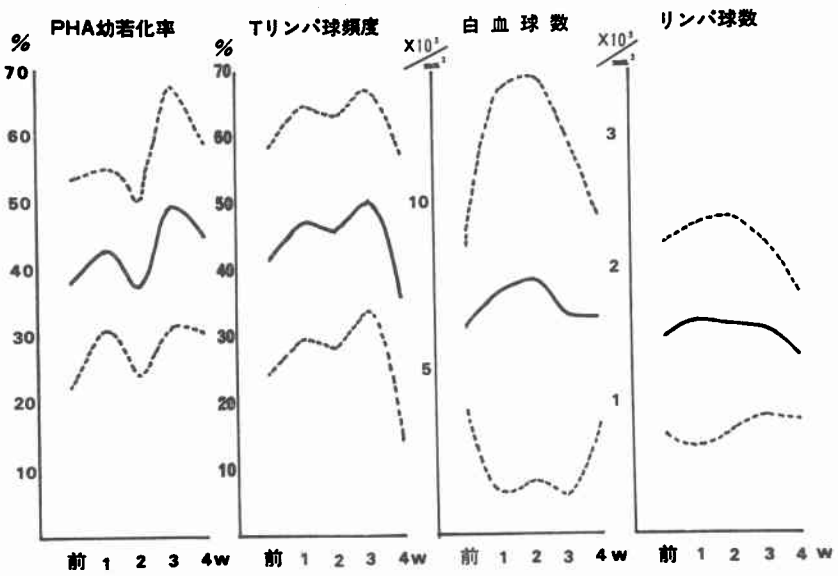
図1　Levamisole 投与後の諸検査成績



2. 全投与例での検討

Levamisole 150mg/day，連続3日間投与を毎週，隔週

図2　Levamisole 投与後1ヵ月間の諸検査値の変動



または1回投与を含め不定期に投与した36例すべての例の各種検査成績の投与前より投与4週後までの結果は図2の如くになる．

幼若化率では，投与1週後の軽度の上昇，2週後の低下，3～4週後での急激な上昇がみられ，4週連続投与例での幼若化率の変動と全く変わらない．

Tリンパ球頻度は，Levamisole 投与前41.4±16.9%であったのが投与1週後では46.9±17.6%と軽度上昇，2週後にはほぼ同程度の45.6±17.4%，3週後には最も高値を示し，50.4±16.5%となるが，4週後には急激な下降を示して35.8±21.6%と投与前値より下まわる．

末梢白血球数は投与前には6,215±2,429/mm³,投与1,2週後にはおのおの7,286±6,028，7,680±6,062/mm³と軽度増加するが，3週後には，6,617±5,464/mm³とほぼ投与前値に戻り，4週後も同様値をとる．

リンパ球数は4週連続投与例と同様な変動をとり，Levamisole 投与1週後にわずかに増加した後なだらかな減少傾向を示し投与4週後には投与前値を下まわる．

これらの変化を見方をかえ，各週毎の諸検査成績が Levamisole 投与前値より上昇した例が全体の何%を占めているかをみると**表2a**のようになる．

PHA 幼若化率では，Levamisole 投与1週後に全体の58.3%が投与前値より上昇し，2週後には全体の1/3が上昇，すなわち2/3が投与前値より低下し，3週後には全体の61.9%，4週後には57.1%が投与前の値より上昇する．この見方においても投与3週後が最も高い値をとっており，mean±S.D. の変化曲線に類似する．Tリンパ球頻度の変化では，Levamisole の変化と異なり，Levamisole 投与2週後での上昇例が最も高率となる．白血球数では投与1～2週後に軽度増加するのみで，その後はむしろ減少する．またリンパ球数では，投与3週後までは常に投与前値より増加した例が60%以上を占めるが，投与4週後には半々となる．

表2bは PHA 幼若化率40%以上例が全体の何%を占めるかを各週毎にみたものである．結果は4週連続投与例での傾向と類似し，Levamisole 投与前に PHA 幼若化率40%以上例が41.2%であったのが，投与1週後には66.7%と上昇し，2週後には42.9%とやや低下した後3，4週後にはおのおの71.4，81.0%と著しく高率とな

表2　Levamisole 投与後の諸検査成績

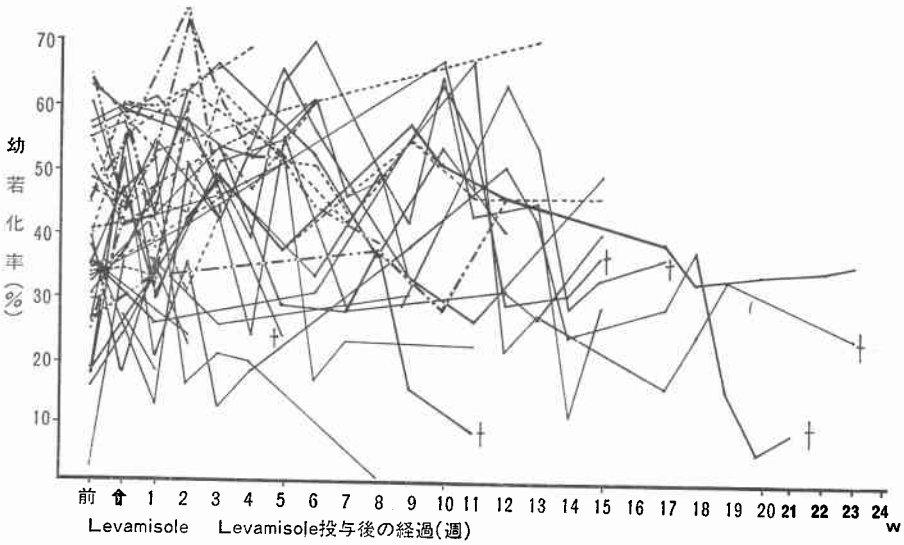
a) 投与前値より上昇した例

検査項目＼投与後週	1	2	3	4w
PHA幼若化率	58.3	33.3	61.9	57.1%
Tリンパ球頻度	53.8	75.0	60.0	30.8%
白血球数	53.9	56.0	39.1	39.1%
リンパ球数	63.0	60.0	68.2	50.0%

b) PHA幼若化率40%以上例

	投与前	投与後1	2	3	4w
40%以上例	41.2	66.7	42.9	71.4	81.0%

図3　Levamisole 投与後の PHA 幼若化率の変動



る．

3．長期投与例の検討

次に，Levamisole 投与例の6カ月間の細胞性免疫能の推移を幼若化率，Tリンパ球頻度，リンパ球数についてみた．図中破線は治癒切除例，点線は非治癒切除例，実線は非切除および再発例を示す．

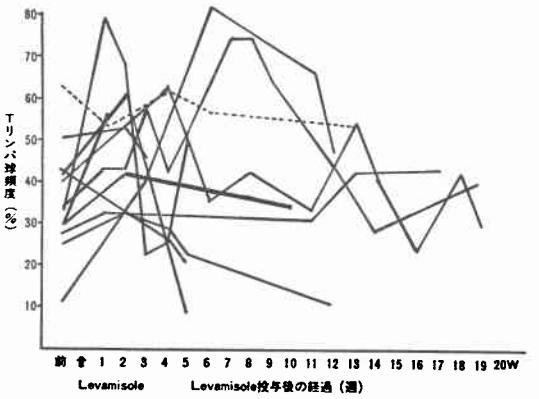
幼若化率では各症例の検査日毎の値がかなり動揺するが，全体的に Levamisole 投与開始後幼若化率が上昇してゆく傾向にある．その傾向は4週後までを最高として以後12週後まで保持されるが，それ以後はすべてが末期癌例であるため幼若化率は低下し，多くの例が死に至っている（図3）．

Tリンパ球頻度は被検例数がまだ少なく，1例を除いてその他はすべて末期癌例である．Levamisole 投与4週後までの上昇傾向は幼若化率の変動に類似し，それ以降は低率が目立ってくる（図4）．

末梢血リンパ球数の Levamisole 投与後の変動を同様にみてみると，非切除，再発例ではほとんどの例でリンパ球数が投与前値と同等かむしろ低下の傾向を示すが，うち23週後に上昇している例は非治癒切除ながら再発癌の摘出できた例である．それに対して非治癒切除癌例ではリンパ球数の上昇傾向が保持されており，幼若化率に似る．しかし治癒切除癌例では何故か4週以降の低下傾向がみられる（図5）．

以上の検査結果は，ほとんどすべての例が Levamisole 投与期間中も抗癌療法を続けてうけている時の値である．

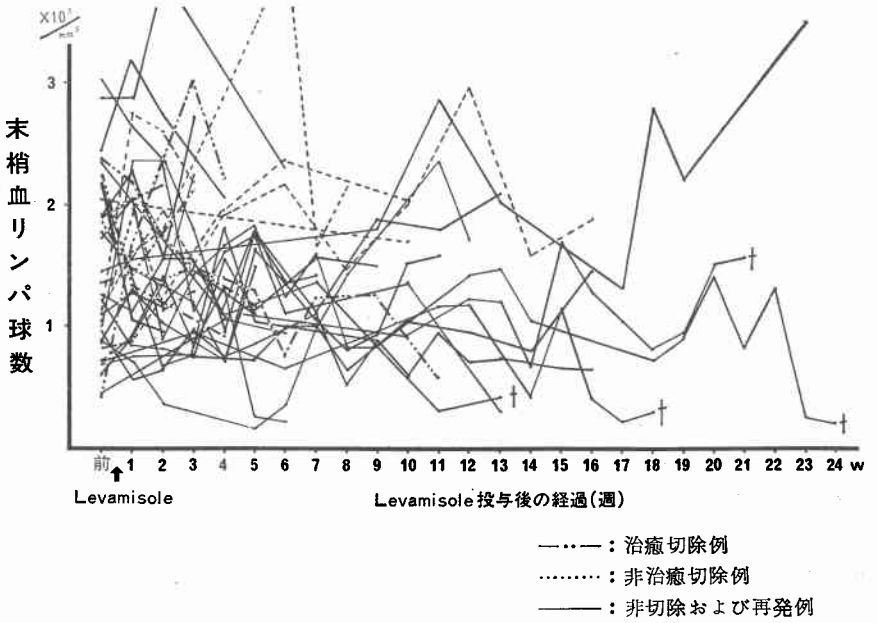
図4　Levamisole 投与後のTリンパ球頻度の変動



考　察

Renoux[12)~15)]らにより Levamisole に細胞性免疫増強作用があることが報告されて以来，Levamisole の活用が

図5　Levamisole 投与後の末梢血リンパ球数の変動



広汎に行われ始め，最近では癌患者への投与による効果をみる報告が多い[16)~18)]．この構造式は L-2, 3, 5, 6, tetrahydro-6-phenyl imidazo〔2, 1-b〕thiazole hydrochloride であり tetramisole の isomer である．

Levamisole の作用には大別して免疫能の刺激作用とそれによって生じる抗腫瘍作用があげられる．免疫能刺激作用としては細胞性免疫能刺激作用があげられ，a) 末梢血リンパ球数の増多作用，b) Tリンパ球刺激作用，c) PPD 反応や DNCB 反応等の遅延型皮膚反応の増強作用があげられる．リンパ球数では，Levamisole 投与後にリンパ球数そのものが増加するとする意見[17)]と，数は増えないが活性Tリンパ球の占める割合が増加するとする両説がある．われわれの結果[9)]でも，リンパ球数が減少している例に Levamisole を投与した場合にはその増加をみるが，対象を限定しない今回の結果ではあまり増加していない．Tリンパ球の刺激作用としては PHA, Con. A, PWM などに対する幼若化率が Levamisole 投与後増加することが多くの報告[20)]にみられている．これら Levamisole の幼若化率増強作用は，やはりリンパ球数での結果と同様に幼若化率の低下した例にのみ刺激し正常化するように働く．in vivo の反応も in vitro と同様のようである．また，Levamisole は in vitro, in vivo とも与える量が少なすぎても反応せず，多過ぎてもかえって抑制的に働くという[20)]．このような変化はTリンパ球頻度（E rosette forming cell 頻度）についてもいえ，Ramot ら[19)]は Hodgkin's disease の患者のリンパ球を40μg/ml の Levamisole と培養すると治療前に，33.6±12.5%であったTリンパ球頻度が治療後には56.7±14.6%と増加したが，正常人では全く変化がなく，また Levamisole の効果はTリンパ球頻度でみる限り少なくとも2カ月間は持続したという．われわれの結果では，投与開始後3週目に最も高い値を示した後，急激な低下をみているが，これは末期癌例がほとんどを占めるせいであろう．

Levamisole の遅延型皮膚反応増強効果については，Levo ら[21)]は Hodgkin's disease で PPD 反応陰性例の陽転化を Rojas ら[17)]は乳癌例に DNCB, Candida, PPD 反応を Levamisole 投与前後に行い，各々60%→83%，55%→78%，20%→33%へと陽性例が増加したことを，Verhaegen ら[22)]は control を含めた186例の患者に PPD, DNCB 反応を行い Levamisole 投与後に両者の反応が増強されることをみている．また，Tripodi ら[23)]は anergic な状態に陥った患者に Levamisole 150mg，3日間連続投与し，70%の患者に DNCB, PPD 反応の増強がみられたことを報告している．

Levamisole の抗腫瘍作用は上記細胞性免疫能刺激作用の結果惹起されるものであり，原発腫瘍への抗腫瘍性，再発の抑制およびそれらによる延命効果としてみられる．

Renoux ら[15)]は C57BL マウスに Lewis lung (3LL) tumor を皮下に5×10^5 個移植し，control 群と Levamisole 0.5mg/kg を 3LL 移植後1日目に1回のみを皮下注射した第1群と，3LL 移植後7日目より隔日に6回注射した第2群とに分け比較したところ primary tumor の negative intake 例は control 群で0/10，第1群で3/12，第2群で4/10となり，lung metastasis も control 群で10/10，第1群で9/12，第2群で5/10が陽性と，Levamisole の著明な抗腫瘍，転移抑制効果を報告している．われわれも[24)]，C3H/He 系自然発生乳癌マウスに腫瘍が触れるようになった時点より Levamisole 1.15mg/kg を隔日に10回背部皮下注射し，生食水のみを注射した control 群と比較して Levamisole 注射群に著明な抗腫瘍効果と延命効果を，また，C3H/He 系マウスに MH 134肝癌細胞10^5 個を移植し，第1群には移植当日より，第2群には移植日目より，第3群には移植10日目より Levamisole 1.15mg/kg を隔日に皮下注射したところ，腫瘍移植より7日を経て Levamisole を注射した群の方がより腫瘍増殖抑制効果が著しいという興味ある結果を得ている．その他にも Chirigos ら[25)]のネズミ白血病に対する Levamisole の効果についての動物実験報告がある．

臨床例での効果については，Amery を班長とする気管支癌グループは気管支癌患者に手術3日前より1日150mg，連続3日間の Levamisole を投与開始し，術後長期にわたって2週間毎に投与を継続すると再発の抑制や長期の延命効果がみられ，興味深いことに Levamisole 投与群では primary tumor が大きな例で最も低い再発率がみられたとしている．また，Rojas ら[17)]は手術不能な stage Ⅲ乳癌患者に放射線療法終了後に Levamisole 150 mg/day，3日間連続経口投与を隔週毎に継続し，著明な disease free interval の延長および延命効果をみている．

Levamisole の投与法は種々であるが，臨床投与法の基本は1週間内に150mg/kg 連続3日間投与する方法であり，細胞性免疫能増強効果は1回投与のみでもみられているが，再発抑制，抗腫瘍効果のみられている報告ではこれを隔週毎に投与しているものが多い．Rojas ら[17)]

はその他にDNCB反応陰性例にはLevamisole 300～600 mg/day，連続3日間投与を隔週毎に行ない，DNCB反応が陽転すれば150mg/day連続3日間，隔週投与に切り換える投与方法をも行いたいとしている．

Levamisoleの投与時期は，すでに述べてきた如く，細胞性免疫能低下時にLevamisoleが有効に作用することより，手術後の免疫能低下にそなえて手術直前より，抗癌療法による細胞性免疫能低下時に，またremissionの時期より投与を開始し，長期間継続することが必要であろう．

Levamisoleの副作用にはあまり著しいものはない．Rojasら[17]はLevamisoleの多量使用は人で精神変化を，動物で興奮を惹起するとしている．われわれの36例中では1例に蕁麻疹，1例に悪心がみられたが，蕁麻疹を来した例は投薬を中止することで速やかに症状消失し，悪心の1例はそのまま投薬が継続できた．

おわりに

主として消化器癌患者36例に，初期には抗癌療法によるリンパ球減少に，途中より抗腫瘍効果を期待してLevamisoleを投与し，その細胞性免疫能の変化を末梢血リンパ球のPHAに対する幼若化率，Tリンパ球頻度，末梢血白血球数，リンパ球数についてみた．

Levamisole投与対象は治癒切除癌7例，非治癒切除癌5例，非切除および再発癌24例，計36例で，うち23例にLevamisole 150mg/day，連続3日間投与を毎週連続4週以上投与し，その他では隔週毎などで継続投与した．

Levamisole 150mg/day×3日間/週，4週連続投与例では，幼若化率および幼若化率40%以上例はLevamisole投与3～4週後と後半期に上昇した．末梢血白血球数，リンパ球数には著明な変幼はみられなかった．しかし，白血球数，リンパ球数が減少している例にLevamisoleを投与した場合には投与後早期よりそれらの増加がみられた．

Levamisole投与36例全体の傾向も4週連続投与例に類似した．

Levamisole投与開始より24週後までの幼若化率，Tリンパ球頻度，末梢血リンパ球数の変化は，5週以降の経過観察例のほとんどが末期癌例であるため癌病態に左右されるが，幼若幼率では投与開始12週後まで高値を保持した後ほとんどが低下し死にいたる．しかし，例数は少ないが非治癒切除癌例では幼若化率およびリンパ球数が高値に維持され，Levamisoleの効果が期待できた．

今後，投与対象，投与法に工夫を加えさらに検討を加えていきたい．

稿を終るにあたり，恩師田中早苗教授のご校閲に深謝する．

文　献

1) 三輪恕昭ほか：癌進行度とリンパ球幼若化率との相関—消化器癌を中心に．医学のあゆみ，**80**: 634—635，1972.
2) 三輪恕昭ほか：リンパ球幼若化率，ツベルクリン反応，DNCB反応による癌進行度の判定．外科，**36**：477—482，1974.
3) 三輪恕昭ほか：癌患者におけるリンパ球幼若化率の手術前後および再発による変動．医学のあゆみ，**89**：328—329，1974.
4) 折田薫三ほか：末梢血リンパ球の免疫学的活性による癌進行度と予後の判定．手術，**29**：949—959，1975.
5) 三輪恕昭ほか：消化器癌再発前後における幼若化率の動態．医学のあゆみ，**98**：840—841，1976.
6) Miwa, H., et al.: Blastformation rate of peripheral blood lymphocytes before and after the recurrence of cancer. Acta Med. Okayama, **30**: 379—383, 1976.
7) 三輪恕昭ほか：リンパ球幼若化率による消化器癌患者術後病態の長期検索．臨床外科 **32**：891—896，1977.
8) 折田薫三：癌の手術と免疫療法．外科治療，**32**: 379—388，1976.
9) 三輪恕昭ほか：Levamisoleによる癌患者細胞性免疫能の賦活．医学のあゆみ，**100**：749—751，1977.
10) Orita, K., et al.: Suppressed blastformation of lymphocyte in cancer bearing patients, with special referrence to the cancers of digestive tract. Acta Med. Okayama, **27**: 37—41, 1973.
11) 橘　武彦ほか：ヒト，リンパ球T細胞，B細胞の微量測定．免疫実験操作法．免疫細胞I—6，683—687，1973.
12) Renoux, G., et al.: Effet immunostimulant d'un imidothiazole dans I'immunisation des souris contre I'infection par Brucella abotus. C.R. Acad. Sci., **272**: 349—350, 1971.
13) Renoux, G., et al.: Action immunostimulante de dérivés du phenylimidothiazole sur les cellules spléniques formatrices d'anticorps. C.R. Acad. Sci., **274**: 756—757, 1972.
14) Renoux, G., et al.: Action de phénylimidothiazole (tétramisole) sur la réaction de greffon contre I'hote. Rôle des macrophages. C.R. Acad. Sci., **274**: 756—757, 1972.
15) Renoux, G., et al.: Levamisole inhibits and

cures a solid malignant tumor and its pulmonary metastasis in mice.

16) Hirshaut, Y., et al.: Effect of levamisole on delayed hypersensitivity reactions in cancer patients. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., **14**: 109, 1973.

17) Rojas, A.F., et al.: Levamisole in advanced human breast cancer. Lancet, **1**: 211—215, 1976.

18) Study group for bronchogenic carcinoma: Immunopotentiation with levamisole in resectable bronchogenic carcinoma.: A double-blind controlled trial. Br. Med. J., **3**: 461—464, 1975.

19) Ramot, B., et al.: Effect of levamisole on E-rosette-forming cells in vivo and in vitro in Hodgkin's disease. New Eng. J. Med., **294**: 809—811, 1976.

20) Sampson, D., et al.: Effect of levamisole on cell-mediated immunity and suppressor cell function. Cancer Res., **36**: 952—955, 1976.

21) Levo, Y., et al.: Restoration of cellular immune responses by levamisole in patients with Hodgkin's disease. Biomedicine, **23**: 198—200, 1975.

22) Verhaegen, H., et al.: Levamisole and immune response. New Eng. J. Med., **22**: 1148, 1973.

23) Tripodi, D., et al.: Drug-induced restoration of cutaneous delayed hypersensitivity in anergic patients with cancer. New Eng. J. Med., **289**: 354—357, 1973.

24) 大江新野ほか：癌細胞に対する細胞性抗体（第24報）Levamisole のマウス自然発生乳癌及び人癌に対する抗腫瘍性について．第35回日本癌学会総会記事，p. 69, 1976.

25) Chirigos, M.A., et al.: Prolongation of chemotherapeutically induced remission of a syngeneic murine leukemia by 1-2,3,5,6,-tetrahydro-6-phenylimidazo [2,1-b] thiazole hydrochloride. Cancer Res., **35**: 927—931, 1975.