

ラットおよびヌードマウスにおける local graft versus host reaction を利用した細胞性免疫能の検討

名古屋大学医学部第2外科教室

寺部 啓介 小島 崇司
亀井 秀雄 近藤 達平

THE INVESTIGATION OF THE IMMUNOCOMPETENCE OF HUMAN LYMPHOCYTES BY THE USE OF LOCAL GRAFT VERSUS HOST REACTION IN RATS AND NUDE MICE

Keisuke TERABE, Takashi KOJIMA, Hideo KAMEI
and Tatsuhei KONDO

Second Department of Surgery, Nagoya University School of Medicine

集学的癌治療の一部として免疫療法が普及してきた。免疫療法を施行するには常に担癌患者の免疫能を把握する必要がある。著者はラットおよびヌードマウスを使用して local graft versus host reaction (local GVHR) を測定して担癌患者の細胞性免疫能を測定した。方法はラットの腹部皮内、ヌードマウスの背部皮内に、ヒトリンパ球を注射し、5日後の硬結(local GVHR)により、非特異的免疫能を測定し以下の結果を得た。①ヌードマウスを使用した local GVHR はラットを使用した local GVHR に比し簡便で再現性の高い成績が得られた。② local GVHR と PHA, PPD 皮内反応との相関性を検討すると、良性疾患では高い相関性が得られたが担癌患者では相関性の低下が認められた。

索引用語: local graft versus host reaction, 細胞性免疫能, 免疫抑制因子, 免疫療法

緒言

免疫学の急速な進歩に伴って集学的癌治療の一部として免疫療法が普及してきた。現時点における免疫療法の主目的は癌細胞に対する直接殺細胞効果というよりは外科療法で取り残された残存癌細胞の生着の阻止、化学療法、放射線療法との併用による副作用の予防などにあり、いわば外科療法、化学療法、放射線療法の補助療法である¹⁾。免疫治療を施行するには患者の免疫能を常に把握している必要があり従来より免疫学的パラメーターが使用されてきた。その主なものとして T 細胞比²⁾、PHA 皮内反応³⁾、PPD 皮内反応⁴⁾、SU-PS 皮内反応⁵⁾、リンパ球の PHA 幼若化率⁶⁾、in vitro PPD 反応⁷⁾、LAI⁸⁾、LMI⁹⁾、IAP¹⁰⁾、IgG FcR+ T cell¹¹⁾などが施行されている。現在のところ担癌患者の免疫能を正確に知るには、1つのパラメーターでは不十分であり多くのパラメーターを総合して判断している。したがって有用な免疫学的パラメーターが必要であるが、有用なパラメーターとは手技が容易で再

現性が高いという条件が必要である。Brent¹²⁾はモルモットのリンパ球を異系のモルモットの腹部皮内に注射し48時間後の硬結は local graft versus host reaction によるものと報告し shohat¹³⁾は免疫抑制ラットの腹部皮内にヒトリンパ球の浸潤性増殖すなわち local GVHR を認め、その程度によりヒトリンパ球の免疫能を評価した。著者は従来ラットを用いた方法に加え、新たにヌードマウスを用いる同反応の検査法を開発したが、この現象の基礎実験として組織学的な検討を加え、さらに癌患者、健常人との比較を行った。

材料および方法

1) ヌードマウスは Balb/c nu/nu 雄25g を使用し、飼育は SPF (specific pathogen free) 下および conventional な方法で行った。ラットはドンリュウラットを用い、体重100g の雄を使用した。

2) ヒトリンパ球の採取: ヒト末梢へパソン血 10~15ml を採血し Ficoll-Conray 比重遠沈法¹⁴⁾にて、リンパ球を分離し、PBS にて2回洗浄後、RPMI1640

にて 10×10^6 個/0.1ml に調整した。

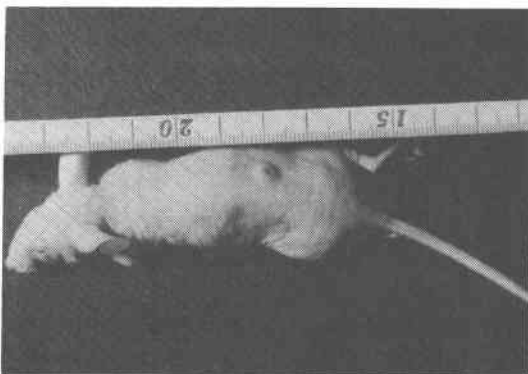
3) ドンリュウラットを使用した local GVHR の測定以下のごとくである。ドンリュウラットの腹腔内に免疫抑制剤として Cyclophosphamide(Endoxane) 100mg/kg を注入して、24時間後、腹部を剃毛し、前述の方法で採取したヒトリンパ球含有液を腹部皮内に注射した。5日後1%エバンスブルー-0.4ml をラットの尾静脈内に注射し、5時間後、腹部皮膚を切除し硬結を伴った青染部位(図1)の直径を測定し平均直径2mm以上を陽性、1~2mmを疑陽性、1mm以下を陰性とした。なお青染部位の組織を HE 染色し鏡検した。

4) ヌードマウスを使用した検査法は以下のごとくである。ヌードマウスを使用した場合は免疫抑制剤である Cyclophosphamide は使用しなかった。ヒトリンパ球は前述のドンリュウラットと同様な方法で採取し、0.1ml 液に 10×10^6 個リンパ球を含有するよう調整、ヌードマウスの背部皮内に注射した(図2)。5日

図1 ドンリュウラットの腹部の硬結(local GVHR)



図2 ヌードマウスの背部皮内の硬結(local GVHR)



後背部皮内に生じた硬結部位の平均直径を測定したが、判定基準はドンリュウラットの基準と同様である。なお硬結部位の組織を HE 染色をし鏡検した。

5) PHA 皮内反応, PPD 皮内反応

PHA 皮内反応をみるために Welcome 社の精製 PHA を $25 \mu\text{g/ml}$ に調整して0.1ml を皮内に注射し、24時間後の発赤、硬結を測定、その平均直径を測定した。PPD 皮内反応は一般診断用精製ツベルクリンを $0.5 \mu\text{g/ml}$ に調整し0.1ml を注射し、48時間後の発赤、硬結を測定して、その平均直径を測定した。

6) local GVHR を生じたラット腹部皮内のヒトリンパ球の検索

a) T リンパ球の検索

ラットの腹部皮膚を採取し凍結切片またはスタンプ標本作製した。凍結切片はサクラ会社製のクライオスタットを用いて 5μ の標本作製し、10分間のアセトン固定後生食水に10分間浸し、抗ヒト T リンパ球 FITC 標識抗体 [抗ヒト T リンパ球モノクローナル抗体 (オーソミューン)] (オーソ・ダイアグノスティック・システムズ株式会社) を1ml に溶解した後、5倍稀釈した1滴を滴下、Hirasawa.Works 社製の湿性培養室に1時間反応させた後、生食水にて20分間、2回振盪洗浄した。鏡検は千代田光学社製の蛍光顕微鏡にて行った。対照としてドンリュウラットの腹腔リンパ節を採取し前記と同様に凍結切片を作製して抗ヒト T リンパ球 FITC 標識抗体と反応させ、蛍光顕微鏡で観察した。

b) B リンパ球の検索

ラットの腹部皮膚を採取し凍結切片またはスタンプ標本作製した。すなわちアセトン固定を10分間行った後、生食水に10分間浸し次いで抗ヒト IgG FITC 標識抗体 (ヘキスト) を1滴滴下して、湿性培養室に1時間反応させ、生食水にて2回振盪洗浄後、蛍光顕微鏡にて検索した。対照として、ドンリュウラットの腹腔内リンパ節を採取し、凍結切片を作製して前記と同様な操作で抗ヒト IgG FITC 標識抗体と反応させ、蛍光顕微鏡で観察した。

7) ドンリュウラットの免疫抑制剤として使用される Cyclophosphamide の至適量の決定に関する検討

健康人および良性疾患患者のリンパ球を採取し local GVHR を検討したが、ラットに対する Cyclophosphamide の量を 0 mg/kg, 30mg/kg, 60mg/kg, 100mg/kg, 130mg/kg, 160mg/kg 投与時におけるそれぞれの local GVHR を測定した。

表1 対象症例 (呑竜ラットを使用した local GVHR)

悪性疾患	症例数	良性疾患	症例数
胃癌	17例	胃十二指腸潰瘍	6例
食道癌	3	胆石症	4
結腸直腸癌	6	唾液腺混合腫瘍	2
肺癌	5	肺のう胞	2
絨毛上皮腺	2	肛門狭窄	1
悪性リンパ腫 2		顎下腺結核	
腺癌	1	胃迷入腺	1
横紋筋肉腫	1	結腸ポリープ (腺腫)	1
甲状腺癌	1	小腸大腸多発潰瘍	1
皮膚癌	1	クローン病	1
計	39例	アカラシア	1
		間質性肺炎	1
		肺アスペルギルス症	1
		肺化膿症	1
		自然気胸	1
		好酸球肉芽腫	1
		頸部神経鞘腫	1
		健康人	6
		計	33例

表2 対象症例 (ヌードマウスを使用した local GVHR)

悪性疾患	症例数	良性疾患	症例数
胃癌	9例	胃十二指腸潰瘍	5例
食道癌	3	胆石症	5
結腸直腸癌	5	自然気胸	3
肺癌	1	縦隔腫瘍 (胸腺腫)	3
耳下腺癌	1	肺結核	1
悪性リンパ腫	1	肺過誤腫	1
計	20例	バセドー病	1
		肛門狭窄	1
		結腸ポリポージス	1
		脂肪腫	1
		計	22例

対象症例

ドンリュウラットを使用した local GVHR は表1のごとくであり、ヌードマウスを使用した local GVHR は表2のごとくである。

結果

1) ドンリュウラットの腹部皮内の組織学的検索

青染部位の組織を HE 染色して鏡検した結果 local GVHR 陽性例では、リンパ球をはじめ円形細胞に富んだ浸潤像がみられ (図3) 陰性例では細胞の浸潤像は著明ではない (図4)。

2) ヌードマウスの背部皮膚の組織学的検索

図3 local GVHR 陽性例の組織像 (ドンリュウラット)

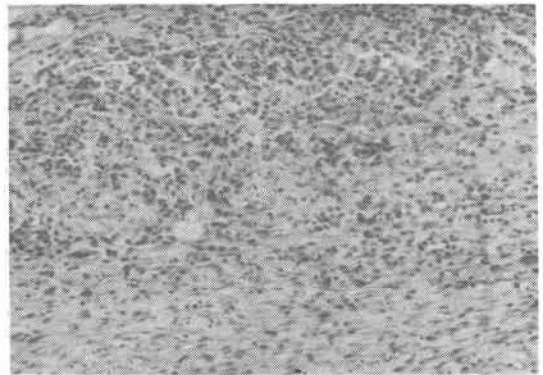


図4 local GVHR 陰性例の組織像 (ドンリュウラット)

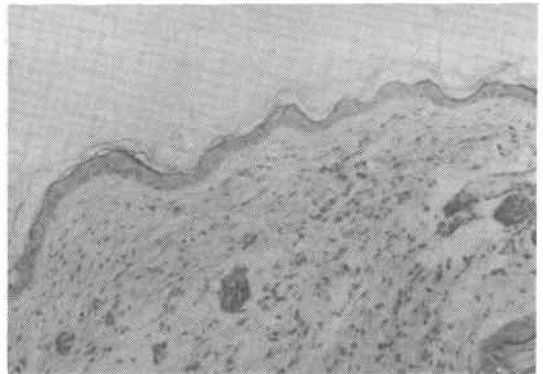
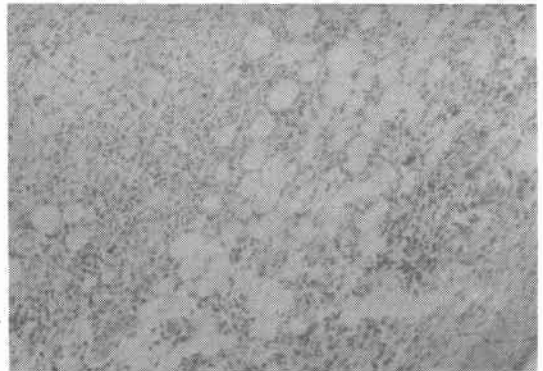


図5 local GVHR 陽性例の組織像 (ヌードマウス)



背部皮内の組織を HE 染色して鏡検した結果 local GVHR 陽性例では、リンパ球をはじめ円形細胞に富んだ浸潤像がみられ (図5) 陰性例では細胞の浸潤像は著明ではない (図6)。

3) local GVHR を生じたラット腹部皮内のヒトリンパ球の検索

a) Tリンパ球の検索

local GVHR 陽性のラットの腹部皮膚を採取し抗ヒト Tリンパ球 FITC 標識抗体と反応させた後蛍光顕微鏡で観察すると図7のごとく蛍光を発するTリンパ球が観察された。対照としてラットの腹腔内リンパ節の凍結切片を作製して抗ヒト Tリンパ球 FITC 標識抗体と反応させた後、蛍光顕微鏡で観察すると図8のごとく蛍光を発する細胞はなく図7で示された蛍光は specific なものと思われる。

b) Bリンパ球の検索

ラットの腹部皮膚を採取し抗ヒト IgG FITC 標識抗体と反応させた後、蛍光顕微鏡で観察すると local GVHR 陽性例では、図9のごとく蛍光を発するBリンパ球が観察された。対照として、ラットの腹腔内リンパ節の凍結切片を作製して抗ヒト IgG FITC 標識抗体と反応させた後、蛍光顕微鏡で観察すると図10のご

とく蛍光を発する細胞はなく図9で示された蛍光は specific なものと思われる。

4) 免疫抑制剤 Cyclophosphamide の投与量と local GVHR

ドンリュウラットの免疫抑制に Cyclophosphamide

図8 local GVHR 陰性例の蛍光顕微鏡像 (抗ヒト Tリンパ球抗体使用)



図9 local GVHR 陽性例の蛍光顕微鏡像 (抗ヒト IgG 抗体使用)



図6 local GVHR 陰性例の組織像 (ヌードマウス)

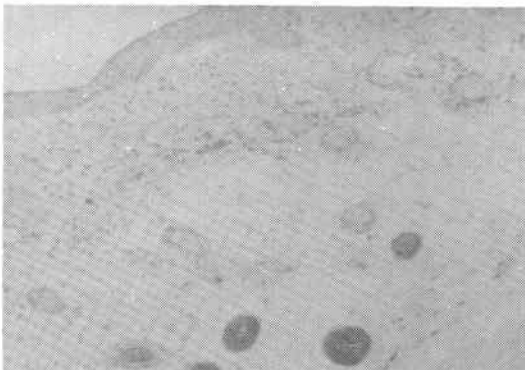


図7 local GVHR 陽性例の蛍光顕微鏡像 (抗ヒト Tリンパ球抗体使用)



図10 local GVHR 陰性例の蛍光顕微鏡像 (抗ヒト IgG 抗体使用)



を使用するが、いかなる量が適当かを検討した。図11のごとく免疫抑制をしない群と Cyclophosphamide 30 mg/kg の群の local GVHR は 0 であった。60mg/kg の群の local GVHR の平均直径は 2.2cm, 100mg/kg の群は 3.0cm, 130mg/kg の群は 3.1cm, 160mg/kg の群は 2.9cm でありこの結果より 100mg/kg が免疫抑制剤の量として適当と思われた。

5) ドンリュウラットを使用した local GVHR (Cyclophosphamide 100mg 使用)

図12のごとくである。なお図の破線は陰性と疑陽性との境界を実線は疑陽性と陽性との境界を示す。悪性疾患における local GVHR は陽性例 8 例(20.5%)、疑

陽性例 7 例 (18%)、陰性例 24 例 (61.5%) であった。良性疾患における local GVHR は陽性例 23 例 (69.8%)、疑陽性例 6 例(18.2%)、陰性例 4 例(12%) であり担癌患者に陰性例が多く良性疾患に陽性例が多かった ($p < 0.01$)。

6) ヌードマウスを使用した local GVHR

図13のごとくである。悪性疾患におおては陽性例 6 例 (27.3%)、疑陽性例 1 例 (4.5%)、陰性例 15 例 (68.2%) であった。良性疾患においては陽性例 19 例 (79.2%) 陰性例 5 例 (20.8%) であり担癌患者に陰性例が多く良性疾患に陽性例が多い($p < 0.001$)。すなわち担癌患者の非時異的免疫能の低下が示唆された。

図11 免疫抑制剤 Cyclophosphamide の投与量と local GVHR

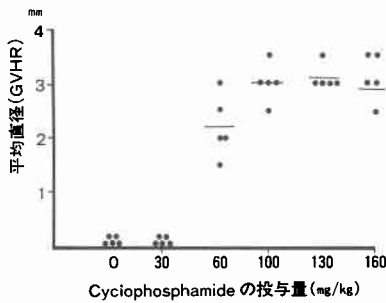


図12 ドンリュウラットにおける local GVHR

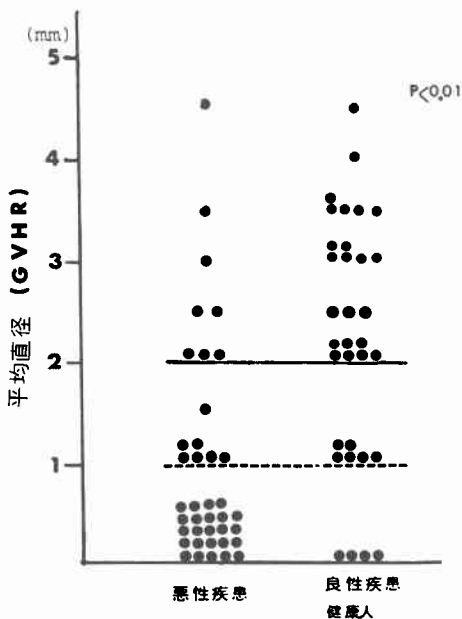


図13 ヌードマウスにおける local GVHR

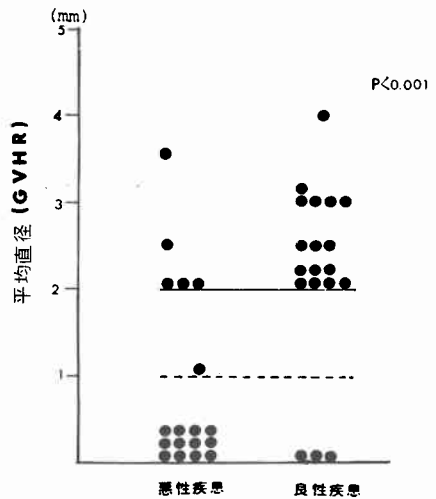
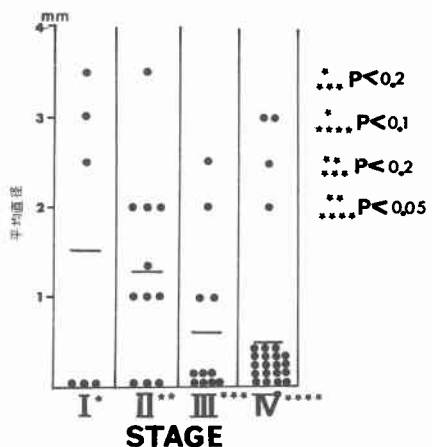


図14 stage 別の local GVHR (消化器癌)



7) 消化器癌における stage 別の local GVHR (図 14)

stage I の local GVHR の平均直径は 1.51mm, stage II は 1.32mm, stage III は 0.76mm, stage IV は 0.46mm と stage が進むにつれて local GVHR は低下し非時異的免疫能の低下が認められた。

8) 手術前後の local GVHR

手術症例を長期間 follow up し local GVHR を測定して患者の免疫能を追跡した。悪性疾患患者では術後 2 週で local GVHR の低下が認められ術後 6 週で回復する傾向が認められた (図 15)。良性疾患の術後の local GVHR を検討すると術後 2 週で local GVHR の低下がみられ術後 4 週で回復する傾向を示した (図 16)。

9) local GVHR と PHA, PPD 皮内反応との相関性
悪性疾患と良性疾患に分けて検討した。まず local

GVHR と PHA 皮内反応との相関性を検討すると、良性疾患においては相関係数 0.89 と高い相関性を示した ($p < 0.01$) が悪性疾患では相関係数 0.19 と相関性の低下が認められた ($p > 0.05$) (図 17)。次に local GVHR と PPD 皮内反応との相関性を検討すると良性疾患では相関係数 0.46 ($p = 0.05$) と高い相関性が得られ悪性疾患においては相関係数 0.12 と相関性の低下が見られた (図 18)。

考 察

Graft Versus Host Reaction は移植されたリンパ系細胞が host の移植抗原を認識して反応する細胞性免疫反応であると考えられている¹⁵⁾¹⁶⁾。また GVH 反応を起す主役は T リンパ球と考えられている¹⁷⁾¹⁸⁾。

Elkins¹⁹⁾は親系のラットのリンパ系細胞をその交配一代雑種 (F₁) の腎被膜下に移植すると、注入された側の腎が腫大し被膜下から実質にかけて広汎な単核細

図 15 術前術後の local GVHR (悪性疾患)

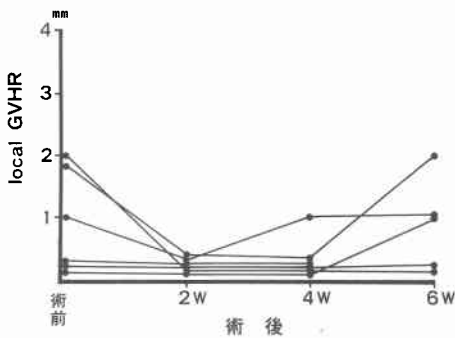


図 16 術前術後の local GVHR (良性疾患)

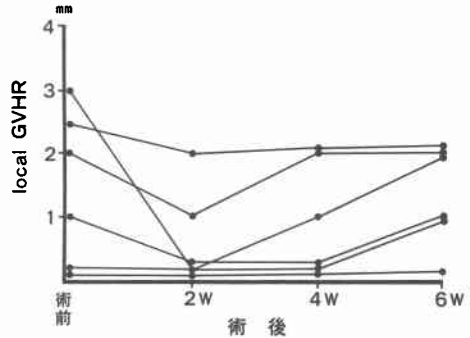


図 17 local GVHR と PHA 皮内反応との相関性

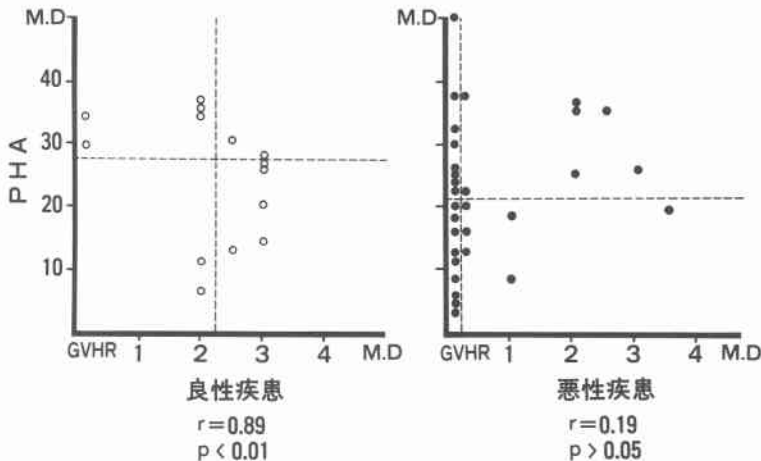
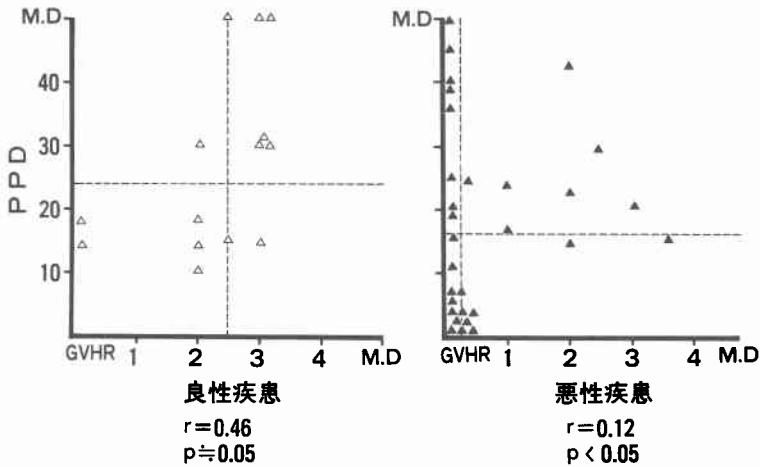


図18 local GVHR と PPD 皮内反応との相関性



胞浸潤と実質の破壊がみられ、この現象は local GVHR によるものであることを立証した。

Brent&Medawar¹²⁾はモルモットのリンパ球を異系のモルモットの腹部皮内に注入し48時間後の硬結は注入されたリンパ球による local GVHR によるものであることを示した。Batya Shohat¹³⁾は免疫抑制ラットの腹部皮内に注入されたヒトリンパ球の浸潤性増殖を認め、これは local GVHR によるものであることを示し、この local GVHR の反応の強弱がヒトリンパ球の細胞性免疫能のパラメーターになりうることを示した。現在施行されている免疫療法の主なものは免疫賦活剤による非特異的免疫療法であり、免疫療法の主たる目的は macrophage や killer T cell の活性化による抗腫瘍効果であることはもちろんであるが、その他に外科療法、化学療法、放射線療法後の生体の非特異的免疫能の低下により残存腫瘍細胞の急速な増大をみることがある²⁰⁾ので、これを免疫療法により防止しようとする意義もある。これらを用いるためには癌治療中には患者の免疫能を常に把握する必要がある。

現在前述した様に数多くの免疫学的パラメーターがあるが、手技の簡便さ、再現性の高いことと条件を満足するパラメーターは少ない。著者は local GVHR を利用する方法は前記2つの条件を満足しようと考え、さらに改良を加えることにより手技の簡便さ再現性の高い条件を満足できるパラメーターにすることが可能と考えた。従来施行されてきた local GVHR はラット、マウスが使用されてきた。そのためラットまたはマウスに免疫抑制すなわち Cyclophosphamide²¹⁾、ALS (antilymphocyte serum²¹⁾)、irradiation²²⁾など

が必要となる。

著者はヌードマウスを使用することにより免疫抑制を必要とせず、手技が簡便となりしたがって再現性の高い検査法とすることができた。ヌードマウスは Pantelouris²³⁾により胸腺欠損マウスであることが発見され、したがって T cell 機能低下が認められるがヒトの悪性腫瘍のヌードマウスに移植することにより抗癌剤に対する感受性試験に応用すれば非常に有用であることがわかってきた。

Poulsen ら²⁴⁾はこれらの点を詳細に検討し① ヒトの腫瘍が移植可能である。② 局所での発育が毛がないために容易に観察でき、biopsy も容易である。③ 移植腫瘍の発育がよく比較的一定である。④ 腫瘍継代移植が可能である。⑤ ヒトの腫瘍の性質（組織学的所見、染色体、抗原、その他）が維持される。⑥ SPF 下において比較的繁殖が容易である。⑦ ヌードマウスでは X 線処理、cortison 処理などの必要がない。⑧ 移植された腫瘍がもとの腫瘍と同じ抗癌剤に対する感受性を有するなどの点でヌードマウスが秀れた実験動物であることを主張した。

著者は前記の特徴のうち②と⑦を利用すれば従来施行されてきた local GVHR よりも容易に、しかも再現性の高い検査となり得ると考えヌードマウスを使用して local GVHR を施行したところ非常に有用であることを認めた。なおヌードマウスの飼育は conventional な方法と SPF (specific pathogen free) 下の両方で行い、local GVHR を測定したが、飼育方法による差異は認められなかったが、原則的には SPF 下に施行することが必要と思われる。ラットおよびマウスを

使用した local GVHR はリンパ球注入部位として腹部を利用したが、腹部は汚染されやすく感染の危険性があるのでヌードマウスでは背部に注入した。背部注入では感染の可能性も少なく、この点も再現性の高い正確な検査法となるのに寄与しているものと思われる。

local GVHR 陽性例の組織像では円形細胞の浸潤性増殖が認められるが、これを抗ヒト T リンパ球抗体、抗ヒト IgG 抗体を用いて蛍光顕微鏡下に観察すると、ヒトリンパ球の存在が証明され、これらの所見が local GVHR を示唆する所見と思われる。ドンリュウラットを使用した local GVHR もヌードマウスを利用した local GVHR も担癌患者に陰性例が多く良性疾患に陽性例が多いのであって、担癌患者に非特異的免疫能の低下した症例が多く良性疾患に非特異的免疫能が保たれた症例が多いことが示唆された。従来より報告されている担癌患者の細胞性免疫能が障害されていることと一致した成績であった。癌の免疫抑制機構については、体液性因子による T 細胞依存の免疫抑制 (humoral immunosuppression) と細胞レベルの免疫反応の抑制すなわち suppressor cell による cellular immunosuppression とが考えられる。体液性因子による免疫抑制としては blocking factor^{27)~29)} 癌胎児蛋白³⁰⁾、Immunoregulatory α globulin (IRA)³¹⁾、isoferitin, α^1 -antitrypsin³²⁾ などの非特異的免疫抑制因子などが考えられており、細胞レベルでの免疫抑制としては suppressor T cell の存在が明確にされてきた^{33)~35)}。いずれにしても担癌患者の免疫能が低下している原因には上記の要因が考えられる。消化器癌における stage 別の local GVHR を測定すると stage の進行するにつれて local GVHR の低下が認められ非特異的免疫能の低下が示唆された。この結果は諸家の報告と一致し、癌が進行するにしたがい、食事摂取が少なくなり、栄養不良状態に陥ること、癌病巣からの出血、protein losing および担癌生体よりの有毒物質、前記の免疫抑制物質の有意の増加により癌の進行とともに免疫能の低下がみられるものと思われる³⁶⁾。

次に悪性疾患患者と良性疾患患者を術後長期間 follow up し、手術侵襲が非特異的免疫能に及ぼす影響を与えるかについて検討した。

悪性疾患患者における術後の免疫能の推移を local GVHR を利用して検討すると術後 2 週にて local GVHR の低下は最も著明であり、術後 6 週で回復傾向が認められる。良性疾患では術後 2 週において local

GVHR は著明に低下し術後 4 週で回復傾向がみられた。手術侵襲により術直後より非特異的免疫能は低下し術後 2 週で peak に達し術後 4~6 週で回復するといわれている³⁷⁾³⁸⁾。著者が local GVHR で測定した結果も同様であった。良性疾患では術後 4 週でほぼ術前値に回復するのに比べて悪性疾患では約 6 週間を要しているのは悪性疾患の手術侵襲が大きいためと思われる。悪性疾患の手術後非特異的免疫能の低下には、残存腫瘍細胞の増大、転移の促進などの可能性も考えられ、臨床的にもこのような現象が報告されている³⁹⁾。これらの事実に基づき術後の免疫能低下を防ぐために免疫賦活剤を術前より使用することにより効果があげられている⁴⁰⁾⁴¹⁾。

local GVHR と PHA 皮内反応との相関性を検討すると良性疾患では相関係数 0.89 ($p < 0.01$) と高く、悪性疾患では 0.19 と相関性の低下が認められた。 ($p > 0.05$)。local GVHR と PPD 皮内反応との相関性をみると良性疾患では相関係数 0.46 ($p = 0.05$) と高い相関性が得られ、悪性疾患では 0.12 と相関性の低下が認められた ($p > 0.05$)。以上のごとく local GVHR と PHA、PPD 皮内反応との相関性は良性疾患では高く、悪性疾患では低下している。この現象は良性疾患では local GVHR、PHA、PPD 皮内反応とも高い値をとり、しかも高い相関性が得られ、良性疾患患者は十分な免疫能を保持していることを裏付けるものであり、悪性疾患では local GVHR、PHA、PPD 皮内反応とも低値をとる傾向にあり、しかも相関性の低下がみられることは免疫能の不均衡によると思われる、いしかえると免疫能が低下している所以と解釈することが妥当と考えられる。

以上ドンリュウラットを利用した local GVHR とヌードマウスを利用した local GVHR を測定し悪性疾患、良性疾患の免疫能を検討し、さらに新たにヌードマウスを利用した local GVHR の手技の簡便さ、再現性の高いことを報告し免疫学的パラメーターとして有用であることを示した。

結 語

ドンリュウラットおよびヌードマウスを利用して local GVHR を施行し、担癌患者および良性疾患患者の細胞性免疫能を検討し以下の結果が得られた。

① 著者の新しく開発したヌードマウスを使用した local GVHR は免疫抑制をする必要もなくドンリュウラットを利用した local GVHR に比して手技も簡単で再現性の高い成績が得られた。

② local GVHR の測定により担癌患者の非特異的免疫能の低下が認められ、良性疾患患者は十分な非特異的免疫能を保持していると思われる。

③ local GVHR を利用して術後長期間 follow up した結果、担癌患者は術後2週に非特異的免疫能の低下が認められ、術後6週にこれが回復した。良性疾患では術後2週で非特異的免疫能の低下があり術後4週には回復傾向を認めた。

④ local GVHR と PHA, PPD 皮内反応との相関性を検討すると、良性疾患では相関性が高く、十分な非特異的免疫能を有しているが、悪性疾患では相関性は低く担癌患者のもつ細胞性免疫能の不均衡があり、細胞性免疫能の低下が認められた。

以上の知見から local GVHR を利用して患者の細胞性免疫能を把握することは、癌治療における補助療法としての免疫療法にとって非常に有用と思われる。

文 献

- 1) 齊藤征夫：癌の一免疫療法。臨免疫 12：441—447, 1980
- 2) 矢田純一, 橋 武彦：免疫実験操作法 II, 日本免疫学会編, 1972, p473—475
- 3) 曾根三郎：PHA 皮膚反応。癌の臨 24：979—986, 1978
- 4) Sgeward AM: Tuberculin reaction in cancer patient, "Mantoux Release" and lymphosuppressive stimulatory factors. J Nat Cancer Inst 50：625—632, 1973
- 5) 渡辺洋宇, 山田哲司, 小林弘明ほか：OK-432による免疫療法に際してのSU-ポリサッカライド皮膚反応の意義。癌と化療 8：1026—1083, 1981
- 6) Garrioch DB, Good RA, Gatti RA: Lymphocyte response to PHA in patient with non-lymphoid tumors. Lancet II：618—618, 1970
- 7) 亀井秀雄, 村井知良, 殿村邦彦ほか：In vitro ツ反応の検討。医のあゆみ 95：97—98, 1975
- 8) 亀井秀雄, 桃井知良, 葛谷 元ほか：胃癌補目の診断法としての Leucocyte adherence inhibition (LAI) test. 医のあゆみ 97：71—72, 1976
- 9) 赤塚 聡, 梅田哲正, 桃井知良ほか：他家胃癌及び結腸癌組織ホモゲネート上清による白血球遊走阻止試験。医のあゆみ 103：749—751, 1977
- 10) 松田好史, 田村啓二, 北目文郎ほか：癌患者血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の性状と免疫抑制活性。医のあゆみ 105：154—157, 1978
- 11) 新保敏和, 麦谷哩夫, 菅原真知子ほか：癌患者にみられるリンパ球とマクロファージの異常。癌と化療 5：261—271, 1978
- 12) Brent L, Medawar PB: Quantative studies on tissue transplantation immunity. VII. The normal lymphocyte transfer reaction. Proc Roy Soc B 165：281—286, 1966
- 13) Batya S, Joshua H: Assessment of the functional activity of human lymphocytes in malignant disease by the local graft versus host reaction in rats and the T rosette forming cell test. Clin Exp Immunol 24：534—537, 1976
- 14) 辻 公美：免疫実験操作法 I, 日本免疫学会編, 1971, p265—268
- 15) Billingham RE: The biology of graft vs host reactions. Harvey Lencet 62：21—26, 1968
- 16) Simonsen M: Graft versus host reactions. Their natural history and applicability as tools of research. Progress in Allergy 6：349—356, 1962
- 17) Bortin MM, Rimon AA, Saltzstein EC: Ontogenesis of immune capability of murine bone marrow cells and spleen cells against transplantation antigens. J Immunol 103：683—686, 1969
- 18) Goldshneider I, McGregor DD: Development of immunologically competent cells in the rat. Nature 212：1435, 1965
- 19) Elkins WL: Invasion and destruction of homologous kidney by locally inoculated lymphoid cells. J Exp Med 120：329—336, 1964
- 20) Kondo T, Moore GE: Production of metastases by treatment with carcinostatic agents. I. Effect of carcinostatic agents on the host. Cancer Res 21：1396—1399, 1961
- 21) Rees JA, Symes MO: An in vivo test for the immunocompetence of human lymphocytes. Transplantation 16：565—569, 1973
- 22) 池田久実：ラットの local graft versus host reaction (local GVHR) に関与する細胞の免疫生物学的性状に関する研究。移植 6：59—67, 1971
- 23) Pantelouris EM: Observation on the immunobiology of nude mice. Immunology 20：247—252, 1971
- 24) Poulsen CO: The laboratory animal in drug testing. Edited by A Spiegel. Gustav, Fisher, Verlag, Stuttgart, 1972, p63—65
- 25) 漆崎一朗：癌患者の免疫能。癌の臨 24：378—385, 1978
- 26) 折田薫三：癌患者の免疫機能。臨科学 8：477—487, 1972
- 27) Hellström KE, Hellström I: Lymphocyte mediated cytotoxicity and blocking serum activity to tumor antigens. Adv Immunol 18：209—277, 1974
- 28) Currie GA, Bacham C: Serum mediated in-

- hibition of the immunological reactions of the patient to his own tumors: A possible role for circulating antigens. *Cancer* 26 : 427—438, 1972
- 29) Gorczynski RM, Kilburn DK, Knight RA, et al: Non specific and specific immunosuppression in tumor-bearing mice by soluble immune complex. *Nature* 254 : 141—143, 1975
- 30) 漆崎一朗, 石谷邦彦, 長井忠則ほか: 肝癌血清中の非時異的免疫抑制因子にかんする研究. *日消病会誌* 74 : 910—923, 1977
- 31) Cooperband SR, Badger AM, Davis RC, et al: The effect of immunoregulatory alpha globulin upon lymphocytes in vitro. *J Immunol* 109 : 154—163, 1972
- 32) 石谷邦彦, 前口邦雄, 吳 禎吉ほか: 癌患者血清 α_1 -antitrypsin の細胞性免疫抑制作用について. *医のあゆみ* 108 : 82—93, 1979
- 33) Fujimoto S, Greene M, Selton AH: Immunosuppressor T cells in tumor-bearing hosts. *Immunol Commun* 4 : 201—207, 1975
- 34) Thomas DW, Roberts WK, Talmage DW: Regulation of the immune response: Production of a soluble suppressor by the immune spleen cells in vitro. *J Immunol* 114 : 1616—1622, 1975
- 35) Tada T, Taguchi M, David CS: Properties of the antigen specific suppressive T cell factor in the regulation of antibody response of the mouse. *J Exp Med* 144 : 713—717, 1976
- 36) Law DK, Dudrick SJ: The effect of dietary protein depletion on immunocompetence: The importance of nutritional repletion prior to immunologic induction. *Ann Surg* 179 : 173, 1974
- 37) 折田薫三, 三輪怒昭, 河合知則: リンパ球芽球化現象から. *癌の臨* 24 : 941—947, 1978
- 38) 亀井秀雄: 癌治療と免疫学的パラメーター. *癌の臨* 24 : 948—955, 1978
- 39) 山内晶司, 寺部啓介, 殿村邦彦ほか: 悪性腫瘍摘出あるいは放射線治療後短期間で再発転移のみられた症例について. *外科* 42 : 473—476, 1980
- 40) 亀井秀雄, 桃井知良, 殿村邦彦ほか: OK-432の術前投与開始に関する臨床例における検討. *癌と治療* 5 : 407—412, 1978
- 41) 寺部啓介, 亀井秀雄, 赤塚 聡ほか: 免疫賦活剤レンチナンの臨床効果に関する検討. *臨と研* 57 : 285—290, 1980