

# 肺癌の治療に関する研究

## 第 1 編

### 実験肺癌化学療法における各種免疫賦活剤併用に関する検討

岡山大学医学部第2内科学教室（主任：木村郁郎教授）

三 戸 敏 正

（昭和55年3月28日受稿）

**Key words** : 肺癌,  
免疫化学療法

#### 緒 言

近年悪性腫瘍に対する治療法の中で、数多くの非特異的免疫賦活剤が手術療法、放射線療法あるいは化学療法の補助療法として広範に用いられ、その有用性が報告されつつある<sup>1-4)</sup>。その中でも化学療法と免疫賦活剤との併用が免疫化学療法という形で最も広く用いられているが、この場合強い免疫抑制作用を併せ持つ化学療法と免疫賦活剤をどのような timing で用いれば最も効果的であるかという問題が提起されよう。この点に関してすでに若干の検討が行われて来ているが<sup>5-9)</sup>、必ずしも一定の見解が得られてはいない。今回著者はより臨床に近似した条件を設定して、化学療法との併用において最も効果的な治療効果を得るための各種免疫賦活剤の投与時期を検討しようと試みた。すなわち、実験腫瘍として宿主と syngeneic な Lewis 肺癌に対し最も効果的と思われる Cyclophosphamide と Nitrosourea 併用による化学療法を行い、化学療法との関連において、それぞれ作用機作の異なる溶連菌剤 OK-432、担子菌多糖類 PS-K、細胞膜表面の酵素阻害物質である Bestatin、および化学薬品 Levamisole の4種類の免疫賦活剤をいかなる時期に与えれば最大の治療効果が得られるかを検討した。同時に細胞性免疫の指標のひとつとして塩化ピクリルによる遅延型皮膚

反応に及ぼす薬剤の影響についても併せ検討を加えた。

#### 実験材料と方法

##### 1. 実験動物

静岡県実験動物株式会社より購入した6～8週令の BDF<sub>1</sub> 雄性マウスを使用した。

##### 2. 実験腫瘍および腫瘍細胞浮遊液の調製

教室において、C57BL マウス後肢筋肉内に継代移植している Lewis 肺癌を用いた。原則として移植2週後の腫瘍を無菌的に摘出し、細切した後 kanamycin 100 $\mu$ g/ml 加 PBS (pH 7.4) を加え、#400の金属性メッシュを通して細胞浮遊液を得た。trypan blue 染色にて生細胞を算出し、目的の細胞密度に調製した。

##### 3. 抗癌剤および免疫賦活剤の投与

化学療法としては Lewis 肺癌に治癒をもたらす Cyclophosphamide と ACNU(塩酸ニムスチン)の併用療法をあてた。Cyclophosphamide および ACNU は生理食塩水にて0.4mlに調整し、いずれの実験においても腫瘍が移植部位で明らかな増殖をとげる腫瘍移植後第7日に腹腔内に投与した。

免疫賦活剤としては、1日量として OK-432 は 50KE/kg、PS-K は 200mg/kg、Bestatin は 5mg/kg、Levamisole は 2mg/kg を生理食塩水にて0.25mlに調製し、成績の項に示す種々のスケジュールに従って腹腔内に投与した。

## 4. 生存期間および治癒率の検討

実験マウスを毎日定刻に観察し移植が成立したことを確認するとともに、死亡マウスについては腫瘍死か否かを明らかにして life table を作製した。腫瘍死は治療を行った場合でもすべて70日以内に起っているため、75日後に生存したマウスを治癒と判定し、治癒率を算出した。

## 5. 塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応の測定

夏梅、右田ら<sup>10)</sup>の方法に従った。すなわちマウス腹部を25×15mmの長方形に剃毛し、同部に塩化ピクリル(半井化学薬品)7%エタノール溶液で感作を行い、7日後にあらかじめマウスの両耳朶の厚さを dial thickness gauge (citizen 社製 KG-1) で測定した後、耳朶の両面に塩化ピクリル1%オリーブ油溶液で再感作を行った。24時間後に肥厚した耳朶の厚さを測定し、この測定値から再感作前の測定値をさし引いた値を皮膚反応値とした。具体的な実験スケジュー

ールについては成績の項で詳述する。

## 実 験 成 績

## 1. Lewis 肺癌に対する Cyclophosphamide, ACNU 投与量の検討

まず Lewis 肺癌に対する至適の化学療法の条件を設定するために以下の実験を行った。Lewis 肺癌に対して Cyclophosphamide, ACNU はそれぞれ単独投与に比べ、両者を併用投与することにより併用効果のあることがすでに村上ら<sup>11)</sup>により明らかにされている。そこで併用療法における両薬剤の至適の投与量を検討した。Lewis 肺癌細胞の $10^6$ 個を右後肢大腿筋肉内投与し、7日後に Cyclophosphamide, ACNU を投与量を変えて腹腔内投与を行い、その併用効果を検討した。代表的な実験結果を図-1に示す。Cyclophosphamide 250mg/kg, ACNU 20mg/kg併用群では治癒率は60%前後と高率であったが、化学

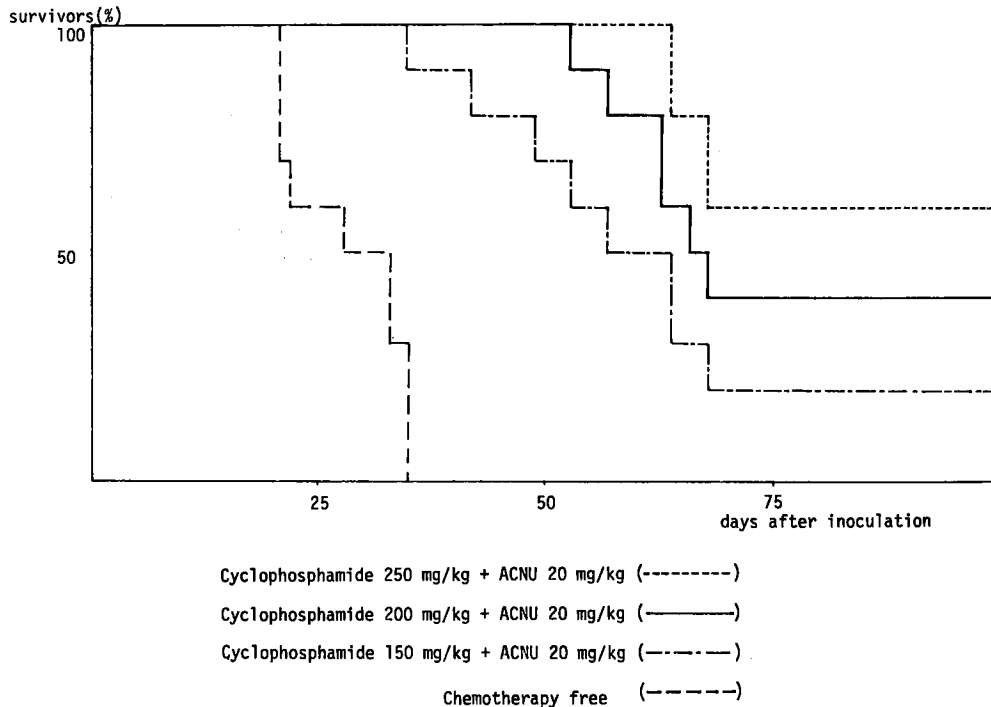


図1. Lewis 肺癌に対する Cyclophosphamide, ACNU 併用化学療法における薬剤投与量と生存期間の関係。

腫瘍細胞 $10^6$ 個移植7日目に Cyclophosphamide, ACNU の併用投与を行い、その生存期間を比較した。

療法の毒性による死亡が若干のマウスに見られた。また Cyclophosphamide 150mg/kg, ACNU 20mg/kg 併用群では化学療法死はなかったが治癒率は20%と低く、Cyclophosphamide 200mg/kg, ACNU 20mg/kg 併用群が治癒率40~50%と最も安定した治癒率を示したので以下の免疫賦活剤との併用においてはこの量を投与することにした。

2. 各種免疫賦活剤の化学療法との関連における至適投与時期の検討

1) 各種免疫賦活剤 3日間連続投与に関する検討

図-2 に示すごとく  $10^6$ 個の Lewis 肺癌細胞を右後肢大腿筋肉内に移植後、7日目に化学療法 (Cyclophosphamide 200mg/kg, ACNU 20mg/kg 併用療法) を実施した。この化学療法の前

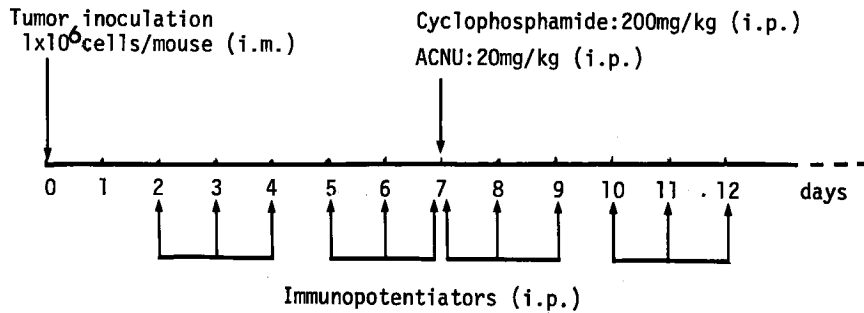


図2 各種免疫賦活剤の至適投与時期検討のためのスケジュール  
 化学療法としては腫瘍移植後7日目に Cyclophosphamide 200mg/kg, ACNU 20mg/kgを腹腔内に1回投与した (day 7)。免疫賦活剤としては OK-432 50KE/kg, PS-K 200mg/kg, Bestatin 5mg/kg, Levamisole 2mg/kgをそれぞれ化学療法の前後にわたって設定した4つの時期に3日間投与し、その効果を比較検討した。

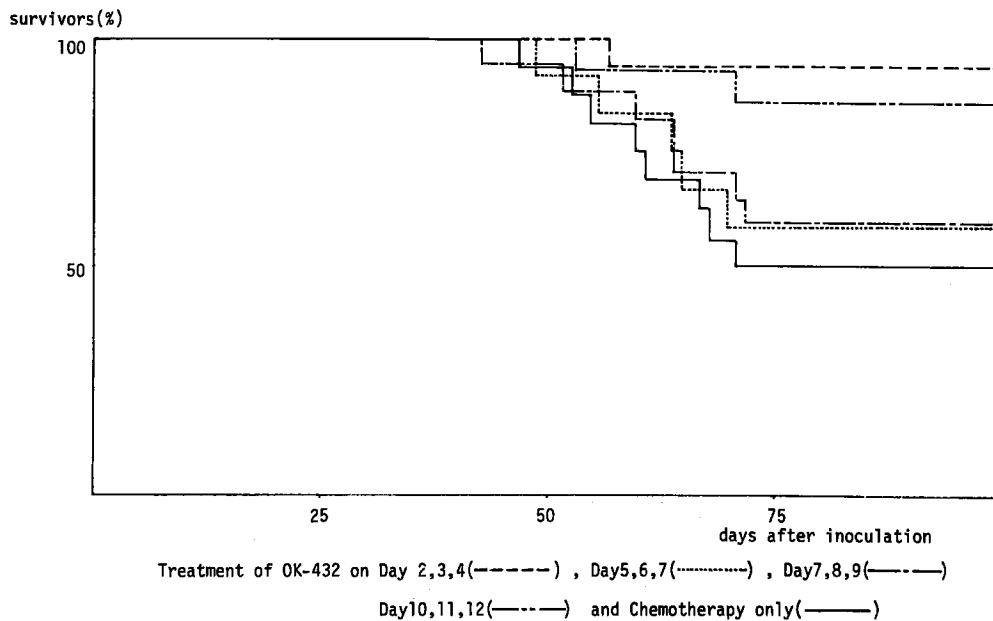


図3 化学療法との併用における OK-432 の投与時期と生存期間との関係

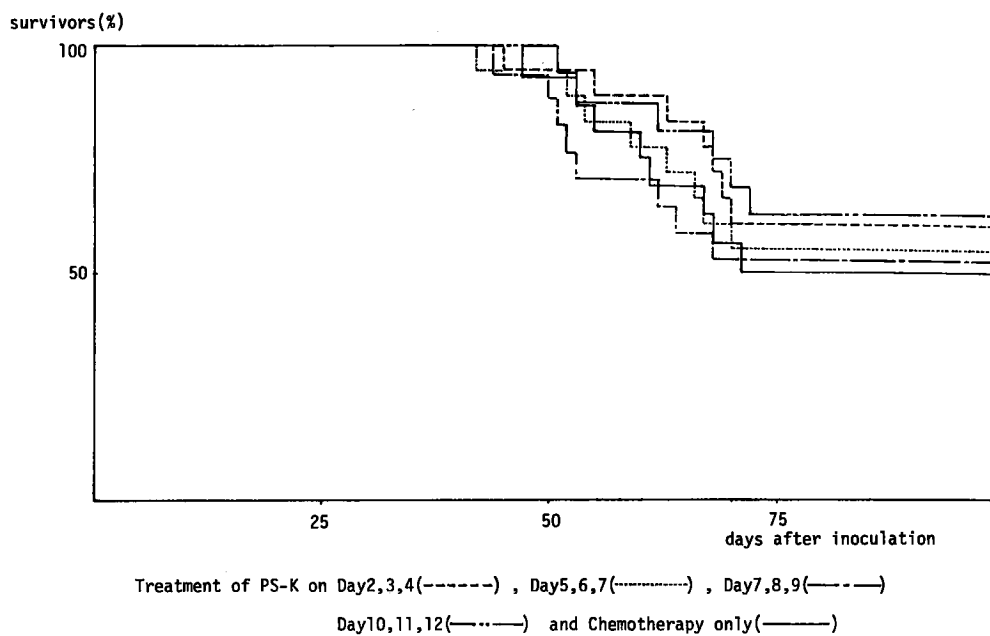


図4 化学療法との併用における PS-K の投与時期と生存期間との関係

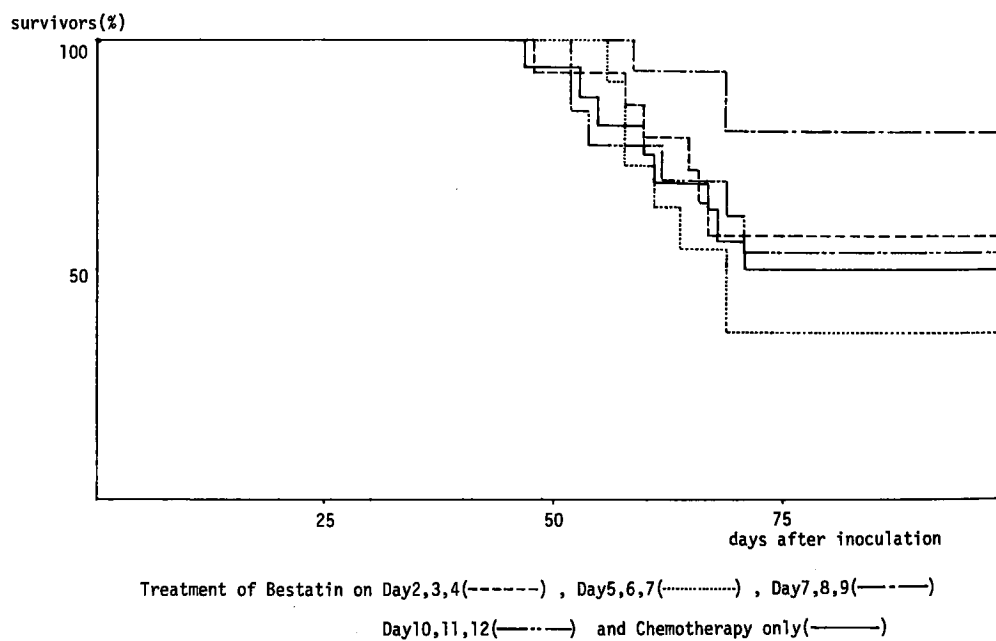


図5 化学療法との併用における Bestatin の投与時期と生存期間との関係

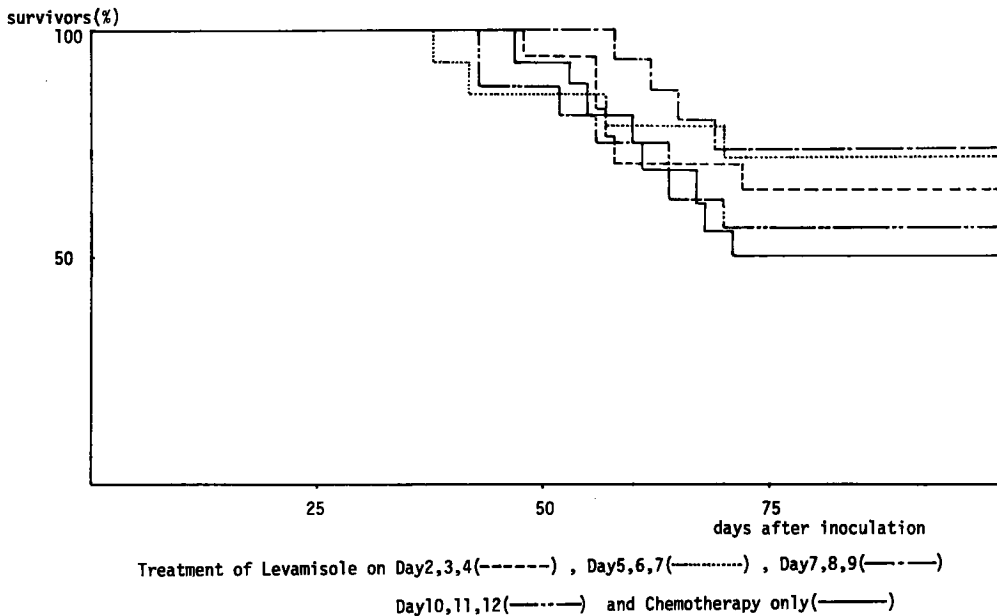


図6 化学療法との併用における Levamisole の投与時期と生存期間との関係

後を day 2,3,4, day 5,6,7, day 7,8,9, day 10, 11,12 の4つの時期に分けて、各種免疫賦活剤をそれぞれの時期に3日連続で腹腔内に併用投与を行った。まず OK-432 についてみると(図-3), 担癌早期の day 2,3,4 投与群で93.8%, また day 10,11,12 投与群でも85.7%と高率に治癒が認められ、day 2,3,4 投与群の治癒率(93.8%)はカイ2乗検定の結果、対照群に比 $\leq 0.01$ 以下の危険率で有意差が示された。しかし、PS-K ではいずれの投与時期においても若干の治癒率の上昇はみられたものの、対照群(化学療法単独治療群)に比べ有意の差は認められなかった(図-4)。Bestatin 投与では図-5に示されるように、化学療法直後の day 7,8,9 投与群では73.3%と対照群に比べて高率に治癒が認められたが、化学療法前の day 5,6,7 投与群では36.4%と逆に治癒率の低下傾向を認めた。Levamisole 投与についてみると(図-6), 化学療法の直前あるいは直後に併用した群、すなわち day 5,6,7 投与群、day 7,8,9 投与群の治癒率はそれぞれ71.4%, 73.3%と対照群に比べて好成績が得られた。以上の結果を表-1に総括する。

## 2) OK-432 1回投与の場合における投与時期の検討

次に前項の実験で最も好成績の得られた OK-432 について図-7に示すスケジュールで day 3, day 6, day 8, day 11 のいずれかにそれぞれ1回だけ OK-432 を 50KE/kg, あるいはその倍量の 100KE/kg 投与し、同様の検討を試みた。その結果は表-2に示される。50KE/kg を day 3 あるいは day 11 に投与した場合には、3回投与の場合と同様に若干の治癒率の向上をもたらしたが、その効果は3回投与にくらべてやや乏しく、100KE/kg では一定の傾向が得られなかった。

### 3. 塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応に及ぼす各種免疫賦活剤の影響

この項では各種免疫賦活剤を種々のスケジュールで Lewis 肺癌移植マウスに投与し、それらの細胞性免疫能に及ぼす影響を塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応を指標として検討を加えた。

#### 1) 感作後に免疫賦活剤を投与した場合の遅延型皮膚反応の成績について

図-8に示すスケジュールに従って実験を行った。すなわち Lewis 肺癌 $10^6$ 個を右後肢大腿

表1 Cyclophosphamide, ACNUによる化学療法との併用における各種免疫賦活剤の投与時期と治癒率との関係

Treatment of immunopotentiators on Day	Immunopotentiators			
	OK-432	PS-K	Bestatin	Levamisole
2, 3, 4	15/16*(93.8)**	11/18 (61.1)	8/14 (57.1)	11/17 (64.7)
5, 6, 7	7/12 (58.3)	10/18 (55.6)	3/11 (36.4)	10/14 (71.4)
7, 8, 9	10/17 (58.8)	9/17 (53.0)	11/15 (73.3)	11/15 (73.3)
10, 11, 12	12/14 (85.7)	10/16 (62.5)	7/13 (53.8)	9/16 (56.2)
None	8/16 (50.0)			

\* No. of cured mice / No. of inoculated mice

\* No. of parentheses indicate percentage of cured mice

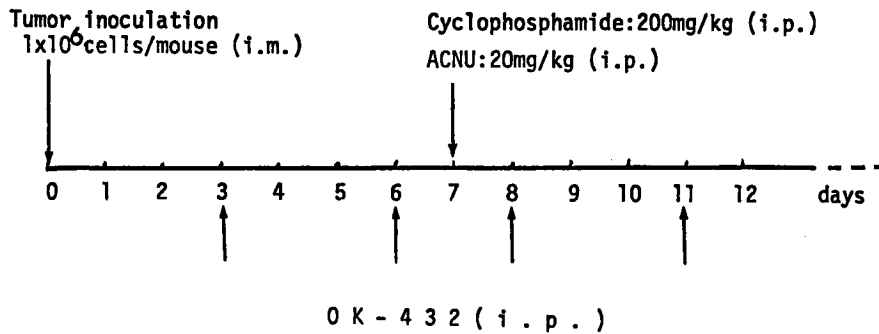


図7 OK-432 1回投与における至適投与時期検討のためのスケジュール

化学療法として腫瘍移植後7日目に Cyclophosphamide 200mg/kg, ACNU 20mg/kgを腹腔内に1回投与し, OK-432 50KE/kgおよび100KE/kgをそれぞれ化学療法の前後にわたって設定した4つの時期に1回だけ投与し, その効果を比較検討した。

表2 Cyclophosphamide, ACNUによる化学療法との併用におけるOK-432 1回投与時の投与時期と治癒率との関係。

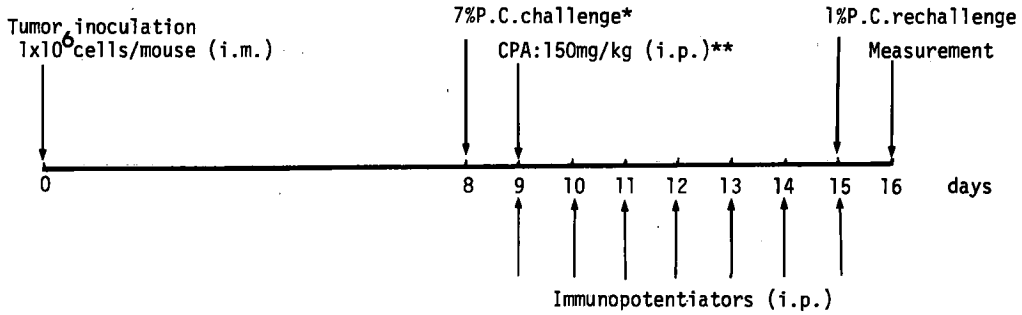
OK-432 on Day	Dose	
	50 KE / kg	100 KE/ kg
3	7/10*(70.0)**	5/9 (55.6)
6	5/8 (62.5)	5/8 (62.5)
8	6/9 (66.7)	7/10 (70.0)
11	7/10 (70.0)	4/9 (44.4)
None	5/9 (55.6)	

\* No. of cured mice / No. of inoculated mice

\*\* No. of parentheses indicate percentage of cured mice

筋肉内に移植 (day 0) 後8日目 (day 8) に塩化ピクリルで感作を行い, day 9より day 15の7日間免疫賦活剤を腹腔内に投与, day 15に再

感作し, 24時間後に皮膚反応を測定した。Cyclophosphamideによる化学療法は day 9に行った。遅延型皮膚反応としての ear thicknessの増加は, 正常マウスにおいて実測値で $11.4 \pm 1.1 (10^{-3}\text{cm})$ であったが, これを100%として各実験群の値は正常マウス反応値に対する比率で表わした。その結果は図-9に示されるが, 担癌無治療群では22.8%と皮膚反応は著明に低下した。Cyclophosphamideが感作の翌日に投与された場合はさらに強い抑制が示されたが, 生存期間は無治療群に比較して明らかに延長した。免疫賦活剤単独投与の場合には, 特に Bestatin 投与群, OK-432 投与群においてそれぞれ75.4%, 62.3%と比較的正常値に近い値が示された。この場合には特に Bestatin 投与群においては, 皮膚反応に対応して生存期間の延長も認められた。Cyclophosphamideと免疫賦活剤を



\* P.C. : Picryl Chloride  
\*\* CPA : Cyclophosphamide

図8 塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応検討のための実験スケジュール(1)  
免疫賦活剤として OK-432 50KE/kg, PS-K 200mg/kg, Bestatin 5mg/kg, Levamisole 2mg/kg  
をそれぞれ感作の翌日から7日間腹腔内に投与した。Cyclophosphamide は感作の翌日(day  
9)に 150mg/kg が1回投与された。

Group	No. of mice	Increase in ear thickness (%)		%ILS**	
		50	100		
Normal mice	6		• • •		
Tumor bearing mice	No treatment	• • •	• • •	0	
	Cyclophosphamide*	• • •	•	62.5	
	OK-432		• • •   • • •	15.4	
	PS-K	• • •	• •	5.5	
	Bestatin		•   • • •	36.3	
	Levamisole	• • •	• •	7.0	
	Cyclophosphamide + OK-432	5		• •   • • •	105.1 (2 mice cured)
	Cyclophosphamide + PS-K	6		• • •   • •	64.1
	Cyclophosphamide + Bestatin	5	• •	• • •	72.2
	Cyclophosphamide + Levamisole	6	• • •	•	65.6

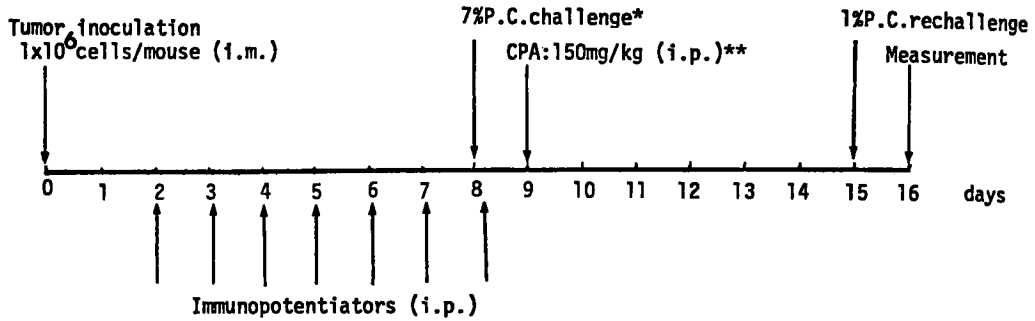
\* Cyclophosphamide : 150mg/kg (i.p.)  
\*\* ILS : Increase of life-span

図9 塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応に及ぼす各種免疫賦活剤の影響(1)

併用した場合には、担癌さらに Cyclophosphamide 投与により低下した皮膚反応値が、特に PS-K 併用群で91.2%, Bestatin 併用群で75.4%, OK-432 併用群で72.8%とほぼ正常値に近い所に保持されていた。これらの Cyclophosphamide と免疫賦活剤併用群の生存期間は、

Cyclophosphamide 単独投与の場合の生存期間にくらべて必ずしも延長しなかったが、OK-432 併用群においては Cyclophosphamide 単独投与群に比して明らかな延命効果が示された。

2) 感作前に免疫賦活剤を投与した場合の遅延型皮膚反応の成績について



\* P.C. : Picryl Chloride  
\*\* CPA : Cyclophosphamide

図10 塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応検討のための実験スケジュール(2)  
免疫賦活剤として OK-432 50KE/kg, PS-K 200mg/kg, Bestatin 5mg/kg, Levamisole 2mg/kg をそれぞれ腫瘍移植後 2 日目より 7 日間腹腔内に投与した。Cyclophosphamide は感作の翌日 (day 9) に 150mg/kg が 1 回投与された。

Group	No. of mice	Increase in ear thickness (%)			%ILS**
		50	100	150	
Normal mice	7		••	•	
Tumor bearing mice	No treatment	••••	••		0
	Cyclophosphamide*	••	••		26.9
	OK-432	•	•	•••	6.9
	PS-K	•	•	•••	-2.6
	Bestatin	••	•	••	-6.4
	Levamisole	••	•	••	-4.5
	Cyclophosphamide + OK-432			••••	36.8
	Cyclophosphamide + PS-K		••	•••	46.7
	Cyclophosphamide + Bestatin		•	••	23.0
	Cyclophosphamide + Levamisole		•	••	47.9

\* Cyclophosphamide : 150mg/kg (i.p.)  
\*\* ILS : Increase of life-span

図11 塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応に及ぼす各種免疫賦活剤の影響(2)

次に同様の実験系で、各種免疫賦活剤を担癌早期より感作前までの day 2~day 8 の時期に併用した成績について述べる (図-10, 11)。担癌無治療群および Cyclophosphamide 単独投与群においては、やはり著明な皮膚反応値の低下が認められた。免疫賦活剤単独投与の場合には、OK-432 投与群において 73.2% と比較的正常値に

近い値を示したが、生存期間の延長はどの群においても認められなかった。Cyclophosphamide と免疫賦活剤を併用した場合は、PS-K 併用群で 91.3%、Levamisole 併用群で 74.8% と正常値に近い値を示したが、特に OK-432 併用群においては 122.7% と正常値を超える反応値を示した。これらの Cyclophosphamide と免疫賦活剤併用群



の Cyclophosphamide 単独投与群と比べた場合の生存期間の延長は、Levamisole 併用群、PS-K 併用群において認められた。

### 考 按

Lewis 肺癌は C57BL/6 マウスの肺に自然発生した未分化癌であり<sup>12)</sup>、BDF<sub>1</sub> マウスに移植後 Gompertz 様式に従って増殖し、早期に肺転移を来たして死亡する。この腫瘍に対し Cyclophosphamide および Nitrosourea 系の薬剤は非常に高い感受性を有し、かつ併用効果のあることが Mayo<sup>13),14)</sup>、Goldin<sup>15)</sup> らによって報告されている。今回の実験で著者は、establish された腫瘍に対して Cyclophosphamide と我国で開発された水溶性 Nitrosourea 系抗癌剤である ACNU の併用投与を行い、50%前後のマウスに治癒を得ることができた。著者はこれを対象として各種免疫賦活剤を併用することにより、その治療効果、特に治癒率が向上するか否かについて、投与時期、投与期間等について検討を加えた。すなわちこの実験は臨床においてその一部が化学療法により治癒可能な、化学療法感受性の高い腫瘍、たとえば急性白血病、悪性リンパ腫また特に肺小細胞癌などの治療における免疫賦活剤の意義を検討するための実験モデルを意図している。

担癌生体が腫瘍の増殖に伴って著明に細胞性免疫能低下をきたすことに関してはすでに多くの報告があり<sup>16-18)</sup>、本実験においてもこのことは示された。さらに問題となるのは化学療法による免疫抑制であり、Kolb<sup>19)</sup>、Poupon<sup>20)</sup>らは Cyclophosphamide をマウスに1度に sublethal dose の投与を行えば、脾は数日以内に atrophy となり、T、B 細胞数はともに著明に減少し、T 細胞は脾が hypertrophy となる9日目ごろでもほとんど検出されず、16日目ごろにほぼ正常にもどると報告している。また PHA (phytohemagglutinin) に対する反応性もほぼこれに準じ、suppressor cell も Cyclophosphamide 投与により誘導されたとしている。Stockman<sup>21)</sup>、Winkelstein<sup>22)</sup>、久野<sup>23)</sup>らもほぼ同様の報告を行っている。つまり Cyclophosphamide による化学療法が行われた担癌マウスはこれら2重の免

疫抑制を受けており、化学療法に免疫賦活剤を併用する際に、宿主のこのような複雑な免疫状態を経時的にとらえ、またそれぞれの免疫賦活剤の作用機序、特徴などもよく考慮に入れて投与を行えば、よりよい治療効果が得られるのではないかと考えた。

溶連菌の菌体制剤である OK-432 はマクロフェージ、リンパ球の活性化作用などを有することが知られており<sup>24,25)</sup>、各種の抗癌剤との併用<sup>1,26,27)</sup>も研究されている。今回の検討では、OK-432 は化学療法前の腫瘍移植早期に併用を行った群で著しい治療効果ならびに細胞性免疫の賦活を認めており、また化学療法後であれば、抗癌剤投与数日後に併用を行った群で良好な延命効果を認めた。OK-432 1回投与群では明らかな延命効果を示さなかったことから、治療効果を得るためにはある程度の連続投与が必要と思われる。OK-432 と化学療法との併用時期に関して越村ら<sup>26)</sup>は、L-1210 白血病細胞移植 BDF<sub>1</sub> マウスに 5-FU と OK-432 を併用投与する場合、腫瘍細胞移植後1~2日以内に OK-432 の投与を開始した場合にのみ著明な延命効果を認めている。また涌井ら<sup>5)</sup>は、Sarcoma-180 に対して OK-432 を抗癌剤と併用投与し、5-FU、Adriamycin、Cyclophosphamide のいずれとの併用においても抗癌剤投与前に投与した時最も良好な延命効果を示したと報告している。さらに斉藤ら<sup>6)</sup>は、Meth-A 腹水腫瘍に対して腫瘍移植後3日目に Adriamycin、5日目に OK-432 投与を行うと著しい併用効果を示し、OK-432 を先に投与し、続いて Adriamycin を投与した場合の併用効果がこれに続いて好成績であったと報告している。腫瘍あるいは抗癌剤の種類により多少の差は見られるが、これらの成績は今回の著者の結果とほぼ同様の傾向を示していると思われる。つまり OK-432 は、腫瘍移植早期または抗癌剤投与数日後のあたりが至適投与時期ではないかと考えられる。

かわらたけ抽出蛋白多糖体である PS-K は、担癌宿主の低下した T 細胞やマクロフェージの機能を正常レベルまで回復させるという特徴を有する<sup>2,3)</sup>。今回の検討では PS-K 投与群では、投与時期による治療効果の差異は認められな

ったが、塩化ピクリルによる遅延型皮膚反応において、Cyclophosphamide との併用投与群において Cyclophosphamide 投与前および投与後併用のいずれの群においても著明な細胞性免疫賦活作用を示した。化学療法との併用における投与時期については、秋山ら<sup>7)</sup>は KMT-17 腫瘍に対して腫瘍移植後 1 日目に PS-K を投与し、3 日目に Cyclophosphamide を投与した場合に最大の抗腫瘍効果が得られたとしている。大橋ら<sup>8)</sup>は、P-388 白血病細胞移植後 1 日目に Mitomycin-C を投与し、5 日目に PS-K を併用した場合に最も延命効果が見られたと報告している。しかし、涌井ら<sup>5)</sup>は今回の著者の成績と同様に、いずれの投与時期においても明らかな併用効果が得られなかったとしている。このように PS-K の化学療法との併用時期に関する報告はさまざままで、さらに詳細な検討が必要と思われる。

Bestatin は細胞膜表面の酵素阻害物質であり、細胞性免疫賦活作用を有し、抗癌剤との併用効果も認められている<sup>28)</sup>。今回 Bestatin 投与群で化学療法後に併用を行った群では、延命効果においても細胞性免疫賦活作用においても良好な結果を得たが、化学療法直前に併用した群では、逆に対照群よりも低い延命効果しか得られなかった。このことは Bestatin において特に化学療法との併用時期が重要であり、至適投与時期をはずすとかえって増悪傾向を促すことにもなるということを示している。Bestatin に関してはその作用機序などまだ不明な点も多く、さらに今後の検討が必要であろう。

Levamisole は、低下した細胞性免疫能を正常レベルまで回復させる作用を有すると考えられており、折田ら<sup>4)</sup>は、MH-134 腹水癌に対して、Levamisole 投与を行い、移植直後や早期よりの投与および進行癌となった時期での投与は無効であり、腫瘍が小指頭大となる移植 10 日目より投与を行えば最大の抗腫瘍効果が見られたとしている。つまり、腫瘍がある程度生着増殖した時期に Levamisole は効果を発揮すると述べている。今回の検討では、Levamisole は化学療法の直前および直後に併用を行った群において良好な延命効果を示した。涌井ら<sup>5)</sup>は化学療法との併用時期に関して、Sarcoma-180 において

5-FU, Adriamycin, Cyclophosphamide のいずれとの併用でも、化学療法後に Levamisole を投与した場合に最も良い結果を得ており、Lewis 肺癌においても Adriamycin による化学療法後に Levamisole を投与し、良好な延命効果を見ている。また、Gordon ら<sup>29)</sup>も methylcholanthrene 誘発 fibrosarcoma において同様の成績を示しており、今回の著者の成績も考え合わせると、化学療法とほぼ同時またはそれ以後が Levamisole の至適投与時期ではないかと考えられる。

以上各種免疫賦活剤の至適投与時期について考察を加えたが、このタイミングは細川ら<sup>9)</sup>も述べているごとく抗癌剤、免疫賦活剤の種類および投与方法、また腫瘍の種類によりそれぞれ異なるので、今後さらにより臨床に接した条件を設定して詳細な検討を加えたい。

## 結 語

BDF<sub>1</sub> マウスにおいて Lewis 肺癌を用い、Cyclophosphamide, ACNU による化学療法に各種免疫賦活剤を時期を変えて併用し、その治療効果ならびに免疫状態について検討し、次のような結果を得た。

1. 化学療法に免疫賦活剤を併用する場合、その投与時期、投与期間により延命効果ならびに免疫賦活活性に著しい差異を生じ、その至適投与時期はそれぞれの免疫賦活剤により異った。

2. OK-432 は化学療法前の腫瘍移植直後、あるいは化学療法数日後が至適投与時期と考えられ、この時期に投与を行った群で著しい延命効果と細胞性免疫賦活が見られた。

3. OK-432 を化学療法と併用投与する場合、延命効果を得るためにはある程度の投与期間が必要であった。

4. PS-K は投与時期による延命効果の差異は認められなかったが、化学療法との併用群において著しい免疫賦活作用を示した。

5. Bestatin は化学療法直後が至適投与時期と考えられ、この時期の投与群で良好な延命効果および免疫賦活作用を示したが、逆に化学療法直前の投与では、対照群よりも低い延命効果しか得られなかった。

6. Levamisole は化学療法直前および直後が至適投与時期と考えられ、この時期に投与を行った群で良好な延命効果が認められた。

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜った恩師木村郁郎教授、並びに大塚泰亮講師に深謝致します。

本論文の要旨は、第27回日本化学療法学会西日本支部総会（昭和54年、大阪）において報告した。

## 謝 辞

## 参 考 文 献

1. 木村郁郎：溶連菌剤 OK-432 と癌の免疫化学法の可能性。癌と化療，2，21—33，1975。
2. 野本亀久雄，松尾憲一：いわゆる immunopotentiator の位置づけと意義。癌と化療，5，1135—1141，1978。
3. 中野陽典，田口鉄男：抗腫瘍蛋白多糖体 PS-K を使用した癌の免疫化学療法。癌と化療，2，13—20，1975。
4. 折田薫三，三輪恕昭，河合知則，他：Levamisole による免疫療法。癌の臨床，24，469—476，1978。
5. 涌井 昭，高橋健一，佐藤幸弘，佐藤和朗，斉藤達雄：癌化学免疫療法における Immunomodulator 投与時期の検討。癌と化療，6，219—230，1979。
6. 斉藤元男，菅原 豊，小川春樹，太田和雄：Meth-A 腹水腫瘍に対する Adriamycin と溶連菌製剤 OK-432 の腹腔内投与による併用効果。日本癌学会38回総会記事，739，1979。
7. Akiyama, J., Kawamura, T., Gotohda, E., Yamada, Y., Hosokawa, M., Kodama, T. and Kobayashi, H.: Immunotherapy of transplanted KMT-17 tumor in WKA rats by combination of cyclophosphamide and immunostimulatory protein-bound polysaccharide isolated from Basidiomycetes *Cancer Res.* 37, 3042—3045, 1977.
8. Oh-hashi, F., Kataoka, T. and Tsukagoshi, S.: Effect of combined use of anticancer drugs with a polysaccharide preparation, Krestin, on mouse leukemia P388. *Gann* 69, 255—257, 1978.
9. 細川真澄男，水島 豊，小林 博：癌の免疫および化学療法における合併時期の問題点。癌と化療，5，1111—1117，1978。
10. 夏梅俊之助，右田俊介：塩化ピクリルによるマウスの遅延型皮膚反応。免疫実験操作法，日本免疫学会編，525—531，1972。
11. 村上直樹，田中通久，三戸敏正，中田安成，大塚泰亮，木村郁郎：新薬剤 ifosfamide, aclacinomycin-A, GANU および ACNU の Lewis lung carcinoma に対する効果。日本癌学会第38回総会記事，192，1979。
12. Sugiura, K. and Stock, C.C.: Studies in a tumor spectrum III, The effect of phosphamides on the growth of a variety of mouse and rat tumors. *Cancer Res.* 15, 38—51, 1955.
13. Mayo, J.G.: Biologic characterization of the subcutaneously implanted Lewis lung tumor. *Cancer Chemother. Rep. Part 2*, 3, 325—330, 1972.
14. Mayo, J.G., Laster, W.R.JR. and Andrews, C.M.: Success and failure in the treatment of solid tumors, III, "Cure" of metastatic Lewis lung carcinoma with methyl-CCNU (NSC-95441) and surgerychemotherapy. *Cancer Chemother. Rep.* 56, 183—195, 1972.
15. Artemio, A.O., Randall, K.J. and Abraham, G.: Growth characteristics and chemotherapeutic response of intravenously implanted Lewis lung carcinoma. *Cancer Chemother. Res. Part 2*, 5, 111—125, 1975.
16. 漆崎一郎：癌と免疫抑制。臨床免疫，11，491—501，1979。
17. Kitagawa, M.: Disturbance of immune surveillance in tumor-bearing host. *Dann Monog. Cancer Res.* 16, 45—52, 1974.
18. Hakim, A.A.: Tumor-mediated immunosuppression is a challenge in cancer treatment. *Cancer Immunol. Immunother.* 7, 1—6, 1979.

19. Kolb, J-P B., Poupon, M-F M. and Lespinats, G.M.: Splenic modifications induced by cyclophosphamide in C3H/He, nude and "B" mice. *J. Immunol.* **118**, 1595—1599, 1977.
20. Poupon, M.F., Kolb, J.P. and Lespinats, G.: Induction of suppressor cells in mice by cyclophosphamide. *Ann. Immunol.* **129C**, 475—487, 1978.
21. Stockman, G.D., Heim, L.R., South, M.A. and Trentin, J.J.: Differential effects of cyclophosphamide on the B and T cell compartments of adult mice. *J. Immunol.* **110**, 277—282, 1973.
22. Winkelstein, A.: Mechanisms of immunosuppression: effects of cyclophosphamide on cellular immunity. *Blood* **41**, 273—284, 1973.
23. 久野梧郎, 富永憲治, 曾根三郎, 佐々木春夫, 矢田健太郎, 螺良英郎: 抗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. 癌と化療, **2**, 59—66, 1975.
24. Ishii, Y. et al: Inhibition of tumor growth in vivo and in vitro by macrophages from rats treated with a streptococcal preparation, OK-432. *Gann* **67**, 115—119, 1976.
25. 太田和雄: OK-432 について. 癌と化療, **6**, 675—680, 1979.
26. Koshimura, S. and Ryoyama, K.: Enhancement of antileukemic effect in the combination of 5-Fluorouracil and OK-432. *Cancer Treat. Rep.* **61**, 17—27, 1977.
27. 加藤武俊, 藤川智子, 太田和雄: 癌化学療法と免疫療法の併用についての実験的研究. 癌と化療, **5**, 128—136, 1978.
28. ベスタチン研究会誌 1, 2 号. 微生物化学研究会編,
29. Gordon, D.S., Hall, L.S. and McDougal, J.S.: Levamisole and Cytosan in a murine tumor model *in vivo* and *in vitro* studies, In *Progress in Cancer Research and Therapy* vol 2, *Control of Neoplasia by Modulation of the Immune System*, Raven Press, New York, pp.121—133, 1977.

**Studies on lung cancer therapy**  
**Part I. Experimental studies on the effect of immunopotentiators**  
**in cancer immuno-chemotherapy**

**Toshimasa MITO**

The Second Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. I. Kimura)

Four immunopotentiators (OK-432, PS-K, Bestatin, Levamisole) were used in combination with chemotherapy for treatment of Lewis lung carcinoma in BDF<sub>1</sub> mice. Tumor inoculation was done on Day 0 and chemotherapy with cyclophosphamide 200 mg/kg and ACNU 20 mg/kg followed on Day 7. Each immunopotentiator was administered on Day 2, 3, 4 or on Day 5, 6, 7 or on Day 7, 8, 9 or on Day 10, 11, 12. The effect of immunopotentiators depended on the combination timing of immunopotentiators and the chemotherapy, the combination timing being different for each immunopotentiator. A marked antitumor effect and the highest survival rate were observed when OK-432 was administered on Day 2, 3, 4 or on Day 10, 11, 12. PS-K did not show definite additional antitumor effects in every timing. The administration of Bestatin on Day 7, 8, 9 resulted in a good survival rate, but if it was given on Day 5, 6, 7, the survival rate was lower than that of control group. A good antitumor effect was observed when Levamisole was administered on Day 5, 6, 7 or on Day 7, 8, 9. At the same time, the influence of immunopotentiators on delayed hypersensitivity by picryl chloride was investigated. Also in this study, the time-dependent effect of immunopotentiators was observed. These results were similar to those of the study with the survival rate.