

溶連菌剤の腫瘍免疫学的研究

第 2 編

溶連菌製剤 OK-432の作用機序について

岡山大学医学部 第2内科 (指導: 木村郁郎教授)

研究生 安 原 尚 藏

(昭和51年 8月27日受稿)

目 次

第1章 緒 言
第2章 実験方法
第3章 実験成績
第1節 末梢白血球の変動
第2節 腹腔内細胞の変動
第1項 正常マウスの腹腔内細胞の変動
第2項 担癌マウスの腹腔内細胞の変動
第3節 腹腔内遊出細胞の抗腫瘍効果
第4節 腫瘍特異免疫に与える影響
第5節 癌性胸膜炎患者における OK-432の胸腔内投与の効果
第4章 総括並びに考案
第5章 結 論

第1章 緒 言

悪性腫瘍患者に重篤な感染症が併発した場合に腫瘍の縮小を来す報告は以前よりあり、感染症の中でも溶血性連鎖球菌(溶連菌)感染症の場合が多い様である。^{1)~3)} 癌患者に丹毒が合併した際に癌が自然退縮したと言う事実を端を発した溶連菌の制癌作用の研究は溶連菌製剤(OK-432)^{4) 5)}の開発となり、著者は本薬剤の癌化学療法への応用について研究する機会を持つ様になった。その結果、本剤には多くの制癌剤が有する骨髓抑制作用は全く認められず、他の制癌剤との併用療法の有用性と同時に白血球減少防止作用が存在するという特異な作用が認められた。⁶⁾ 本薬剤の抗腫瘍作用については腫瘍細胞に対する直接作用以外に宿主を介した作用の存在がうかがわれ、実験的に本薬剤の宿主を介する抗腫瘍作用の存在を

明らかにし既に第1編で報告した。本編ではOK-432の宿主を介する抗腫瘍作用が如何なる機序によるものであるかを解明するために本薬剤の投与により惹起される宿主側の反応について特に腹腔内遊出細胞について先ず検討し、次に本剤の腫瘍特異免疫に与える影響、更に若干の臨床例について検討した成績を報告する。

第2章 実験方法

実験動物としては先ず ICR 雄性 6 週令マウスを使用し OK-432 0.5 KE (Klinische Einheit) /匹を 7 日間腹腔内投与し、経時的に末梢白血球数、腹腔内遊出細胞数を算定し同時にマイ・ギムザ染色にて各々の細胞を分類した。次に C₃H 雄性 6 週令マウスに Methylcholanthrene (MC) にて誘発した MC induced sarcoma 10⁷個を腹腔内移植し、移植の前或は後に前述の OK-432 を腹腔内投与し、同様に経時的に腹腔内遊出細胞について検索した。

更に OK-432 を投与したマウスの腹腔内遊出細胞の抗腫瘍効果についても検討した。即ち ICR マウスに OK-432 1 KE/匹を 7 日間腹腔内投与し、投与終了後 1 週目に屠殺し速やかに腹腔内を洗滌して得た腹腔内遊出細胞を別の正常同系マウスの腹腔内に移入し、1 週後 Ehrlich 癌細胞 10⁶ 個を腹腔内移植しその後の生存期間を観察した。

腫瘍特異免疫の成立のための前感作としては X 線照射した MC induced sarcoma 細胞 2 × 10⁷ 個を皮下移植し、その後の OK-432 投与群と非投与群との MC induced sarcoma 再移植率を比較検討した。本実験は再現性を見るため同様の方法で 3 回に亘り施行したが、個々の実験の詳細は成績の項で述べる。

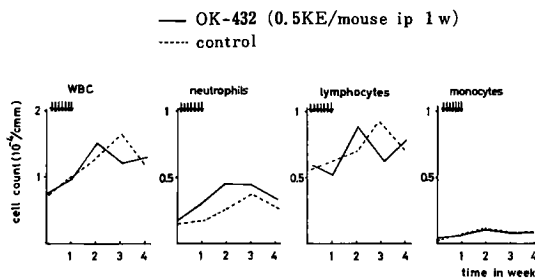
また臨床的に癌化学療法を受けている癌性胸膜炎患者に本剤を胸腔内投与した2症例について胸水細胞の推移を検討した結果についても述べる。

第3章 実験成績

第1節 末梢白血球の変動

まずOK-432を投与することによって宿主は如何なる影響を受けるかについて検討した。即ちOK-432 0.5 KE/匹を10匹のICRマウスに連日7日間腹腔内に投与し経時的に投与前、7日間投与後、投与終了1週後、2週後、3週後に尾静脈より採血し、白血球数の算定並びにマイ・ギムザ染色による分類を行った。対照群としては無処置のICRマウス10匹について同様の検索を行った。結果は図1に示され

図1 OK-432投与による末梢白血球の変動



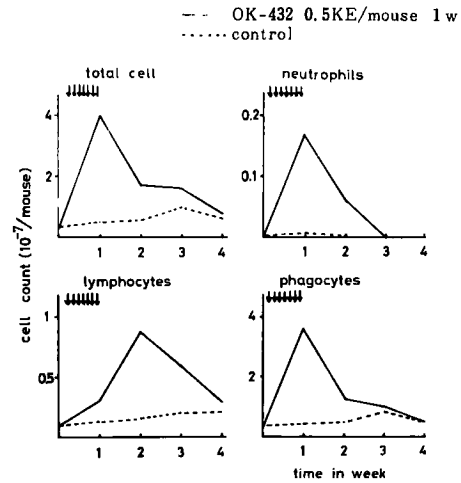
る如くOK-432投与群と対照群との間に末梢白血球数については有意の変化は認められなかったが、白血球分類において好中球の軽度の増加傾向がOK-432投与群に認められた。しかし、リンパ球、単球については差を認めなかった。

第2節 腹腔内細胞の変動

第1項 正常マウスの腹腔内細胞の変動

OK-432の腹腔内投与により宿主が影響を最も受けるのは局所である腹腔内であろうと考え、腹腔内遊出細胞について検討した。即ちICRマウス20匹にOK-432 0.5 KE/匹を連日7日間腹腔内投与し、投与前、7日間投与後、投与終了1週後、2週後、3週後と経時的に1回に4匹のマウスをcervical dislocationにより屠殺し、可及的速やかに腹腔内に5 mlの生食水を注入し腹部をよく振盪後、開腹により腹腔内液を採取し白血球メランジュールにて細胞数を算定し、マイ・ギムザ染色にて細胞を分類した。対照として無処置のマウス20匹について同様に腹腔内細胞を経時的に算定、分類した。結果は図2に示される如くOK-432投与群では対照群に比較して短時間で著明な腹腔内細胞の増加を認め、なかでも

図2 OK-432 ip投与による腹腔内細胞の変動



マクロファージはOK-432の投与と平行して著明に増加することが判明した。好中球も増加するがOK-432の投与中止により速やかに消失し、その数もマクロファージに比較すると非常に少ないものであった。一方、リンパ球はOK-432の投与を中止しても1週間後まではその数が次第に増加していく傾向が認められたが、数的な比較ではマクロファージ程の増加ではなかった。対照群には好中球はほとんど認められず、小数のマクロファージ、リンパ球が認められるのみであった。

第2項 担癌マウスの腹腔内細胞の変動

C₃H雄性6週令マウスの背部にMC1mgを皮下注射し50日目に発生したMC induced sarcomaの7代継代腫瘍を細切し、フィルターにて物理的に遊離細胞とした。Phosphate Buffer Salineにて洗滌後10⁷個を別のC₃Hマウスに腹腔内移植し、移植の前或は後に1週間OK-432 0.5 KE/匹を腹腔内投与して移植前1週間、移植直前、移植1週後、2週後、3週後と経時的に腹腔内細胞の変動を観察した。方法は第1項と同様に行なった。結果は図3aに示される如く腫瘍移植前に1週間OK-432を投与されていた群では腫瘍移植時には腹腔内細胞は著明に増加しており、特にマクロファージの増加は著しく、ついでリンパ球、好中球の順であった。これらの増加したマクロファージと好中球はOK-432の投与中止と共に速やかに減少するのに反し、リンパ球は中止1週間後迄は増加傾向を示したのは前述の結果と同じであった。またマウスを変えた本実験からもOK-432の移植前投与により腫瘍の腹腔内移植時には腹腔内

にマクロファージが著明に遊出増加していることが確認された。無処置で腫瘍移植のみの対照群では好中球はほとんど認められず、少数のマクロファージ、リンパ球が認められるのみであり、腫瘍移植に対する腹腔内細胞の変化はみられなかった。一方、腫瘍

移植後1週間OK-432を投与された群ではOK-432の投与と共にマクロファージ、好中球の増加が認められた。しかし、移植前投与群に比較して好中球はむしろ多かったが、マクロファージの数は少なかった。リンパ球については増加傾向が全く認められず、

図3a MC induced sarcoma ip 移植マウスの腹腔内細胞に及ぼすOK-432の効果

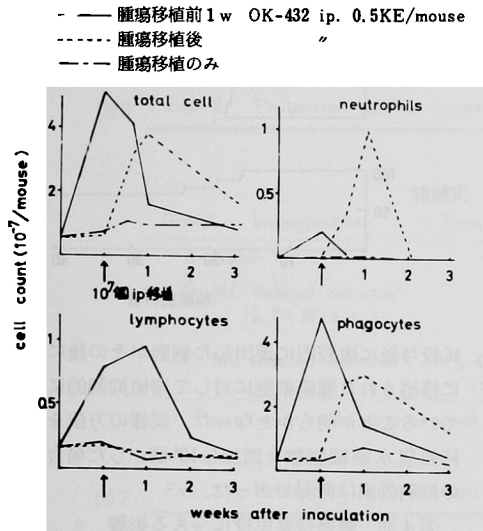


図3b MC induced sarcoma ip. 移植に対するOK-432の効果

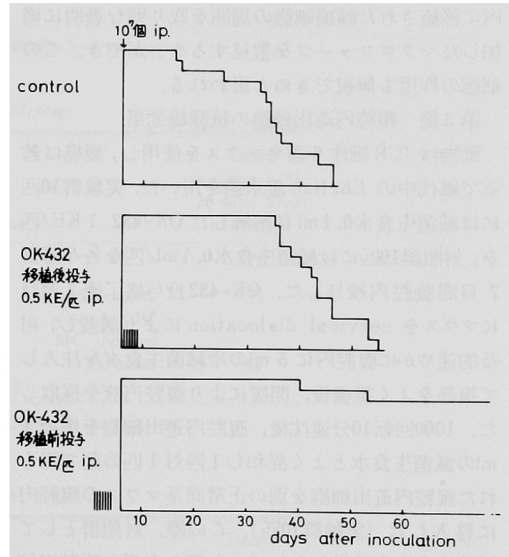
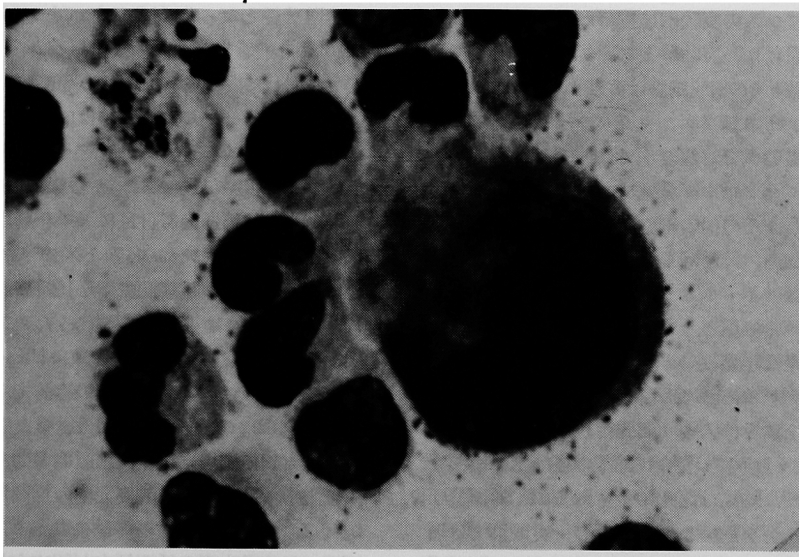


写真1



腹腔内移植されている腫瘍細胞の増殖の影響がこれらの腹腔内遊出細胞へ及んでいることがうかがわれた。

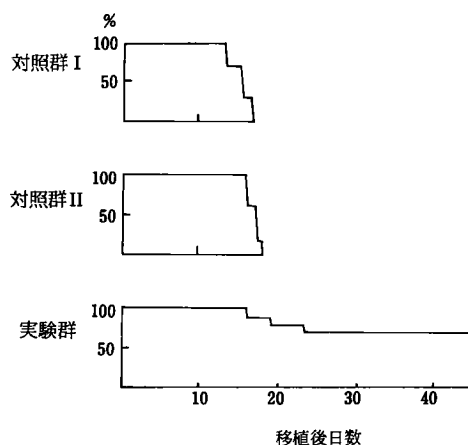
図3aと同じ実験モデルでマウスの生存期間を観察したものを図3bに示したが、第1編でも述べた如くOK-432の腫瘍移植前投与群が圧倒的に延命効果のよいことを示している。このOK-432の移植前投与群につき腫瘍移植3日後に腹腔内細胞を採取し、マイ・ギムザ染色後に鏡検すると写真1の如く腹腔内に移植された腫瘍細胞の周囲を取り囲む著明に増加したマクロファージを散見することができ、この細胞の作用も無視できぬと思われる。

第3節 腹腔内遊出細胞の抗腫瘍効果

動物はICR雄性6週令マウスを使用し、腫瘍は教室で継代中のEhrlich腹水癌を用いた。実験群10匹には滅菌生食水0.1mlに溶解したOK-432 1KE/匹を、対照群10匹には滅菌生食水0.1ml/匹を各々連日7日間腹腔内投与した。OK-432投与終了後1週目にマウスをcervical dislocationにより屠殺し、可及的速やかに腹腔内に5mlの冷滅菌生食水を注入して腹部をよく振盪後、開腹により腹腔内液を採取した。1000回転10分遠沈後、腹腔内遊出細胞を集め1mlの滅菌生食水とよく混和し1匹対1匹の割で得られた腹腔内遊出細胞を別の正常同系マウスの腹腔内に移入した(実験群10匹)。この際、対照群として滅菌生食水を前投与されていた群から得た腹腔内細胞を同様に移入した群(対照群I 10匹)と、OK-432前投与群の腹腔内液を遠沈後得られた上清1mlを別の正常同系マウスの腹腔内に投与した群(対照群II 10匹)とを設けた。実験群と対照群Iの移入腹腔内細胞の細胞数とその構成細胞は実験群では 1.56×10^7 個/匹であり好中球7%、マクロファージ27%、リンパ球様細胞63%で対照群Iでは 0.96×10^7 個/匹で好中球0%、マクロファージ32%、リンパ球様細胞59%であった。その他の細胞としては両群とも極く少数の肥胖細胞、好酸球を含んでいた。リンパ球様細胞の中にはマイ・ギムザ染色では鑑別に限界があると考えられる細胞として、恐らくは一部にリンパ球と鑑別困難な小型のマクロファージが含まれているものと思われる。各々の群に腹腔内細胞或は細胞を含まない上清を移入後1週間を経た後にEhrlich腹水癌 10^6 個を腹腔内移植し、その後の生存期間を比較観察した。結果は図4に示される如く対照群I、IIとも全く延命を認めないのに反し、実験群では著明な延命を認めた。この結果よりOK-432を腹腔内

図4

Ehrlich 癌移植ハツカネズミの生存期間に及ぼすOK-432投与ハツカネズミの腹腔内遊出細胞前投与の効果(縦軸は生存率を示す)



に投与後に腹腔内に遊出した細胞がその後に腹腔内に移植された腫瘍細胞に対して増殖抑制的に作用していることが明らかとなった。同様の方法を用いて移植腹水癌細胞数を増加し 10^6 個とした場合にはこの抑制効果は微弱であった。

第4節 腫瘍特異免疫に与える影響

動物はC₃H雄性6週令マウス40匹を使用し腫瘍はMC induced sarcomaを使用した。先ず腫瘍特異免疫の成立を目的として6000RのX線照射を施行して非増殖性となったMC induced sarcoma細胞 2×10^7 個を前感作として免疫群(グループB, C)に皮下注射した。グループAは非免疫群であり無処置である。グループCについては前感作後より36日間OK-432を1KE/匹隔日に腹腔内或は皮下投与し、OK-432の腫瘍特異免疫に与える影響を観察した。各3群ともに前感作後37日目にX線照射されていないMC induced sarcoma細胞 1×10^6 個/匹を皮下移植し移植20日後の腫瘍発生率を比較検討した(各群10匹)。本実験は再現性を調べるために前感作細胞数、X線照射量、再移植細胞数、OK-432処置日数に多少の違いがあるが同様の方法で3回施行した(Exp 1, 2, 3)。結果は図5, 6, 7に示される如く本実験の使用動物-使用腫瘍の間では腫瘍特異免疫獲得による有意の腫瘍発生抑制は認められなかった。しかし、3回の実験に共通してOK-432処置群に腫瘍発生率の低下傾向が認められた。

図5 Exp 1 Protection against tumor challenge

Group	Immunization	Treatment	Tumor incidence (%) 20 days after challenge
A	None	—	71
B	MC induced sarcoma* (2×10^7 s. c.)	—	60
C	MC induced sarcoma*	OK-432 (ip)	44

* These tumor cells were exposed to 6000R X-irradiation.

図6 Exp 2 Protection against tumor challenge

Group	Immunization	Treatment	Tumor incidence (%) 20 days after challenge
A	None	—	72
B	MC induced sarcoma* (1.7×10^7 s. c.)	—	71
C	MC induced sarcoma*	OK-432 (s. c.)	67

* These tumor cells were exposed to 8000R X-irradiation.

図7 Exp 3 Protection against tumor challenge

Group	Immunization	Treatment	Tumor incidence (%) 60 days after challenge
A	None	—	44
B	MC induced sarcoma* (1×10^7 s. c.)	—	31
C	MC induced sarcoma*	OK-432 (ip)	21

* These tumor cells were exposed to 8000R X-irradiation

第5節 癌性胸膜炎患者における OK-432 胸腔内投与の効果

症例 1. 50歳. 男性. 肺癌(組織型は腺癌)癌性胸膜炎を合併. 図 8 に治療と経過の概略を示しているが癌化学療法として 5FU 250 mg を隔日投与, Vincristine 1 mg, Cyclophosphamide 500 mg, Mitomycin C 5 mg を各々別の日に週 1 回投与する多剤併用 FOEM 療法を施行している. その他 OK-432 を初回 0.2 KE, 2 回目として 1 週後に 0.5 KE を胸腔内投与し, その後長期間 1 KE を隔日に筋肉内投与している. 図に示す如く多剤併用化学療法により途中白血球減少を来したため, 一時その投与を中止し

白血球減少の回復を待ち再び化学療法を開始している.

癌性胸水の推移に注目してみると OK-432 0.2 KE の 1 回の胸腔内投与により著明に胸水中に細胞増多を認め, なかでもマクロファージ, 好中球の速やかな増加が観察された. OK-432 は胸腔内には 2 回投与されているだけであるが全身的化学療法と相まって次第に癌性胸水の減少を来し, 胸水中の細胞成分の減少と共に癌細胞も消失した.

OK-432 を初回 0.2 KE 胸腔内に投与 2 日後に胸水採取しマイ・ギムザ染色を施行して鏡検すると写真 2 の如く第 2 節の実験で観察されたと同様に, 臨

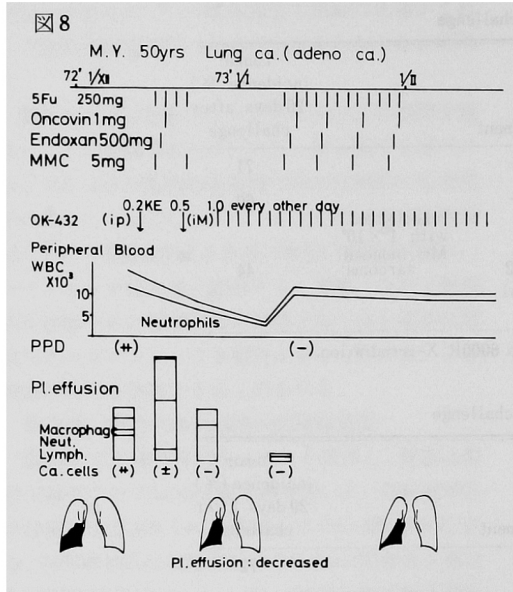
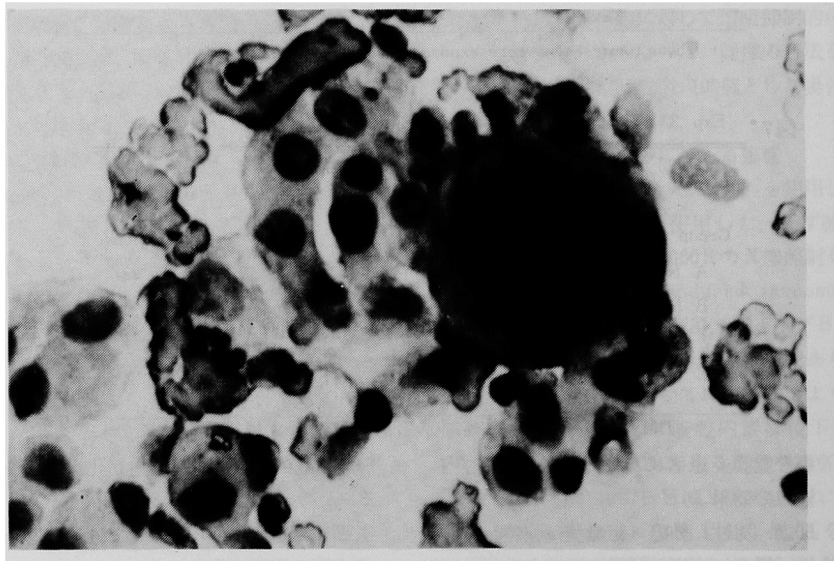


写真 2



床的にも、腫瘍細胞を取り囲む増加したマクロファージが発見された。

症例 2, 49歳, 男性, 癌性胸膜炎 (腺癌) 図 9 に治療と経過の概略を示すが多剤併用化学療法として 5 FU 250 mg を隔日投与, Vincristine 1 mg, Bleomycin 15 mg, Cyclophosphamide 500 mg, Mitomycin C 5 mg を各々別の日に週 1 回投与する FOBEM 療法⁷⁾ を施行した。その他 OK-432 を胸腔内に週 1

回 0.1 KE より開始し次第に増量して週 2 回 1.0 KE を長期間投与した。その間 1 度のみ Mitomycin C 5 mg を胸腔内に OK-432 と併用投与⁸⁾ している。

癌性胸水の推移に注目してみると胸水中の細胞数は OK-432 の胸腔内投与と共に次第に増加し、その構成細胞では好中球の著明な増加が観察された。全身的な制癌剤の投与は白血球減少の出現のため中止し OK-432 の胸腔内投与は続けられ胸水はその量の減少と共に粘調度を増し採取不能となり、胸水中の癌細胞も次第に認められなくなった。

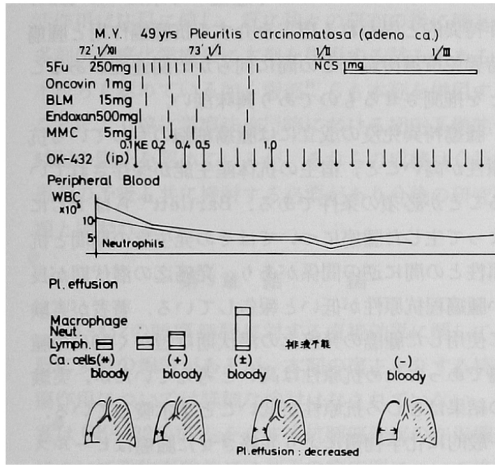
両症例とも OK-432 の胸腔内投与と平行して多剤併用癌化学療法が施行されているが、癌性胸水中の細胞成分の変化は著者が施行して来た動物実験の諸成績と酷似したものであり、特に症例 1 では制癌剤の有効量投与前に既に本剤の 2 回の胸腔内投与で腫瘍細胞の消失を来している。

第 4 章 総括並びに考案

本邦で開発された OK-432 については in vitro で

の抗腫瘍効果についての報告は種々あり^{9)~11)} その作用は溶連菌の RNA 効果と言われてきた。即ち溶連菌が Streptolysin S を産生する際に腫瘍細胞の RNA が消耗されその機構の荒廃が招来される結果、腫瘍細胞が死滅すると言われ、Streptolysin O のみを産生する溶連菌にはそのような作用は見られない。in vivo では Ehrlich 癌の他いくつかのラット腹水肝癌や吉田肉腫でその効果が認められているが

図 9



多くは最も効果の現われやすい ip-ip の成績¹²⁾ である。著者は本剤と既存の制癌剤との併用療法を研究中に本剤が充来言われていた腫瘍細胞に対する直接効果の他に宿主を介する抗腫瘍作用を有することを確認し第 1 編で報告した。本編では OK-432 の宿主を介する抗腫瘍作用の作用機序を明らかにするために先ず本剤の正常マウスに及ぼす影響を検索した。その結果本剤の末梢血に及ぼす影響については有意ではないが好中球の増加傾向が観察された。しかし、リンパ球、単球については不変であった (図 1)。一方、腹腔内細胞に及ぼす影響については本剤の腹腔内投与により著明な遊出細胞の増加を認め特に好中球、マクロファージは本剤の投与と共に速やかに腹腔内に遊出し、数量的には圧倒的にマクロファージが多く、ついでリンパ球、好中球の順であった。そして本剤の腹腔内投与と中止によりマクロファージ、好中球は次第に減少するのに対し、リンパ球はそれらよりも遅れて漸減する傾向が認められた。以上の OK-432 の腹腔内投与により惹起される腹腔内細胞の変化は質や量の違いはあるにしろ一般的な炎症反応と考えられ、OK-432 という異物が腹腔内へ入って来たための宿主防禦機構の働きを示すものであるかもしれない。そこで既に前編で述べた本剤の腹腔内移植前投与の方が移植後投与よりその後の腹腔内への腫瘍移植を強力に抑制するという本剤の宿主を介する抗腫瘍作用の存在を示す実験結果 (図 3 b) について、これが如可なる作用機序によるものかを検討するために、その際の腫瘍移植に伴う腹腔内細

胞の変動を検索した。結果は図 3 a に示される如く腫瘍増殖抑制効果を示す移植前投与群では腫瘍移植時に既に腹腔内には著明なマクロファージの増加とリンパ球、好中球の軽度増加を認めた。一方、腫瘍増殖抑制効果を示さない移植後投与群では腫瘍移植時には対照群と同じく少数のリンパ球、マクロファージを認めるのみであるが、腫瘍移植後でも腹腔内への OK-432 の投与と共にマクロファージ、好中球の増加を認めた。しかし、リンパ球の増加は認められなかった。このような腹腔内細胞の変化と OK-432 移植前投与マウスの延命効果との間の関係を検討するため第 3 節の実験を行なったところ、OK-432 の投与により腹腔内に遊出して来た細胞に抗腫瘍作用があることが確認された。

ではそれらの腹腔内遊出細胞のうちどの細胞が腫瘍細胞に対して増殖抑制的に作用しているのかについては、延命効果のない移植後投与群でも腹腔内に移植前投与群より多い好中球の遊出増加を認めることより好中球以外の細胞、即ちマクロファージかリンパ球が考えられるところである。腹腔内にはその他の細胞として肥胖細胞、好酸球を極く少数認めるが問題になる程の数ではない様である。延命効果が著明に認められる移植前投与群では腫瘍移植 3 日後に腹腔内液を採取しマイ・ギムザ染色をしてみると写真 1 の如く腹腔内に移植された腫瘍細胞の周囲を取り囲む増加したマクロファージを散見することができ、また本細胞は数量的に圧倒的に多数腹腔内に遊出していることからその作用を重視せねばならぬ様に思われる。リンパ球もその絶対数はマクロファージ程ではないにしても増加傾向を示すが、本細胞は小型のマクロファージ (未熟なマクロファージ) との鑑別がマイ・ギムザ染色では困難であり、墨粒貪食試験¹³⁾ でも見られる様にリンパ球類似の大きさの細胞で墨粒を貪食するものがかかり存在することより、著者がマイ・ギムザ染色にてリンパ球と分類しているものの中には未熟なマクロファージが含まれている可能性もある。従ってまた移植前投与群で OK-432 の投与を中止後 1 週間迄はリンパ球が増加している如く見られたのは OK-432 の投与により刺激され遊出して来た未熟なマクロファージが或程度混在している可能性によるものかもしれない。

以上の成績より OK-432 の宿主を介する抗腫瘍作用の作用機序は本剤の投与により遊出増加したマクロファージによる炎症の場での腫瘍細胞の巻き込み破壊が主であると考えられる。腹腔内へ遊出して来

るマクロファージの起源については古くは教室の小谷¹⁴⁾の報告があり、単球に近似した細胞より構成された細胞集団である大網乳斑がその供給源であるとされている。しかし、Volkman¹⁵⁾らはラットの skin window部のカバーガラスに遊出して来るマクロファージの57%はカバーリップ着用1日前に1回の静注で投与された Thymidine でラベルされたと報告している如く種々の刺激により炎症局所へ遊出して来るマクロファージは循環動態からも速やかに放出されて来るものもあると思われる。現在では骨髄中の前駆細胞から血液単球へ、更に各組織内のマクロファージへの経路と動態が明らかにされ急性炎症の場合の骨髄中の単球造血の亢進も観察されている^{16) 17)}しかし、OK-432の投与による腹腔内マクロファージの遊出増加は認めてもその際の末梢血液中には単球増加は認められなかった。

シイタケの抽出物である多糖類の Lentinan¹⁸⁾或は原虫である *Toxoplasma gondii*¹⁹⁾をマウスの腹腔内に投与後に腹腔内に遊出して来た細胞が *Sarcoma 180*や或る種の肉種に対して腫瘍の発育を抑制したという報告は既にあり、これらの物質を腹腔内に注入することにより活性化された腹腔内マクロファージ或はリンパ球様細胞が腫瘍細胞に対して免疫学的に特異的であるか非特異的であるかは不明であるが、増殖抑制的に作用していると述べている。OK-432は溶連菌の菌体自身であり、同様に菌体である BCG²⁰⁾にもマクロファージの活性化作用が認められている。即ち BCGを静脈内投与したマウスのマクロファージは著明な機能亢進を示し、大型の細胞となり、ガラス壁へ広がる傾向を有し、貪食能力も強まり水解酵素活性や酸素消費も高まるといわれる。しかし、このようなマクロファージの活性化といった細胞免疫の亢進は非特異的であり、次に他種の菌で challenge しても強い抵抗力を発揮すると報告されている。これらのことからOK-432に Lentinan, *Toxoplasma*或は BCGに類似のマクロファージ活性化作用があることが推察される。

近年ほとんどすべての実験癌の腫瘍細胞表面には腫瘍特異移植抗原が存在していると言われている。従って免疫学的に宿主に腫瘍特異免疫が獲得されればその後の腫瘍の再移植が抑制されるはずである。著者はこの腫瘍特異免疫に与える OK-432の影響を調べるため第4節の実験を行なったところ、X線照射した腫瘍細胞による前感作後に OK-432を投与さ

れたグループでは腫瘍再移植の移植率に抑制傾向が認められた。このことは今迄述べて来た OK-432の非特異的と思われる宿主を介する抗腫瘍作用と腫瘍特異免疫獲得過程との間に何らかの関連性があることを推測させるものであり興味深い。

腫瘍特異免疫の成立には腫瘍細胞の有している抗原性が高いこと、宿主の抗体産生能が保存されていることが必須の条件である。Bartlett²¹⁾らは MCによって生じた腫瘍についてはその発生迄の期間と抗原性との間に逆の関係があり、発癌迄の潜伏期が長い腫瘍程抗原性が低いと報告している。著者が実験に使用した腫瘍の発癌迄の潜伏期は短かく50日の腫瘍であったため抗原性は高いと考えていたが、実験の結果はむしろ抗原性が低いことを示唆している。一般的に化学物質により発癌させた腫瘍はビルスにより発癌させた腫瘍より抗原性は低いと言われ、腫瘍特異免疫を調べる実験腫瘍としては不適當なのかもしれない。それにもかかわらず OK-432処置群では3回の実験とも共通して腫瘍移植率の低下が認められるのは何故であろうか。

最近 Collins²²⁾らは溶連菌ワクチンで免疫されたハムスターには50%の simian virus 40 Tumor (SV 40 Tumor)の移植抑制が認められ、同時に SV 40 Tumorより抽出した Polysaccharide に対する血中抗体の上昇が認められることより溶連菌ワクチンと SV 40 Tumorとの間に共通抗原が存在していると報告している。しかし、著者の使用した OK-432と MC induced sarcomaとの間に共通抗原が存在するという報告はまだない。

マクロファージは抗原情報をリンパ球に伝達する因子を作り、リンパ球との相互反応で抗原に対する反応を強めるとも言われている^{23) 24)}OK-432の投与により局所にマクロファージが著明に遊出増加して来ることは本編の実験で明らかであり、また最近著者らは OK-432の投与により細胞性免疫が賦活されることも見出ししている^{25) 26)}これらのことより OK-432の腫瘍特異免疫獲得過程への関与の可能性としては、本剤の投与により増加し活性化されたマクロファージ乃至賦活された細胞性免疫の関与がその過程に考えられる。

臨床的には癌性胸膜炎患者の胸腔内に OK-432を投与することにより観察される胸水細胞の変化は動物実験の結果とよく合致するものであり、小川²⁷⁾も本剤の胸腔内単独投与の有用性を報告している。

癌化学療法の副作用としての宿主の免疫抑制状態が問題となっている現在、OK-432の細胞性免疫賦活作用は注目に値し、既に我々の研究の後に種々の多剤併用癌化学療法に本剤を併用する試みがある。木村らも認めている如く服部²⁸⁾らも本剤を併用することにより癌化学療法施行時における網内系機能の減弱の阻止を認めているが、それらの成績は今後癌患者の予後と共に検討する必要があり今後の研究課題と思われる。

第5章 結 論

OK-432の腫瘍細胞に対する直接効果に関しては既に多数の報告があるが、本剤の宿主を介する抗腫瘍作用については詳細な検討はなされていない。著者はOK-432の宿主を介する抗腫瘍作用の作用機序について動物実験並びに若干の臨床例について検討を試み以下の諸点を明らかにした。

1) 本剤の宿主を介する抗腫瘍作用は本剤の投与

により遊出増加した細胞を介しての抗腫瘍効果である。

2) 遊出増加して来る細胞の中ではマクロファージが圧倒的に多く、この細胞による腫瘍細胞の恐らくは非特異的破壊が最も考えられる。

3) 本剤にはその未知の作用機序として腫瘍特異免疫獲得過程へも関与している可能性がある。

4) 癌性胸膜炎患者に本剤を胸腔内投与し、動物実験と同様の細胞変化を得、本剤の有効性が示された。

擧筆に臨み御指導、御校閲をいただいた恩師平木深名誉教授ならびに木村郁郎教授に深謝するとともに、終始懇切な御指導と助言をいただいた大熨泰亮講師に感謝の意を表する。

なお本論文の要旨は第34回癌学会総会（昭和50年大阪）において発表した。

参 考 文 献

- 1) H. C. Rely : Microbiology and Cancer Therapy, A Review, *Cancer Res.*, **13** : 821-834, 1953.
- 2) H. C. Nauts, W. E. Swift, and B. L. Coley : The treatment of malignant tumors by bacterial toxins as developed by the Late William B. Coley, M. D., Reviewed in the Light of Modern Research, *Cancer Res.*, **6** : 205-216, 1946.
- 3) 越村三郎 : 悪性腫瘍と溶連菌, *医学のあゆみ*, **39** : 551-557, 1961.
- 4) H. Okamoto, S. Shoin, S. Koshimura, & R. Shimizu : Studies on the Anticancer and Streptolysin S-Forming Abilities of Hemolytic Streptococci, *Jap. J. Microbiol.*, **11** : 323-336, 1967.
- 5) S. Koshimura, K. Murasawa, E. Nakagawa, M. Ueda, Y. Bando, & R. Hirata : Experimental Anticancer Studies. Part III On the influence of living hemolytic streptococci upon the invasion power of Ehrlich ascites carcinoma in mice, *J. Exp. Med.*, **25** : 93-102, 1955.
- 6) 木村郁郎, 大熨泰亮, 高野純行, 大沢汎, 安原尚蔵, 渡部達夫, 杉山元治 : 溶連菌製剤と各種制癌剤併用の試み, *癌の臨床*, **18** : 886-891, 1972.
- 7) 木村郁郎, 大熨泰亮, 大沢汎, 安原尚蔵, 渡部達夫, 杉山元治, 占部康雄, 藤井昌史, 町田健一 : 溶連菌による合併療法, *癌の臨床*, **21** : 1065-1071, 1975.
- 8) Ikuro Kimura, Taisuke Onoshi, Junko Takano, Hiroshi Osawa, Shozo Yasuhara, Tatsuo Watanabe and Motoharu Sugiyama : Combination chemotherapy with anticancer agents and OK-432, *Acta Med. Okayama*, **28** : 411-421, 1974.
- 9) 清水隆作, 西田信義, 坂東勲, 越村三郎, 林鋭雄, 小林孝 : 制癌に関する実験的研究, 第22報, 癌細胞と溶連菌の接触メジウムにおける癌細胞 RNA の出現について, *金沢大学結核研究所年報*, **22** : 27-35, 1964.
- 10) 越村三郎, 西田信義, 坂東勲, 正印達, 南幹雄, 角野光司 : 制癌に関する実験的研究, 第26報, Streptolysin O のみの産生能を有する溶連菌の無効性について, *金沢大学結核研究所年報*, **23** : 61-67, 1965.
- 11) 南幹雄 : 制癌に関する実験的研究, 第29報, 溶連菌に対する前処置メジウムの種類とその制癌能の関係について, *金沢大学結核研究所年報*, **23** : 163-171, 1966.

- 12) 桜井欽夫, 渡辺順明: ラット腹水腫瘍に対する溶連菌の制癌効果, 第27回日本癌学会総会記事, 262, 1968.
- 13) 平木潔, 真田浩: 血液疾患日常の診療, P 22新臨床医学文庫, 金原出版, 出版地: 岡山
- 14) 小谷三郎: 腹, 胸水食細胞の起源に関する研究, 岡山医学学会雑誌, 71: 691-700, 1959.
- 15) A. Volkman and J. L. Gowans: The production of macrophages in the rat, Brit. J. Exp. Path., 40: 50-61, 1965.
- 16) Gerhard Meuret, Joachim Bammertm and Günter Hoffmann: Kinetics of human monocytopoiesis, Blood, 44: 801-816, 1974.
- 17) 武谷健二, 野本亀久雄: マクロファージの機能, 蛋白質核酸酵素, 19: 889-898, 1974.
- 18) Yukiko Maeda and Goro Chihara: Periodical consideration on the establishment of antitumor action in host and activation of peritoneal exudate cells by lentinan, GANN, 64: 351-357, 1973.
- 19) James L. Krahenbuhl and Jack S. Remington: The role of activated macrophages in specific and nonspecific cytostasis of tumor cells, J. Immunol., 113: 507-516, 1964.
- 20) G. B. Mackness: The immunological basis of acquired cellular resistance, J. Exp. Med., 121: 105-120, 1964.
- 21) Gerald L. Bartlett: Effect of host immunity on the antigenic strength of primary tumors J. Natl. Cancer Inst., 49: 493-504, 1972.
- 22) John L. Collins and Carl J. Wust: Suppression of SV 40 tumors after immunization with group A streptococcus pyogenes and Bordetella pertussis, Cancer Res., 34: 932-937, 1974.
- 23) E. M. Hersh and J. E. Harris: Macrophage-lymphocyte interaction in the antigen-induced blastogenic response of human peripheral blood leukocytes, J. Immunol., 100: 1184-1194, 1968.
- 24) S. Mitsuhashi and K. Saito: In vitro transfer of cellular immunity of mouse phagocytes in experimental salmonellosis, J. Bacteriol., 84: 592-593, 1962.
- 25) 木村郁郎, 大塚泰亮, 安原尚藏, 杉山元治, 占部康雄, 藤井昌史, 町田健一: 担癌ハツカネズミの遅延型皮膚反応におよぼす溶連菌剤 OK-432の影響, 医学と生物学, 91: 91-93, 1975.
- 26) 木村郁郎, 大塚泰亮, 安原尚藏, 杉山元治, 占部康雄, 藤井昌史, 町田健一: 各種悪性腫瘍患者のツベルクリン反応, 特に癌化学療法と OK-432併用症例における本反応の推移, 医学と生物学, 91: 147-150, 1975.
- 27) 小川一誠, 尾山淳, 後藤達彦, 太田和雄: 溶連菌製剤 OK-432, 医学のあゆみ, 91: 498-504, 1974.
- 28) 服部隆延, 山本繁, 佐藤博, 般坂元克, 古江尚: 溶連菌製剤 (OK-432) 導入による癌の多剤併用療法, 癌の臨床, 19: 929-934, 1973.

**Immunological studies of the streptococcal preparation, OK-432,
on neoplasm**

**Part II. Studies on the mechanism of the host-mediated antitumor action
of the streptococcal preparation, OK-432**

by

Shozo YASUHARA

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Ikuro Kimura)

In the Part I, an apparent life-prolonging effect was observed in mice with transplanted tumors when OK-432 was given i.p. or s.c. as a pretreatment, indicating the presence of the host-mediated action. In this paper, the peritoneal cells were used to investigate the mechanism of its host-mediated antitumor action.

Its results are described below:

- 1) When OK-432 was injected into the peritoneal cavity of mice, peritoneal cells, particularly macrophages, were observed in large quantities.
- 2) Thus far obtained, these peritoneal macrophages demonstrated an antitumor activity.
- 3) These exudated macrophages were found to enclose a tumor cell in both mice and patients with carcinomatous peritonitis or pleuritis, when OK-432 was injected into the peritoneal or pleural cavity.
- 4) There is a tendency to protect mice against tumor rechallenge when mice are treated i.p. or s.c. with OK-432 after pre-immunization of mice with the irradiated tumor cells. Therefore, the effect of OK-432 for tumor specific immunization was suspected, experimently.

The results stated above lead to the conclusion that the host-mediated antitumor action of OK-432 is probably due to the activated local macrophages and the increased host immune reponse to the tumor specific antigen.