

担癌生体における遅延型アレルギーの研究

第 3 編

癌組織抽出物による遅延型皮膚反応とその passive transfer について

岡山大学医学部第一外科（主任：田中早苗教授）

神 原 武 志

〔昭和42年10月11日受稿〕

目 次

第1章 緒言	第1項 実験材料
第2章 実験方法	第2項 実験方法
第1節 同種人癌組織抽出物による皮内反応	第5節 皮内反応判定法
第1項 実験材料	第3章 実験成績
第2項 皮内反応抗原調整法	第1節 同種人癌組織抽出物による皮内反応
第3項 実験用皮内反応抗原液の濃度調整法	第1項 ホルマリン固定後 Fluorocarbon 処理抗原
第4項 皮内反応	第2項 凍結癌抗原
第2節 自家癌組織抽出物による皮内反応	第3項 凍結癌 Fluorocarbon 処理抗原
第1項 実験材料	第4項 小 括
第2項 皮内反応抗原調整法	第2節 自家抗原による皮内反応
第3項 皮内反応	第3節 人癌多価抗原による皮内反応の腹腔内リンパ節細胞での Passive transfer
第3節 同種人癌多価抗原による皮内反応の腹腔内リンパ節細胞での Passive transfer	第4節 Methylcholanthrene (MC) 誘発肉腫抽出物による自家マウス皮内反応
第1項 実験方法	第4章 総括ならびに考案
第4節 Methylcholanthrene (MC) 誘発肉腫抽出物による自家マウス皮内反応	第5章 結 論

第1章 緒 言

癌患者における遅延型アレルギー反応の機構の破壊、減弱についてはすでに詳細にのべたが、他方、これら癌腫の増殖による免疫系の抑制にもかかわらず、担癌生体のリンパ球様細胞が、自己に発生あるいは移植された癌腫にたいして抗腫瘍性に作用していることが明らかになりつつある¹⁾²⁾。

移植癌や発癌剤による誘発肉腫においては、癌特異抗原の存在が抗移植腫瘍実験をとおして明らかになりつつあるが³⁾、人癌についてはほとんど不明である。癌患者の遅延型アレルギーや同種移植免疫反応が抑制されていることは事実だが、癌細胞にたいして担癌宿主がリンパ系組織を介して抗腫瘍性に作

用している以上、もし癌患者の皮内に癌特異抗原を注射してやれば、ツベルクリン皮内反応に似た遅延型の反応があらわれる可能性が充分にある。これら皮内反応が免疫機作によることを裏付けるために、この反応がリンパ球様細胞により Passive transfer するかどうかを検討し、癌特異抗原の存在が明確になっている methylcholanthrene 誘発肉腫をマウスにつくり、人癌組織と同様の処理によつてえた分画が皮内反応を惹起するかどうかを明らかにした。

第2章 実験方法

第1節 同種人癌組織抽出物による皮内反応
第1項 実験材料

手術時に切除した胃癌を用いるが、胃壁の粘膜側の腫瘤で比較的壊死の少ない部位を採取し、15人の胃癌患者より集め、そのまま -40°C に凍結保存しておくか、あるいは5%ホルマリン液に1週間 4°C に保存しておく。対照に用いる材料としては、10人の胃潰瘍および十二指腸潰瘍患者の健康な部分の胃粘膜を同様に採取保存した。

第2項 皮内反応抗原調整法

(1) ホルマリン中にプールしておいた腫瘤を生理的食塩水で充分洗滌したのち、Waring-blenderにて氷冷下で10分間 homogenize し、Potter's homogenizer でさらに10分間 homogenize し、3000r. p. m. 15分間遠心してえた上澄を粗抗原抽出物とする。この上澄に Fluorocarbon (trichlorotrifluoroethane, $\text{CCl}_2\text{F}-\text{CClF}_2$) の等量を加え、白い気泡様になるまで2~3分間の間隔をおいて2~3分間づつくりかえして攪拌する。この気泡様のゼラチン様物質を3000r. p. m. 15分間遠心して上澄をとり、これに等量の Fluorocarbon を加えて同様な処理を施し、ほぼ透明な上澄をうるまでくりかえす。最終の上澄に石炭酸を0.4%に加え Fluorocarbon 処理抗原とした。蛋白質量は Kjeldahl-Nessler 法で 43.8 mg/dl であつた。

(2) 凍結抗原

凍結保存しておいた腫瘤を、冷凍の状態で mince にかけて、さらに家庭用ミキサーにかけて、つづいて Waring-blender にかけて充分に homogenize する。3000r. p. m. 15分間遠心して、その上澄を粗抗原とし、石炭酸を0.4%に加える。この上澄を前述と同様の方法で Fluorocarbon 処理を施して凍結癌 Fluorocarbon 抽出物とする。蛋白質量は 40mg/dl であつた。

(3) 非癌正常胃粘膜より抽出した対照抗原：正常胃粘膜を癌組織と同一の方法で処理し、Fluorocarbon 処理非癌対照粘膜抽出抗原とした。蛋白質量は 127.6 mg/dl であつた。

第3項 実験用皮内反応抗原液の濃度調節法

以上のごとく調整した各種抗原液は蛋白濃度が一定でないが、他の種々の皮内反応液の蛋白量を測定したところ、Tuberculin 200 倍液 (武田製薬) では 31.25 mg/dl, M. C. R. 松原氏癌反応液では 50.00 mg/dl であつた。また大内ら⁴⁾によると、胃癌抗原の調整で蛋白量が 200 mg/dl であるが、これを Fluorocarbon で4回処理すると 25mg/dl になるという。これらを参考にして、本実験用各種抽出抗原液の蛋

白量を 30mg/dl になるよう調整した。

第4項 皮内反応

両側前腕手掌側の皮内に、対照として正常胃粘膜の抽出液と、癌組織抽出液を正確に 0.1 ml づつ、それぞれ 2 cm の間隔をおいて注射する。また、正常胃粘膜抽出液にたいする対照として生理的食塩水に石炭酸を 0.4% に加えたものを皮内注射した。

第2節 自家癌組織抽出物による皮内反応

第1項 実験材料

手術時に切除した胃癌組織および癌腫よりなるべく離れた正常部分の胃粘膜をそのままただちに用いる。

第2項 皮内反応抗原調整法

腫瘤を生理的食塩水で充分洗滌し、ついで Sucrose 0.25 M で洗滌、Sucrose 液中で細切し、Potter's homogenizer で充分に homogenize したのち、Teflon homogenizer で数 Stroke homogenize する。腫瘤重量を1人分 3g より出発する。まず homogenate を 700 g, 10分間遠心してえたる上澄をさらに 8500g, 15分間遠心し、その上澄を 100,000g, 60分間超遠心にかけてえたる上澄と沈渣を抗原として用いる。100,000 g 上澄には Penicillin 200 単位/ml を加え抗原液とし、沈渣分画は 0.25M Sucrose に再浮遊せしめて Penicillin を加え抗原液とする。他方、正常胃粘膜を 3g 同様の処理を行かない 100,000 g 上澄と沈渣に分ち、Penicillin を加えて正常対照抗原液とする。さらに 0.25M Sucrose 液に Penicillin を加えたものを対照液とする。

第3項 皮内反応

前述した胃癌組織の上澄、沈渣分画、正常胃粘膜の上澄、沈渣分画および Penicillin 加 Sucrose 液を、両側前腕手掌側に 2 cm の間隔で皮内注射した。

第3節 同種人癌多価抗原による皮内反応の腹腔内リンパ節細胞での Passive transfer

第1項 実験方法

第1節でおこなつた同種人癌組織抽出物による皮内注射が陽性であつた患者を donor とし、recipient にはその皮内反応陰性の患者を用いる。手術時、陽性患者の腹腔内リンパ節を無菌的に採り、第1編でおこなつた tuberculin の Passive transfer と同一の方法でリンパ節細胞を 10^8 コ~ 15×10^8 コ recipient の上腕三角筋内に注射する。細胞移入48時間後に人癌組織抽出物を 0.1 ml 前腕掌側皮内に注射する。リンパ節細胞の採り出し方については、第1編に詳述している。

第4節 Methylcholanthrene (MC) 誘発肉腫抽出物による自家マウス皮内反応

第1項 実験材料

Swiss 系マウスの5週前後のものを岡大マウスコロニーより購入し、生野菜とオリエンタル酵母のMF-固型飼料で飼育した。これらマウスの背部皮下にアラビヤゴムに浮遊せしめた methylcholanthrene 1mg を注射し、約4ヶ月後に注射局所に発生した小指頭大の肉腫を出発材料にした。

第2項 実験方法

無菌的に背部皮下の腫瘍を剔出し、0.25M Sucrose 液中で細切し Potter's homogenizer および Teflon-homogenizer で homogenize し、第2節の人癌の場合と同様超遠心にかけ 100,000g の上澄と沈渣に分ち、Penicillin 液を加えて抗原溶液とする。これら抗原溶液を腫瘍原発マウスの腹部皮内に0.1ml注射した。対照液には同系異体のマウスの大腿筋肉より抽出した上澄と沈渣を用いた。

第5節 皮内反応判定法

人癌患者においては、皮内注射後6時間、24時間、48時間と注射局所の変化を追跡し、48時間後の局所の発赤、腫脹、浮腫の状態を計測し、日本結核病学会の規定にもとずき、第1編で判定した方法に準じた。発赤の直径 10mm 以上の場合を弱陽性 (+)、10mm 以上で硬結を伴うものを中等度陽性 (H)、のごとくに判定した。マウスの場合には、主に腫脹、硬結に重点を置き、48時間後に局所を計測して、その直後に局所の皮膚を切除し、ホルマリン固定後 H. E. 染色にて検鏡し、陽性の有無を判定した。Coe ら⁵⁾の方法にならぬ、組織学的に血管周囲や皮内にリンパ球様細胞の浸潤が強く、好中球の出現が比較的少なく、小血管の変性や壊死のあるものを陽性とした。

第3章 実験成績

第1節 同種人癌組織抽出物による皮内反応

第1項 ホルマリン固定後 Fluorocarbon 処理抗原

表1のごとく癌群および非癌群の間には有意の差がみられない。

第2項 凍結癌抗原

表2のごとく癌群および非癌群の間には有意の差はみられない。

第3項 凍結癌 Fluorocarbon 処理抗原

表3のごとく癌群および非癌群の間には有意の差は

表1 ホルマリン-フロロカーボン処理抗原様物質による皮内反応

癌群皮内反応					非癌群皮内反応				
陰性		陽性			陰性		陽性		
-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
23	10	17	36	0	10	1	13	12	0
39%		61%			31%		69%		

表2 凍結人癌抗原様物質による皮内反応

癌群皮内反応					非癌群皮内反応				
陰性		陽性			陰性		陽性		
-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
10	13	9	18	0	5	1	7	8	0
46%		54%			30%		70%		

表3 凍結人癌フロロカーボン処理抗原様物質による皮内反応

癌群皮内反応					非癌群皮内反応				
陰性		陽性			陰性		陽性		
-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
15	16	13	22	0	9	1	10	13	0
47%		53%			33%		67%		

みられない。

第4項 小括

以上のごとく、多人数の腫瘍をプールして混合使用した場合は、いずれも有意の差を認めることができなかつたが、この事実はある期間腫瘍を冷凍下に保存していたために癌特異抗原が失活したのか、あるいは個々の腫瘍にそれぞれ特異性があつて共通抗原がないためかのいずれかであろう。そこで次の実験を行なつた。

第2節 自家抗原による皮内反応

表4のごとく、100,000g 沈渣分画にはきわめて特異的な遅延型アレルギー反応を認め、また100,000g 上清にも一部軽度の遅延型アレルギー反応を認めることができた。沈渣分画による反応の1例は写真1にしめすごとくである。対照として使用した0.25M Sucrose および正常粘膜遠心分画では、注射早期には発赤をみとめることがあるも、48時間後には全例陰性であつた。

表 4 自家胃癌抗原様物質による皮内反応

No	患者名	48時間后皮内反応 (m. m.)			備 考
		10万G Sed.	10万G Sup.	Control	
1	Y. Y.	-	-	-	(切徐后1Wにて検査)
2	J. S.	-	+	-	抽出直后
			2 × 2		
3	J. I.	+	-	-	"
		10 × 10	2 × 3		
4	T. Y.	+	+	-	"
		8 × 8	3 × 4		
5	S. F.	+	-	-	"
		8 × 8	2 × 2		
6	S. T.	+	-	-	"
		7 × 8	1 × 1		
7	J. Y.	+	-	-	"
		6 × 6	2 × 2		
8	T. S.	+	-	-	"
		8 × 9			
9	T. F.	+	-	-	"
		6 × 7			
10	M. N.	+	-	-	"
		8 × 9			
11	H. E.	-	-	-	"

第 3 節 人癌多価抗原による皮内反応の腹腔内リンパ節細胞での passive transfer

表 5 のごとく、癌抽出液に陽性をしめした donor よりのリンパ節細胞を受けた recipient では、例外はあるが、transfer 後の反応が増強されているものが多い。

第 4 節 Methylcholanthrene (MC) 誘発肉腫抽出物による自家マウス皮内反応

表 6 のごとく、0.25 M Sucrose 液や正常マウス筋肉抽出物を用いた対照に比し、肉腫の 100,000 g 沈渣および上澄ともに遅延型の皮膚反応を呈しており、特にその反応が沈渣分画に強くあらわれている。陽性をしめした皮膚局所の肉眼的所見は 100,000 g、沈渣分画で最も腫脹硬結が強く、つぎが上澄分画であるが、組織学的には写真 2 のごとく、肉腫 100,000 g、沈渣分画の注射では、一部に空胞変性があり、真皮乳頭、乳頭下層には部分的にかなり強い浮腫を認め、網状層および皮下組織にかけリンパ球を主とする散在性、一部集団性の細胞浸潤を認める。特に血管周囲に細胞浸潤が強い。上澄分画注射のもの

表 5 癌腫抽出液により行つた皮内反応の passive transfer による変動 (腹腔リンパ節細胞による)

Donor.			Recipient.				
氏名	病 名	癌抽出液皮内反応	氏名	病 名	Transfer 前の反応	Transfer 後の反応	細胞 数
S.	胃 潰 瘍	+	K.	胃 癌	-	+	13 × 10 ⁸
S.	"	+	S.	"	-	-	13 × 10 ⁸
M.	胃 癌	+	M.	"	-	+	6 × 10 ⁸
M.	"	+	M.	胃 潰 瘍	±	±	6 × 10 ⁸
M.	"	+	I.	胃 癌	-	+	6 × 10 ⁸
T.	胆 石	-	N.	"	±	±	2.5 × 10 ⁸
N.	"	+	K.	"	-	+	0.9 × 10 ⁸
O.	胃 潰 瘍	+	N.	脳 腫 瘍	-	+	8 × 10 ⁸
O.	"	+	K.	脳 出 血	-	-	6 × 10 ⁸
S.	"	-	S.	腸 癒 着	-	+	5 × 10 ⁸
O. } 十二指腸潰瘍		±	A.	胃 癌	+	+	3.8 × 10 ⁸
H. } 胃 癌		±	M.	"	-	+	3.8 × 10 ⁸
J.	胃 潰 瘍	±	M.	乳 癌	±	±	3.8 × 10 ⁸
J.	"	±	K.	細網肉腫	+	+	14.7 × 10 ⁸
O.	胃 癌	-	S.	"	-	+	"
O.	"	-	T.	"	±	±	"
O.	"	-	O.	胃 潰 瘍	-	+	2.9 × 10 ⁸
S.	胃 潰 瘍	+	N.	"	+	+	
N. } 胃 癌		-	K.	"	-	+	
K. } ポリープ		-					
N. } "		-					
K. } "		-					

表 6 Methylcholanthrene (MC) 誘発肉腫抽出物による自家マウス皮内反応

マウス	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
コントロール	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{1 \times 1}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{1 \times 2}$	$\frac{0}{0}$
10万G. 上清	$\frac{+}{2 \times 3}$	$\frac{+}{2 \times 1}$	$\frac{+}{1 \times 2}$	$\frac{+}{2 \times 2}$	$\frac{+}{3 \times 4}$	$\frac{0}{1 \times 2}$	$\frac{0}{1 \times 2}$	$\frac{0}{1 \times 1}$	$\frac{0}{2 \times 2}$	$\frac{+}{2 \times 2}$
10万G. 沈渣	$\frac{+}{4 \times 5}$	$\frac{+}{3 \times 3}$	$\frac{0}{2 \times 1}$	$\frac{+}{2 \times 2}$	$\frac{+}{3 \times 4}$	$\frac{+}{2 \times 2}$	$\frac{0}{1 \times 2}$	$\frac{+}{4 \times 3}$	$\frac{+}{3 \times 3}$	$\frac{+}{2 \times 3}$

+ : 硬結をしめす

では、写真3のごとく、沈渣分画に比し反応像が弱く、浮腫および細胞浸潤が少ない。同系他家肉腫抽出マウスにこれら分画を注射した場合の組織像は、自家注射の場合に比して一般的に反応が弱く、特に表皮に変化が少なく、多少の円形細胞の浸潤を認めるのみである。もちろん、対照液の注射ではかかる変化はほとんどみられていない。

第4章 総括並びに考按

すでに、癌患者においては、おそらく癌免疫の基本をなすと思われる遅延型アレルギーや移植免疫反応が低下していることを明らかにし、癌の進展度とある程度の相関のあることをのべてきた。しかるに、臨床的には稀れには腫瘍の自然治癒のみられること⁶⁾あるいは主病巣の切除後転移巣がときに自然退縮したり、癌腫の進行が外見上階段状に悪化したり、あるいはCanceremiaともいうほどの大量の癌細胞がリンパ管や流血中に撒布されていても、転移巣形成に至るものは極めて少ないということなどは宿主の癌にたいする抵抗の存在を思わしめるものである。さらに、自家移植癌の生着率が意外に低いこと⁷⁾、リンパ球様細胞の癌巣周囲への浸潤の強い乳癌やその他の癌は、しからざるものに比し予後が良いということ、および末期癌患者より腫瘍と末梢血白血球を採りだし、癌細胞と末梢血白血球とを混和して定量的に癌原発患者の皮下に移植すると、末梢血白血球数の多いもの程、癌の移植率および増殖速度が低いこと、すなわち、42症例中半数に白血球混和により腫瘍増殖が抑えられたというSouthamら⁸⁾の報告は、リンパ系細胞を介してかなり末期に至つてもなおかつ宿主は自己の癌にたいして抗腫瘍性(免疫反応)をしめしているということを推測せしめるものである。免疫学的手段で癌の増殖を抑制しようと

する試みは極めて多くなされ、興味あるところであるが、癌細胞にのみ存在して宿主に欠けている癌個々の抗原が存在するという想定の上に立つているが、現在までのところ人癌に特異抗原があるという点で万人を承服せしめる報告は皆無といえよう。Zilberら⁹⁾は人癌抽出物(一種の核蛋白)でモルモットを感作しておき、引きつづいて正常組織抽出物で脱感作後、さらに最初に感作に用いた人癌抽出物で攻撃するとアナフィラサシーがおこることより、この人癌抽出物中には癌特異抗原があるとのべている。Graham & Graham¹⁰⁾は癌患者自身の腫瘍抽出物を用いて自己の血清との間に補体結合反応をおこしたところ、48例中12例に陽性反応をえたとのべている。Finneyら¹¹⁾は自己の腫瘍の生理的食塩水抽出物と血清を反応せしめて沈降反応のおこることをしめしている。その他多くの癌免疫の研究は、癌腫抽出物とその血清を用いておこなわれたin vitroの研究が多い。

前述したが、Black & Speer¹²⁾によつてしめされたように、癌巣がリンパ球によつて強く取り巻かれたものは予後が良いというが、その組織像は遅延型の免疫反応や同種移植片の拒否反応の像に非常に良く似ており、癌の特異抗原に宿主の感作リンパ球が反応する。いわゆる細胞性免疫反応の像をしめしていると思わせるに十分である。しかも、症例によつて反応像に強弱の差があることより、癌はそれぞれ質的に、量的に相異なる抗原を有しているものと想像されよう。他方、Brentら¹³⁾はdonorよりの細胞下成分を感作recipientの皮内に注射するとツベルクリンアレルギー様の遅延型反応がおこることをしめしている。かかる背景をもとにして、癌患者が自己あるいは他人の癌組織の細胞下成分を皮内注射された場合、遅延型アレルギー様反応が起るかどうか

かを主として胃癌患者を用いて検討したわけである。まず、いかなる方法で癌抗原を抽出すればよいのか極めて問題になるところであるが、教室の田井¹⁴⁾は剔出胃癌組織を -40°C にプールして Fluorocarbon 処理してえた抽出物が、かなり高い胃癌特異性を有しているということ Ouchterlony 法で明らかにし、癌抗原がミクロソーム分画や可溶性分画中に含まれている可能性が強いと報告している。これらを参考にして、人胃癌をプールし、種々の方法で抽出物を調整したが、他人よりの胃癌抽出物を皮内注射したのでは有意の反応が全くあらわれない。人癌がおたがいに、methylcholanthrene 誘発肉腫のごとく独立した別個の抗原をもち、共通抗原のないためか、あるいは凍結保存したためか、あるいは抽出法が不適当であつたためであろう。Zilber ら¹⁵⁾は人癌にあつては癌共通抗原とそれぞれの癌に個有な特異抗原のあることをしめしているが、最近おこなわれている *in vitro* の組織培養法による研究では、人癌では共通抗原の存在することは少ないという結果がえられつつある。癌免疫が属していると思われる同種移植免疫の組織適合性抗原は凍結融解により抗原性が失なわれることが広く知られている。組織適合性抗原に似た癌特異抗原が凍結保存により皮内反応を惹起する抗原性を失活したと考えた方が良くもしい。もちろん、田井の Fluorocarbon 処理抗原は沈降抗原であり、これが皮内反応抗原や抗移植抗原やその他の抗原といかなる関係があるのか全く不明である。ホルマリン中に保存した場合にも有意の皮内反応を惹起する抗原からえられていない。武田¹⁶⁾によると、5%ホルマリン水溶液中に腫瘍を数日間保存しておくで腫瘍型に特有な抗移植性抗原のみが残るといふ。

Hughes & Lytton¹⁷⁾は手術時に切除した悪性腫瘍組織とその発生母地である対応の正常組織、たとえば胃癌組織と正常胃粘膜を別々に Waring blender で homogenize し、超音波にかけて細胞膜を完全に破壊し、2500g 10分間遠心して細胞膜を残余の組織を除いている。その上澄を 26,000g 60分間超遠心して細胞質成分を抽出し皮内反応抗原用に供している。この抽出物を 0.1 ml づつ癌患の皮内に自家注射後 10分、1時間、3日間毎と観察して、8 mm 経以上の発赤腫脹が注射24時間後に出現すると、これを陽性と判定している。陽性反応局所の組織標本を3人より採取しているが、本論文の methylcholanthrene 誘発肉腫でみた像と大約一致する反応像をえ

ている。浮腫、壊死、リンパ球や好中球の血管周囲への強い浸潤がこれで遅延型アレルギー性病変に即時型反応が混在しているという。40人の悪性腫瘍患者のうち、1/4に遅延型皮内反応があらわれ、少数例に即時型反応がえられたという。これらの所見は本論文でえた自家癌組織抽出物での皮内反応にも一致している。数例の抽出物について細菌培養をしたが、菌の発育はみられず、一応細菌の混入による皮内反応は否定されよう。MC-誘発肉腫をラットにつくり、腫瘍の結紮開放により強化免疫をなし、自家癌移植にたいする抗移植性をみているが、その程度に高・中・低の3段階があり、抗移植性の程度は癌細胞自体の抗原の多量によるという。発癌ラットの再発および人工転移実験では、低抗原癌では、強化免疫しても増殖、再発、転移がみられ、中等度抗原癌では増殖抑制、腫瘍の消失があり、高抗原癌では再発転移が速かに消失するという¹⁸⁾。これと関連して、自家抗原の皮内反応実験で、皮内反応を強く惹起した癌組織抽出物がしからざる抽出物よりも抗移植性が高いかどうか明らかにされなくてはならないが、今回の実験からは判断ができない。また患者例の免疫反応系の年令的変動、癌の進行度なども考慮して皮内反応を判読する必要がある。多数のプールした癌組織抽出物では有意の結果はえられなかつたが、陽性をしめた患者のリンパ節細胞で陰性の患者に皮内反応が passive transfer しようということは、この皮内反応が免疫機作によるものであることを裏付けているものといえよう。

癌細胞のいかなる細胞下成分に癌特異抗原が含まれているのか不明であるが、ラットの DBA 肝癌のミクロソーム分画の不溶性脂蛋白で免疫しておくで DBA による発癌が抑えられるという Maisin¹⁹⁾の報告や、田井¹⁴⁾の報告や、あるいは同種移植組織適合性抗原が細胞膜やミクロソーム分画にあるという知見および今回の皮内反応が 100,000 g 沈渣分画に最も強くあらわれたという点より考えると、人癌特異抗原はおそらく細胞の膜成分に多く含まれているものと思われる。

自家癌抽出物で、遅延型の皮内反応が有意の差をもつてあらわれたという事実は、癌の免疫療法にたいする可能性を支持するものであり、癌と宿主の関係をつベルクリンアレルギーや同種移植免疫の立場より解明しても大過ないという証拠を提供するものである。

第5章 結 語

1) 15人の胃癌患者より胃癌組織を集め、そのまま -40°C に凍結保存するか5%ホルマリン液に1週間 4°C に保存したものを出発材料にして、Fluorocarbon 処理にて抗原を抽出し、皮内反応をおこなったが、いずれの場合も癌群、非癌群の間に有意の差はみられなかった。

2) この Fluorocarbon 抽出抗原に陽性反応をしめた donor の腹腔内リンパ節細胞を陰性反応をしめた recipient に移入すると、この抗原にたいして陽転してくる。すなわち、passive transfer が成立する。

3) 胃癌患者より切除した癌腫をただちに処理してえた 100,000 g, 遠心沈渣分画を、同一患者に自家注射すると10例中8例に遅延型皮内反応があらわ

れた。100,000 g 上澄分画にても軽度の反応がみられた。

4) methylcholanthrene (MC) 誘発肉腫を遠心心かけ、100,000 g 沈渣分画と上澄分画に分けて、肉腫原発マウスの皮内に注射すると10匹中8匹に前者において硬結があり、後者では10匹中6匹に硬結がみられた。皮膚組織像は遅延型皮内反応に即時型反応が混在する所見であつた。

(稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜つた田中早苗教授に深甚の謝意を表すると共に、本実験に御援助を載いた折田講師ならびに田中外科東研究室の諸兄に心より感謝の意を表する)

(本論文の要旨は第16回日本アレルギー学会総会第4回日本癌治療学会総会において発表)

文

- 1) Hara, S. : cellular antibody in mice bearing Ehrlich cancer. I. A quantitative study on antitumor activity of cellular antibody in vitro. Acta Med. Okayama 19 : 91-98 (1965)
- 2) Satoh, K. : In vitro studies on tumor-specific immunity by using C₃H mammary cancer A-cells. I. Inhibitory effect of lymph node cells from the tumor bearing isologous C₃H mouse on the proliferation of the tumor cells. Acta Med. Okayama 20 : 261-268 (1966)
- 3) Klein, G., Sjögren, H.O., Klein, E. N Hellström K. E. : Demonstration of resistance against methyecholanthrene induced sarcomas in the primary autochthonous host. cancer Res. 20 : 1591-1572 (1960)
- 4) 大内清太, 小野慶一 : 涉化器癌対策の問題点. 外科 26 : 34-47 (1964)
- 5) Coe, J. E., Feldman, J. D. N Lee, S. : Immunologic competence of thoracic duct cells. I. Delayed hypersensitivity. J. Exr Med. 123 : 267-281 (1966)
- 6) Everson, T. C. : Spontaneous regression of cancer Ann. N. Y. Acad. Sci. 144 : 721-735 (1964)
- 7) Southam, C. M. N Brunshwig, A. : Quantitative studies of autotransplantation of human cancer. preliminary report. cancer 14 : 971-978

献

- (1961)
- 8) Southam, C. M., Brunshwig, A., Levin, A. G., & Dizon, Q. S. : Effect of leukocytes on transplantability of human cancer. Cancer 19 : 1743-1753 (1966)
- 9) Zilber, L. A. : Some aspects of antitumor immunity Neoplasma 6 : 337-352 (1959)
- 10) Graham, J. B. & Graham, R. M. : Antibodies elicited by cancer in patients. Cancer 8 : 409-416 (1955)
- 11) Finney, J. W., Byers, E. H. & Wilson, R. H. : Studies in tumor auto-immunity. Cancer Res. 20 : 351-356 (1960)
- 12) Black, M. M., Kerpe, S., & Speer, F. D. : cymphnode structure in patients with cancer of the breast. Am. J. Path. 29 : 505-517 (1953)
- 13) Brent, L., Brown, J., & Medawar, P. B. : Skin transplantoin immunity in relation to hyperseusitivity Lancet ii : 561-564 (1958)
- 14) Tai, Chi. : Immunochemical analysis of antigenic properties of human stomach cancer. Acta med, okayama 19 : 19-39 (1965)
- 15) Zilber, L. A. : Study of the tumor specificity of gastric cancer tissue. Ann. N. Y. Acad. Sci. 101 : 265-270 (1962)
- 16) 武田勝男 : 癌と免疫癌研究の進歩, 医学書院

- 369-385 (1956)
- 17) Hughes, L. E. & Lytton, B. : Antigenic properties of human tumors : Delayed cutaneous hypersensitivity reactions. *Brit. med. J.* 1 : 209-212 (1964)
- 18) 武田勝男 : 癌の免疫, 第17回日本医学会総会. (1967)
- 19) Maisin, J. H. F. : Immunoprophylaxis of induced experimental hepatoma. *Nature* 202 : 202-203 (1964)

Studies on Delayed Type Allergy in Cancer-Bearing Body

Part 3. Delayed allergic skin reaction and Passive Transfer with Extract From Cancer Tissue

Takeshi KANBARA

Department of Surgery Okayama University Medical School Okayama Japan

(Director : Prof. Sanae Tanaka)

ABSTRACT

1) With stomach cancer tissue obtained from 15 cancer-bearing patients, either immediately frozen as it is at 40° C and preserved, or fixed in 5 % formalin solution and stored for one week at 4° C as the starting materials, antigen was extracted by fluorocarbon treatment. With the antigen so obtained the skin reaction was observed by intradermal injection of the antigen. As the result it was found that there was no significant difference in the skin reaction between cancer-bearing patients and non-cancer bearing group.

2) When intraperitoneal lymphoid cells from the patient (donor) showing positive skin reaction to this fluorocarbon extracted antigen were transplanted to the patient (recipient) showing negative skin reaction to the antigen, the recipient turned positive to the antigen. In other words, there was established passive transfer.

3) When the sediment obtained by centrifugation at 100,000 g of the tumor tissue of stomach cancer patient was injected to the same patient, there could be observed delayed type of allergic skin reaction in 8 out of 10 patients. Even with similar injection of the supernatant fraction of the stomach cancer tissue after the centrifugation (delayed allergic).

4) After the intradermal injections of the sediment fraction obtained by centrifugation of methylcholanthrene-induced sarcoma (MC-induced) tissue at 100,000 g to MC-sarcoma-bearing animals, there was observed induration in 8 out of 10 animals injected with the sediment fraction, whereas it was seen in 6 out of ten animals injected with the supernatant fraction. Histological picture of these animals revealed delayed allergic reaction, indicating the co-existence of immediate type reaction.

神原論文附図

写真1 100,000 g, 沈渣分画 (Microsome 分画) による皮内反応

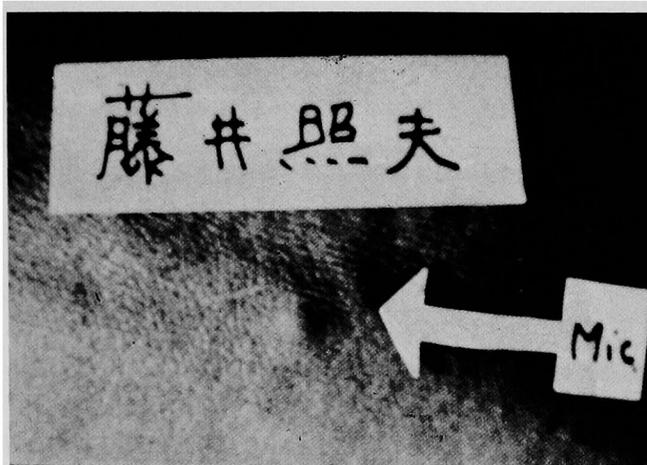


写真2 100,000 g, 沈渣分画による皮内反応 (MC—誘発肉腫)

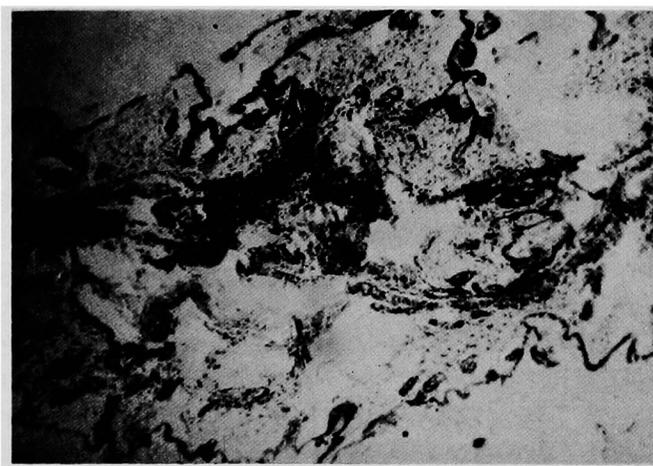


写真3 100,000 g, 上澄分画による皮内反応 (MC—誘発肉腫)

