



Title	マウスにおける細胞性腫瘍免疫能に対する放射線の効果
Author(s)	山下, 孝
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1981, 41(9), p. 887-893
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16290
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

マウスにおける細胞性腫瘍免疫能に対する放射線の効果

東京慈恵会医科大学放射線医学教室

山下 孝

(昭和56年3月3日受付)

(昭和56年5月15日最終原稿受付特別掲載)

The Effect of Local Tumor Irradiation on Cell-Mediated Tumor Immunity in Tumor-Bearing Mice

Takashi Yamashita

Department of Radiology The Jikei University School of Medicine

Research Cord No.: 405 Radiation immunology

Key Words: Winn Assay, KN-78 cell BALB/c, Radiotherapy, Spleen lymphocyte

The effect of inoculation of spleen lymphocytes derived from tumor-bearing mice irradiated locally to tumor on the ability to suppress tumor incidences of syngeneic mice was studied on sarcoma to be grown in the leg of BALB/c mice using Winn assay. The tumor-specific cytotoxicity of spleen lymphocytes was most distinct when the spleen lymphocytes taken out on the 7th day after irradiation with the dose of 1000 rad or more from the tumor-bearing mice locally irradiated on tumors of the size of 8 mm in diameter was given, and even when the 15 mm diameter's tumor was used, the cytotoxicity of spleen lymphocytes was activated after x-irradiation of the tumor. Suppression of tumor incidence was clearer in the group inoculated tumor cells and lymphocytes in the ratio of 1:200 compared with the ratio 1:50. These results suggest that tumor specific immunopotential can be obtained by local x-irradiation to tumors.

序 文

免疫反応に対する放射線効果の研究の多くは全身照射によってなされており、局所照射が免疫反応に及ぼす効果に関する報告は少ない¹⁾²⁾。しかし、近年の腫瘍免疫学の進歩と放射線治療学の発展によって、癌病巣部への局所照射が腫瘍免疫に及ぼす影響が徐々に解明されつつあるが、放射線を利用した免疫療法の臨床的応用までには至っていない。

一方、放射線生物学研究によって種々の線量-効果関係が示されている³⁾。しかし、in vitro の放射線生物学から推定される腫瘍致死線量と、in vivo 実験系での腫瘍致死線量および臨床的腫瘍

致死線量を比べてみると、生体内で照射した方が治療線量が少ないという事実があり、望月は実験系および臨床で、放射線照射の直接効果としての腫瘍細胞致死とそれ以外の照射によって生ずる間接的な因子によって起こる細胞死の存在を示唆している⁴⁾。

以上の事実から、担癌生体の癌腫瘍部が局所照射を受けた場合の放射線の作用を解析するには、単にその部分の組織、癌細胞の放射線照射によって起こる死の面からだけではなく、癌細胞の死によって生じたと思われる担癌生体の免疫能、殊に細胞性免疫能の関与を考慮に入れる必要があると考えられる。一方、放射線治療の免疫能に及ぼす

影響に関する研究は、基礎的並びに臨床的に多数行なわれているが⁵⁾⁶⁾、多くは癌特異免疫能に関してではなく、非特異免疫能を調べることににより間接的に癌特異免疫能を推測している。しかし、土屋は neutrizing method を用い、また Morosonらは Micro cytotoxicity Assay により、腫瘍を照射された担癌生体の脾リンパ球に特異的腫瘍細胞致死効果の増強があることを認めている⁷⁾。

本論文は、主に中和試験、すなわち Winn Assay を用いて、担癌生体の脾細胞が放射線照射によっていかに特異的腫瘍細胞致死効果の増強を示すかを検討したので報告する。

方 法

1. 実験動物および腫瘍

実験動物は静岡実験動物農業協同組合より購入した BALB/C マウスの生後6～8週の雄を用いた。Winn Assay は脾細胞採取用に1～3匹、移植マウス用に3～5匹のマウスを用いた。

腫瘍は BALB/C 由来の fibroblast をウイルスにより発癌させた KN-78腫瘍（癌研ウイルス腫瘍部、井川博士より恵与）を用いた。この腫瘍は中等度の免疫原性を持ち、試験管内培養が可能であり、又、BALB/C マウスに移植して維持することもできるが、本実験では試験管内で培養したものを⁸⁾用いた。しかし、細胞は₂HeLa cell に比べ、ガラス面への付着力は弱い。中和試験ではまず BALB/C マウスの後下肢皮下に $10^4 \sim 10^5 / 0.05 \sim 0.1$ cc の腫瘍細胞を移植して、8～10日後に8～15mm の大きさに達した時に、照射あるいは腫瘍の増殖率の測定などを行って実験に用いた。腫瘍細胞は、Falcon 3012にて継代培養を行なっている KN-78細胞を0.1%トリプシン液にて浮遊させ、McCoy's 5A 培養液+10%仔牛血清にて希釈し、トリパンブルー染色液で死細胞を分別し(90%以上生細胞)、生細胞数を Coulter Counter にて算定した上、必要濃度に McCoy's 5A で調整して用いた。腫瘍細胞の移植細胞数は $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ であり、腫瘍移植率100%の腫瘍細胞数は 1×10^5 であった。

2. X線照射法

照射は治療用 4MV X線発生装置 (Siemens 社 Mevatron 60) のX線を用いて、約1cmのポラスをおき、1000rad/min の線量率による1回局所照射である。尚、照射は麻酔はしないで、マウス固定装置を用い腫瘍を移植した下腿だけに必要線量を照射した。線量測定はマウスの固定装置の照射足の部にラドコン線量計を置き、あらかじめ線量を実測し、各照射毎には測定していない。また Winn Assay において、腫瘍の移植前にマウスの全身照射は特に行なわなかった。

3. 腫瘍計測法

腫瘍の増殖率などをみるために腫瘍の大きさをカリパーにて測定した。体積で腫瘍の大きさを示す報告もあるが⁹⁾、腫瘍の長径と短径を測定し、その積により大きさを表現した。したがって、腫瘍の大きさは面積の単位となっている。

4. 脾細胞採取法

脾細胞浮遊液は PBS の入っているシャーレにマウスの脾臓を無菌的に取り出して入れ、鋭にて細切し、ステンレスの金網を通過させた後、遠沈した(1000rpm 5min)。遠沈した細胞のうち、赤血球を溶血し、白血球だけとした後、PBS にて2回洗浄して必要に応じた細胞濃度に調整して用いた。その際、マクロファージは除去しなかった。主にリンパ球なので結果ではリンパ球と表現した。

5. 中和法実験—Winn Assay

中和法は、腫瘍に対する宿主の細胞性免疫反応の特異性を検討するための方法で¹⁰⁾、Fig. 1 の模式図に示すような順序で実験した。すなわち、皮下に移植したマウスの腫瘍が8～15mm の腫瘤として触知された時(移植後7～13日目)、X線の局所照射を行い、一定の期間を経た後に、腫瘍の増殖が抑制されたマウスの脾臓を取り、その腫瘍細胞と脾臓細胞とを、1:50または1:200の比率で混合し、無処置の正常マウスの後下肢皮下に移植した。もし脾細胞に抗腫瘍性免疫活性があれば、腫瘍の増殖は抑制される。対照としては、

(1) 腫瘍細胞だけ、(2) 腫瘍細胞に正常マウスの脾細胞を加えたもの、(3) 腫瘍細胞に非照

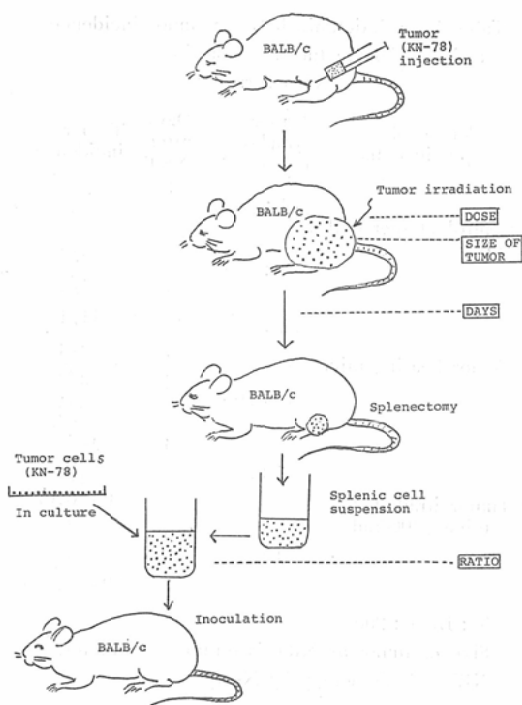


Fig. 1 Schema of the procedure of Winn Assay

射担癌マウスの脾細胞を加えたものを用いた。Fig. 1 に示したように、すなわち、線量、腫瘍の大きさ、脾摘出までの日数、及び2種の細胞の混合の割合が免疫反応にどのように関わるかを検討した。

結 果

先ず移植細胞数と腫瘍増殖率の関係を調べるため、Fig. 2 に示すように $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5 / 0.05\text{ml}$ の腫瘍細胞を移植し、その増殖率を調べた。腫瘍は移植後3週間までに触知しない場合は、生着しなかったと考えてよいと思われる。また、一旦触知した腫瘍が自然退縮することはなく、腫瘍が生着した場合、全例が癌死し、死亡したマウスの30~40%に肺転移がみられた。

研究の目的は担癌生体の腫瘍に照射することにより、使用した実験系で脾臓細胞が抗腫瘍性を示すか否かであるので、予備実験として Table 1 に示すように、腫瘍が8mm 直径に触知した時に照射し、照射後14日目に採取した脾細胞を、腫瘍細胞と共に他の正常マウスの大腿部に移入して

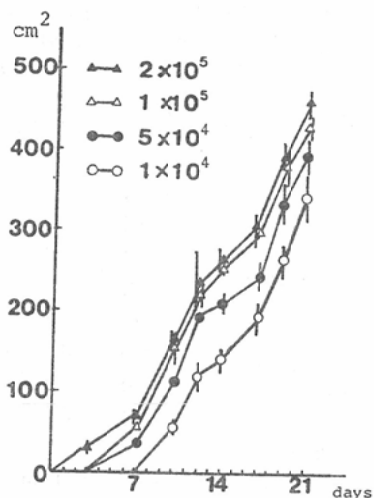


Fig. 2 Tumor growth curve

Table 1 Enhanced lymphocyte-mediated killing of tumor cells after irradiation in vivo —Winn Assay—

Tumor cell	2/2	P=0.1
Tumor cell + 4000rad XRT (in vivo) Spleen lymph (T : L = 1 : 200) # of Tumor cell $1.8 \times 10^5 / 0.1\text{cc}$ Lymph cell $3.6 \times 10^7 / 0.1\text{cc}$ (Spleen cell tested 14 days after XRT) XRT: Radiotherapy by X-ray	0/3	

調べた。その結果、脾細胞を共に入れた群は腫瘍が発育してこなかった。すなわち、この実験系でも脾細胞に抗腫瘍効果の起こることが判明したので、以下のことを調べる必要が生じた。

- (1) 照射後脾細胞採取時期—照射後脾細胞の効果発現時期とその効果持続期間。
- (2) Winn Assay の際の腫瘍細胞と脾細胞数の比。
- (3) 線量—担癌マウスの腫瘍局所への照射線量、線量依存性の有無
- (4) 腫瘍照射時の腫瘍の大きさ。

実際の実験の順序とは異なるが、上記の順にその結果をまとめて述べる。(1)~(4)の結果を表わす表は、分母に Winn Assay のマウスの匹数、分子に腫瘍を形成したマウスの匹数を示す。

Table 2 Relationship between number of tumor incidence and days after XRT
—Winn Assay—

Source of splenic cells	Days after XRT	Tumor incidence
control (Tumor cell only)	1 day	4/4
	7 days	4/4
	13 days	5/5
Tumor bearing mice	1 day	4/4
	7 days	4/4
	13 days	5/5
Tumor irradiated mice (4000rad)	1 day	3/4
	7 days	1/8(P=0.01)
	13 days	3/5(P=0.1)

T : L = 1 : 200

Size of tumor at XRT is 8 mm in diameter.

XRT : Radiotherapy by X-ray

1. 照射後脾細胞採取時期

腫瘍細胞移植後、腫瘍が 8 ± 1 mmの腫瘤を形成した時に4000rad一回照射し、照射後1日目、7日目、14日目にマウスの脾臓から脾細胞を採取し、腫瘍細胞と脾リンパ球の比を1 : 200にして、Winn Assayを行い、3週目に判定した結果をTable 2に示した。

対照として用いた群、すなわち(1)腫瘍細胞(T)のみの群、(2)照射されていない担癌マウスの脾細胞(L)をT : L = 1 : 200で加えた群は全て腫瘍が発育した。一方、照射された担癌マウスの脾細胞を1 : 200で加えた群においては、照射後の日数で見ると、1日目では抗腫瘍効果は弱く、4匹中3匹において腫瘍の発生をみたが、照射後7日目の群では8匹中1匹だけに腫瘍の発生をみた。また、照射後13日目の群では5匹中3匹に腫瘍の発生をみた。すなわち、照射後7日目の脾リンパ球に最も強い抗腫瘍効果がみられた。更に13日目以降は対照マウスが死亡するため、実験を行えなかった。

2. 腫瘍細胞と脾リンパ球の細胞比

腫瘍細胞移植後、腫瘍が直径 8 ± 1 mmの大きさの腫瘤を形成したとき、4000rad一回照射し、照射後1日目と7日目に脾細胞を採取し、腫瘍細胞と脾リンパ球の比を1 : 50および1 : 200にし

Table 3 Relationship between tumor incidence and lymphocyte tumor cell ratio
—Winn Assay—

Source of splenic cells	Tumor lymphocyte Ratio	Days after XRT	Tumor incidence
Control (tumor cell only)	1 : 50	1	5/5
		7	4/4
	1 : 200	1	4/4
		7	4/4
Tumor bearing mice	1 : 50	1	11/11
		7	4/4
	1 : 200	1	4/4
		7	4/4
Tumor irradiated mice (4000rad)	1 : 50	1	10/10
		7	1/4 (P=0.07)
	1 : 200	1	3/4
		7	1/8 (P=0.01)

T : L = 1 : 200

Size of tumor at XRT is 8 mm in diameter.

XRT : Radiotherapy by X-ray

てWinn Assayを行い、3週目に判定した結果をTable 3に示した。

腫瘍細胞と脾リンパ球細胞の比が1 : 50の場合、照射後1日目では10匹中10匹に、7日目の群は4匹中1匹に腫瘍の発生をみた。また、腫瘍細胞と脾リンパ球の比が1 : 200の場合、照射後1日目では4匹中3匹に腫瘍の発生を認め、照射後7日目では8匹中1匹に腫瘍の発生をみた。これらの結果は、腫瘍細胞と脾リンパ球の比は大きい方がいい傾向を示しているように思われるが統計学的有意差は認められない。

3. 線量との関係

次に癌腫瘍局所を照射することにより、担癌マウスの脾リンパ球の抗腫瘍性獲得には、照射線量が関与するか否かを調べるため次の実験を行った。実験条件は前述の1、2とほぼ同じで、腫瘍移植後、腫瘍が 8 ± 1 mmの大きさに達した時、種々の線量で腫瘍部を照射し、腫瘍細胞と脾リンパ球の比を1 : 200にしてWinn Assayを行い、3週目に判定をした。Table 4に示すように200radでも若干の効果は認められるが、照射線量が

Table 4 Relationship between tumor incidence and dose —Winn Assay—

Source of splenic cells	Tumor incidence
Control (tumor cell only)	6/6
Normal mice	4/4
Tumor bearing mice	4/4
Tumor irradiated mice (200 rad)	2/4
Tumor irradiated mice (1000 rad)	1/4 (P=0.07)
Tumor irradiated mice (2000 rad)	0/4
Tumor irradiated mice (4000 rad)	1/8 (P=0.01)

T : L = 1 : 200

7 days after XRT

Size of tumor at XRT : 8 mm in diameter
3 weeks after inoculation

XRT : Radiotherapy by X-ray

Table 5 Tumor size at XRT and Splenectomy

	XRT tumor size (cm ²)	Splenectomy tumor size (cm ²)
0 rad	36	240
200 rad	30 ± 0	289 ± 1
1000 rad	60 ± 4	249 ± 93
4000 rad	65 ± 16	181 ± 11

XRT : Radiotherapy by X-ray

1000rad を越すと抗腫瘍効果の明らかな増強が認められる。Table 4 には結果を示していないが、照射後13日目では4000rad 照射群にのみ抗腫瘍効果が認められた。

また、Table 5 に照射時の腫瘍の大きさと、照射後7日目すなわち脾細胞採取時の腫瘍の大きさを面積の単位で示した。4000rad 照射後でも照射後1週目では腫瘍は消失せず、X線照射時より大きくなっている。しかし、長期の観察により4000rad 照射後腫瘍が治癒したマウスでも認められているので、4000rad 照射後一週目は腫瘍が縮小しつつある時期であると考えられる。

4. 照射時の腫瘍の大きさ

腫瘍移植後照射時の腫瘍の大きさが、抗腫瘍効

Table 6 Relationship between number of tumor incidence and size of tumor at XRT

—Winn Assay—

Source of splenic cells	Size of tumor (mm in diameter)	Tumor incidence
control (Tumor cell only)	8	4/4
	15	4/4
Tumor irradiated mice (4000rad)	8	0/4 (P=0.01)
	15	0/4 (P=0.01)

T : L = 1 : 200

7 days after XRT

XRT : Radiotherapy by X-ray

果にいかに関与を及ぼすかを8±1mm 直径の腫瘍と15±1mm の大きさの腫瘍の2種について検討し、その結果をTable 6 に示した。Table 6 に示す通り、この2種の大きさの腫瘍については腫瘍の大きさと抗腫瘍効果との関連は認められなかった。

考 案

担癌宿主の自己の腫瘍に対する特異的免疫能を臨床的に検索するための確実な方法が見出されていないため、実験系、特に移植腫瘍系で多くの報告がなされている¹¹⁾。実験系腫瘍で François らは腫瘍が小さい間は、担癌宿主が腹腔細胞に対し抗腫瘍性のあることを見出しているが、腫瘍がある一定の大きさ以上になると“eclipse” (日食) という表現で示して、その抗腫瘍性が消失することも報告している¹²⁾¹³⁾。eclipse という状態は Höllström 一派が microcytotoxicity assay で示している blocking factor の出現と一致するのかも知れない¹⁴⁾。

人癌の抗腫瘍免疫の測定には in vitro microcytotoxicity assay の他に腫瘍病理学者により、腫瘍局所の状態を観察することから免疫能を推測する方法がある¹⁵⁾。例えば、菊地らは人癌組織において、癌細胞周囲のリンパ系細胞反応の強い腫瘍は予後が良いと報告し¹⁶⁾、また下里らは放射線照射された腫瘍組織にリンパ球様細胞浸潤が著明になるほど予後が良いと報告している¹⁷⁾。仙道らもリ

ンパ球細胞浸潤だけでなく、炎症細胞に抗腫瘍効果を認めている¹⁸⁾¹⁹⁾。これらの報告から癌腫瘍局所においては放射線照射により担癌宿主の抗腫瘍反応が増強していることは明らかである。

本研究は免疫中枢の一翼を担っている脾臓細胞が、担癌生体の腫瘍局所を照射することにより、いかなる反応を起すかを調べるために行われたものである。照射線量を4000rad、腫瘍細胞と脾リンパ球の比を1:50とし、Morosonらの主張する照射後1日目の脾細胞による実験では、脾リンパ球の抗腫瘍性を証明できなかった⁷⁾。そこで、照射後1週目の脾細胞を用い、腫瘍細胞と脾リンパ球の比を1:200として実験を行ったところ、強い抗腫瘍性が認められ、Winn Assayにおいて腫瘍の発生は全くみられなかった。

これらの実験結果は担癌生体の癌腫瘍を照射することにより、照射されていない脾臓細胞に抗腫瘍性が生じることを示しているが、更に、何らかの情報が照射野外の脾臓にもたらされた結果、脾臓細胞の抗腫瘍性が生じたことを示唆している。そこで照射線量、照射時の腫瘍の大きさ、照射後の抗腫瘍効果の消長について検討を加えた結果、次のような結論が得られた。

1) 照射後の抗腫瘍効果発現の時期について

照射後1週間後に最も抗腫瘍性の強い発現をみたが、通常、細胞性免疫能を獲得するのに要する時間は7日前後であり、本実験は免疫学的にも是認されると考えられる。3週間以上経過した実験は今回行っていないが、検討の必要があると思われる。

2) 腫瘍細胞(T)と脾リンパ球(L)の比との関連

Winn AssayにおいてT:Lの比が1:200ぐらい必要であるといわれ、今回の実験結果も200は必要であることを示している。しかし、実際に腫瘍細胞1個に対し200個のリンパ球が付着することは考え難いので、その理由については説明できない。混合した脾細胞のうち、ある細胞集団が抗腫瘍効果を示しているとも考えられ、必ずしも抗腫瘍効果のeffector cellをcytotoxic T cellと

は断言できない²³⁾。

3) 照射線量と抗腫瘍効果との関連

照射線量が脾細胞の抗腫瘍効果にいかなる影響を与えるかは、免疫学的効果の線量依存性の問題と関係し、また腫瘍の破壊により流出すると思われる抗原様物質の量も考慮しなければならない。そこで照射線量を色々と変えてみたところ、抗腫瘍効果を得るにはある量以上の照射線量を必要とするように思われる。

4) 照射時の腫瘍の大きさとの関連

腫瘍がある程度以上大きくなると、担癌生体の抗腫瘍免疫が低下することは移植腫瘍系ではよく知られており、また臨床的にも細胞性免疫能が進行期の癌患者において低下することは、近年の多数の報告が示す如くである。我々は照射時の腫瘍の大きさが免疫能にどのように影響するかについて検討したが、マウスでeclipsed periodになっていると思われる腫瘍が直径15mmでも4000radの照射により、Winn Assayにて腫瘍の増殖を抑える結果を得た。この結果は照射によりeclipsed periodになった担癌生体の免疫能を回復できることを示唆しているのかもしれない。

5) 治療への応用の可能性

以上1)~4)まで種々の条件について考察を加えてみると、腫瘍の大きさに関係なく、照射線量は2000rad以上、照射後7日目位に、担癌マウスは自己の腫瘍に対し抗腫瘍性を惹起することが判明した。しかし、実際の担癌生体の腫瘍抑制にこの脾リンパ球が十分な効果を発揮していない。つまり、免疫を介した抗腫瘍効果は非常に弱く、 10^8 個の細胞を殺すことが精一杯ではないかと考えられる。その原因は数年来提起されているBlocking factorに帰因するか²⁴⁾、また近年のsuppressor T cellに帰因するかは未だ分らないが²⁵⁾²⁶⁾、本実験において確認された放射線療法で脾細胞の抗腫瘍効果をうまく利用した特異的免疫療法の開発に向けて実験を進めて行く予定である。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を頂きました望月幸夫教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究に有益な御助言を頂きました産業医大・土屋武彦教授、ならび

に御協力頂いた日本女子大・深沢浩子, 石川木美子両嬢及び慈恵医大放射線科・早川幸子, 加治屋潤子両嬢に深く感謝いたします。

本論文の要旨は, 第39, 40回日本医学放射線学会総会において発表した。

文 献

- 1) Markoe, A.M.: The effects of combined radiation therapy and chemotherapy on the immune response. *Prog. Exp. Tumor Res.* 25, pp. 219—228, 1980, S. Karger, Basel.
- 2) 土屋武彦: 局所照射における免疫作用の役割. *日本医放会誌*, 36: 922—929, 1976
- 3) Hall, E.J.: Cell—survival curves. (In) *Radiology for the Radiologist*. Second ed. pp. 29—62, 1978, Harper and Row Publishs. New York.
- 4) 望月幸夫: 私信
- 5) 折田薫三: 癌患者におけるT細胞の機能テストとその診断的意義. *臨床科学*, 10: 268—279, 1974
- 6) 安元公正, 真鍋英夫, 豊平 謙, 大田満夫, 野本亀久雄: Cytotoxicity. *癌の臨床*, 24: 969—972, 1978
- 7) Moroson, H., Nowakowski, J. and Schechter, M.: Enhanced lymphocyte-mediated Killing of tumor cells after tumor irradiation in vivo. *Int. J. Radiat. Biol.* 33: 473—482, 1978
- 8) Ikawa, Y., Brescia, T.Jr., Johnson, R.K. and Goldin, A.: Chemotherapeutic response of epithelial tumors produced by primary implantation of nonproducer line of murine sarcoma virus-transformed BALB/3T3 cells. *Cancer Chemother. Rep.* 57: 149—158, 1973
- 9) Frindel, E., Malaise, E.P. Alpen, E. and Tubiara, B.: Kinetics of cell proliferation of an experimental tumor. *Cancer Res.* 27: 1122—1131, 1967
- 10) 石館 基: 中和試験による腫瘍移植抗原の検出. 免疫実験操作法Ⅱ. 細胞抗原Ⅳの8, pp. 384—389, 1972, 日本免疫学会, 金沢
- 11) 相沢 幹: 腫瘍抗原の免疫学的特異性. (In) 小林 博, 橋 武彦編: 腫瘍免疫学, pp. 19—25, 1974, 朝倉書店, 東京
- 12) Le François, D., Youn, J.K., Belehradek, J. Jr. and Barski, G.: Evolution of cell-mediated immunity in mice bearing tumors produced by a mammary carcinoma cell line. Influence of tumor growth, surgical removal, and treatment with irradiated tumor cells. *J. Nat. Cancer Inst.* 46: 981—987, 1971
- 13) Le François, D., Troise, G.D., Chavaudra, N., Malaise, E.P. and Barski, G.: Comparative effect of local radiotherapy and surgery on cell-mediated immunity against a mouse transplantable mammary tumor. *In. J. Cancer*: 13: 629—639, 1974
- 14) Helström, I., Hellström, K.E. and Sjögren, H.O.: Serum mediated inhibition of cellular immunity to methylcholanthrene-induced murine sarcomas. *Cell. Immunology* 1: 18—30, 1970
- 15) Bean, M.A., Pees, H., Fogh, J.E., Grabstald, H. and Oettgen, H.F.: Cytotoxicity of lymphocytes from patients with cancer of the urinary bladder: Detection by a ³H-proline microcytotoxicity test. *Int. J. Cancer* 14: 186—197, 1974
- 16) 菊地浩吉, 井口 進: 発癌と担癌における癌免疫. *臨床科学*, 15: 1435—1440, 1979
- 17) 大星章一, 下里幸雄, 板倉克明, 梅垣洋一郎: 癌放射線療法の病理. *医学のあゆみ*, 61: 725—730, 1967
- 18) Nakayama, M., Sendo, F., Miyake, S., Fuyama, S. Arai, S. and Kobayashi, H.: Nonspecific inhibition of tumor growth by allo-sensitized lymphocyte. I. Participation of polymorphonuclear leucocytes. *Int. Immunol.* 120: 619, 1978
- 19) Robins, R.A., Flannery, G.R. and Baldwin, R. W.: Tumour-derived lymphoid cells prevent tumour growth in Winn assay. *Br. J. Cancer* 40: 946—949, 1979
- 20) McCredie, J.A., Inch, W.R. and Cowin, H. C.: Effect of excision or local radiotherapy to a tumor and its regional nodes on metastasis. *Cancer* 31: 983—987, 1973
- 21) 福島 博: 骨肉腫に対する長期大線量放射線療法. *日本整外会誌*, 53: 61—79, 1979
- 22) Milas, L., Hunter, N. and Withers, H.R.: Concomitant immunity to pulmonary metastases of a murine fibrosarcoma: By radiation or surgery, of active specific immunization and treatment with corynebacterium granulorum. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 1: 1171—1178, 1976
- 23) 山下 昭: 脾臓リンパ球に関して. *細胞*, 11: 337—346, 1979
- 24) Currin, G.A. and Basham, C.: Serum mediated inhibition of the immunological reactions of the patient to his own tumor: A possible role for circulating antigen. *J. Cancer* 26: 427—438, 1972
- 25) Berendt, M.J. and North, R.J.: T-cell-mediated suppression of anti-tumor immunity. *J. Exp. Med.* 151: 69—80, 1980
- 26) Fujimoto, S., Matsuzawa, T., Nakagawa, K. and Tada, T.: Cellular interaction between cytotoxic and suppressor T cells against syngeneic tumors in the mouse. *Cell. Immunol.* 38: 378—387, 1978