



Title	前照射部位に移植したマウス線維肉腫よりの自然肺転移とOK-432による抑制効果
Author(s)	伊東, 久夫; 熊谷, 英夫; 植松, 稔 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1988, 48(10), p. 1261-1268
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16757
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

前照射部位に移植したマウス線維肉腫よりの 自然肺転移とOK-432による抑制効果

慶應義塾大学医学部放射線科学教室

伊東 久夫 熊谷 英夫 植松 稔
中山 俊威 橋本 省三

（昭和63年3月11日受付）

（昭和63年5月9日最終原稿受付）

Effect of OK-432 on Spontaneous Lung Metastases from Murine Fibrosarcoma in the Preirradiated Tissue

Hisao Ito, Hideo Kumagaya, Munori Uematsu, Toshitake Nakayama
and Shozo Hashimoto

Department of Radiology, Keio University, School of Medicine

Research Code No. : 407

Key Words : Spontaneous lung metastasis, OK-432,
Tumor bed effect

Experiments were designed to investigate the effect of locally administered OK-432 on the spontaneous lung metastases, which developed from a murine fibrosarcoma (NFSa) transplanted subcutaneously in the preirradiated right thighs of C₃H mice. Lung metastases were mostly determined with amputation of the tumor-bearing legs. When the mouse thighs were locally irradiated of 20 Gy one day before tumor transplantation, the tumor growth was slightly retarded. Furthermore, the higher frequency and more numbers of lung metastases were seen in the preirradiated mice than the no-irradiated ones, being compared at the same tumor sizes.

When lung metastases from NFSa tumors in the 20 Gy preirradiated legs were determined at the 17th day after tumor grew to the size of 11 mm in diameter, the frequency of lung metastases was 100% and the mean number of the metastatic nodules in the lung was 10.2 ± 1.8. On the other hand, the frequency and the number were 67% and 5.4 ± 1.2, respectively, in mice which were preirradiated and given OK-432 (2.5 KE) locally at the 5th and 12th days after tumor transplantation. When mice were given OK-432, as is described above, and amputated the tumor-bearing legs at the 17th day after tumor transplantation, the frequency of lung metastases was 31%, compared to 80% in mice which were amputated legs without OK-432. These results suggest that OK-432 is effective to reduce spontaneous lung metastases from the NFSa tumor in the preirradiated legs.

はじめに

現在、癌治療における最大の課題の1つは遠隔転移と考えられる。転移の機序を解明するための研究は細胞生物学的研究¹⁾から生化学的研究²⁾に、さらに遺伝子の問題³⁾へと進み、最新の技術や手

段を用いて、幾多の試みが行なわれているが、今だ明確な結論は得られていない。

癌転移の発生時期と腫瘍サイズの関係も明確ではない。例えば、子宮頸癌では、局所腫瘍の進行に比例して転移の頻度が高くなると報告されてい

る⁴⁾。このような場合には、腫瘍の増殖に伴なって、転移がランダムに発生している可能性を示唆している⁵⁾。一方、大腸・直腸癌の場合は、小さなサイズの腫瘍の方が高頻度に転移が認められ、腫瘍増殖と転移の発生は別個のものとされている⁶⁾。すなわち、腫瘍の転移は増殖と関係なく、腫瘍内に高転移性癌細胞が出現するか否かに依存し⁷⁾、この細胞が存在すると、腫瘍は小さくても転移をおこすので、多くの場合、腫瘍が発見される前にすでに転移が発生していると提唱されている⁸⁾。したがって、いずれの考え方の場合にも、積極的な転移の予防が可能なのは、再発腫瘍に対してであろう。すなわち、もし初回治療時に転移がなければ、初回治療に引き続き転移の予防を行なうことにより、再発腫瘍中に出現した高転移性癌細胞による転移でも、予防できる可能性がある。

癌の局所療法である放射線治療により、局所腫瘍の制御率は向上してきているが、治療後照射野内に腫瘍が再発することも、しばしば経験される。本研究は、前照射した部位に移植した実験腫瘍を用いて、照射野内で発育する腫瘍からの遠隔転移の発生と腫瘍サイズの関係、および免疫賦活剤による転移の抑制効果について検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験材料と実験方法

1. 実験動物と移植腫瘍

本実験に用いた動物はすべて、C₃H オス・マウスで、静岡実験動物研究センターより 8 週齢で購入し、クリーンラックで 5 ~ 7 日間飼育後、実験に供した。

移植腫瘍は C₃H マウスに自然発生した線維肉腫(NFSa)を用いた。液体窒素下に凍結保存しておいたものをマウス皮下に移植し、直径 2cm の時点で外科的に切除した。摘出した腫瘍より壞死部分を除去し、トリプシン処理により単一細胞浮遊液を作製した。トリパンブルーによる腫瘍細胞の viability は約 90% であった。腫瘍細胞はマウスの右大腿部皮下に、2~3 × 10⁵/mouse を移植した。移植後、ノギスを用いて腫瘍径の 3 方向を週 3 回以上計測し、3 腫瘍径の平均値を腫瘍サイズとした。

2. 自然肺転移

本研究では、1 つの実験を除いてすべて、NFSa 腫瘍を移植した右下肢を切断して腫瘍を除去し、腫瘍除去の時点までに発生した自然肺転移について検討した。

右下肢の切断時期には、以下の 2 通りの方法を用いた(Fig. 1A)。すなわち、(1) 腫瘍移植後 9, 13, 17 日目に切断し、腫瘍の存在期間と転移の関係を検討した、(2) 腫瘍サイズが 7, 9, 11, 13mm に達した時点で切断し、各腫瘍サイズと転移の関係を検討した、の 2 方法である。右下肢の切断は、60mg/kg のペントバルビタール麻酔下に、右大腿部根部より切断して局所の腫瘍を完全に除去した。下肢の切断時までに発生した自然肺転移巣は、肉眼的に算定できるようにするために、切断後 18 日間転移巣が増殖するのを待って、マウスを殺し肺を剥出した。

下肢の切断を行なわない場合は、腫瘍サイズが 11mm に達した時点より、さらに 17 日間飼育を続けてからマウスを殺し、肺を剥出した (Fig. 1, B)。

剥出した肺はブアン液にて固定し、肺表面に認められる転移結節数を肉眼的に算定した。

3. 薬剤

OK-432 (中外製薬(株)より供与された) は、50KE/vial の中に生理食塩水を 0.4ml 注入して溶解し、腫瘍部の皮下にマイクロシリンジを用いて、0.02ml (2.5KE) を局注した。OK-432 の投与時期は、腫瘍移植後 5 日目、または 12 日目とし、実験によっては 5, 12 日目の 2 回投与した。

4. 放射線照射

腫瘍の移植を行なう右下肢を、移植前日に前照射した。放射線照射は、6MeV リナック電子線(三菱 ML6MA) を線量率 3Gy/min にて用い、20Gy 照射した。すべての照射は、マウスを固定具に固定して無麻酔下に行なった。照射時、右下肢上に 5mm 厚の水等価物質(フローテーション・ベット・パット、サクラ医療器) を bolus として載せ、右下肢のみを局所的に照射した。

5. 統計的評価

本研究では、実験結果の評価は主にノンパラメ

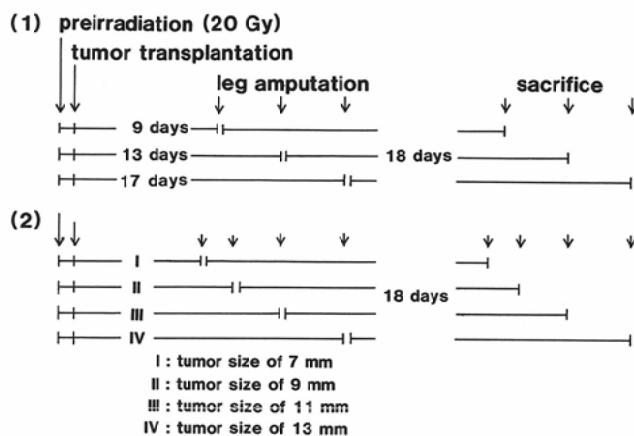
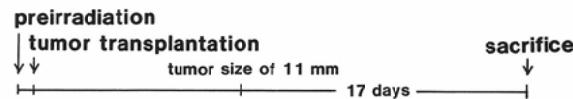
A) Leg Amputation**B) No Leg Amputation**

Fig. 1 Schema of determination of Spontaneous lung metastases.

ティック Mann-Whitney U テストを用いた。標本数が20を超える場合はt検定を行なった。P値が0.05あるいはそれ以下の場合は、それぞれの群の間に有意差があると判定した。

実験結果**1. 腫瘍サイズと自然肺転移**

腫瘍移植部に移植前日20Gyの前照射を行なった場合、腫瘍の発育に前照射が及ぼす影響を検討するため腫瘍の増殖曲線を作製し、Fig. 2に示した。前照射部位に移植されたNFSa腫瘍は、無照射対照群に比べてやや発育が遅延した。この発育遅延が自然肺転移の発生に及ぼす影響を検討するため、前照射群と無照射対照群で腫瘍の移植後同一期経過時と、腫瘍が同一サイズに達した時に、右下肢を切断して腫瘍を除去し肺転移を検討した。

前照射群と無照射群のいずれも、腫瘍移植後9, 13, 17日に下肢を切断した場合、切断時の腫瘍サイズと肺転移結節数の関係をFig. 3に示した。前照射群は腫瘍サイズが9mmを、無照射群は10mmを超えると肺転移が出現し、いずれの群でも腫瘍サイズが大きくなると、転移の頻度も上昇した。Table 1にはそれぞれの下肢切断時における

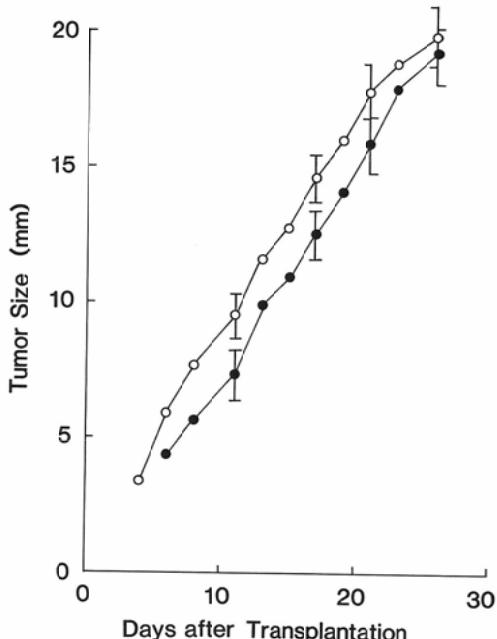


Fig. 2 Growth of NFSa tumor in the preirradiated tissue. Mice were given injections of 3×10^5 NFSa cells into the right thighs, which were either untreated or irradiated with 20Gy single dose of electron beams 1 day earlier. The curves trace growth in untreated (○) and preirradiated mice (●).

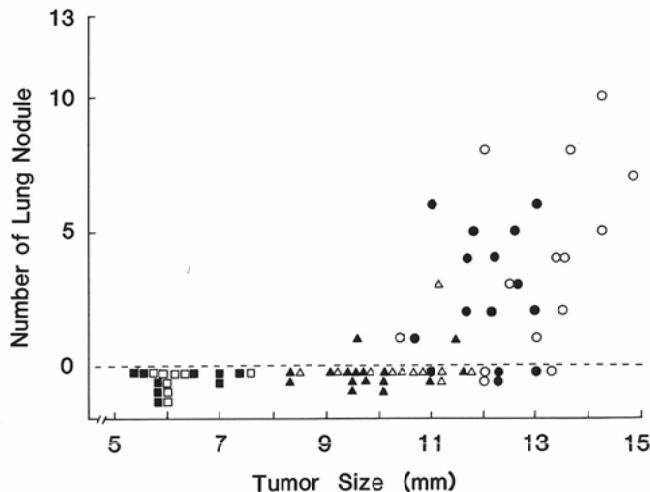


Fig. 3 Relationship between number of lung nodules and tumor size at amputation. Mice were transplanted 3×10^5 NFSa cells in the right thighs which were either untreated (open symbols) or irradiated with 20Gy single dose of electron beams (closed symbols). The tumor-bearing legs were amputated at 9(□■), 13(△▲) or 17 days (○●) after tumor transplantation in both groups. Mice were killed 18 days after leg amputation and the numbers of lung nodules were scored macroscopically.

Table 1 Effect of preirradiation of tumor bed on lung metastasis, which were determined at each interval from tumor transplantation to leg amputation

Intervals between tumor transplantation and leg amputation(days)*	Tumor size at amputation(mm) (mean±S.E.)	Incidence of metastasis	Number of metastasis (mean±S.E.)
9 no irradiation	6.2±0.2	0/8	0
20Gy preirradiation	6.2±0.3	0/9	0
13 no irradiation	10.3±0.3	1/11	0.3±0.3
20Gy preirradiation	9.8±0.2**	2/17	0.3±0.1
17 no irradiation	12.9±0.3	11/14	3.8±0.8
20Gy preirradiation	12.0±0.2**	11/15	2.7±0.6

* Tumor-bearing legs were amputated at 9, 13 or 17 days after tumor transplantation and numbers of lung nodules were determined 18 days after leg amputation both in no-irradiated and 20Gy preirradiated mice.

** The difference between no-irradiated and preirradiated groups is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.05$)

平均腫瘍サイズと転移の頻度をまとめて示してある。腫瘍移植後13、および17日目における腫瘍サイズは、前照射群では無照射群より有意に小さかったが、転移の頻度と肺転移結節数には有意が認められなかった。すなわち、腫瘍移植後の同一時期における比較では、前照射を行なったマウスは小さな腫瘍サイズで、無照射群と同程度の転移

をおこした。

腫瘍移植後、腫瘍サイズが7, 9, 11, 13mmに達したところで下肢を切断し、移植から切断までの日数と肺転移の頻度をTable 2に示した。いずれの腫瘍サイズにおいても、前照射群は腫瘍の発育遅延がみられ、無照射群と同一サイズに達するのに多くの日数を要した。腫瘍サイズが9mm以

Table 2 Effect of preirradiation of tumor bed on lung metastasis, which were determined at each tumor size

Tumor size at leg amputation(mm)*	Intervals between tumor transplantation and leg amputation(days) (mean±S.E.)	Incidence of metastasis	Number of metastasis (mean±S.E.)
7 no irradiation	8.0±0.3	0/6	0
20Gy preirradiation	9.0±0.4**	0/5	0
9 no irradiation	10.3±0.4	0/7	0
20Gy preirradiation	12.7±0.5**	0/7	0
11 no irradiation	12.9±0.4	2/8	0.5±0.3
20Gy preirradiation	14.9±0.3**	6/9**	1.1±0.4**
13 no irradiation	15.6±0.3	6/8	2.5±0.9
20Gy preirradiation	17.3±0.3**	6/9	1.9±0.8

* Tumor-bearing legs were amputated at the tumor size of 7, 9, 11 and 13mm in diameter and numbers of lung nodules were determined 18 days after leg amputation both in non-irradiated and 20Gy preirradiated mice.

** The difference between no-irradiated and preirradiated groups is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.05$)

Table 3 Effect of OK-432 on lung metastasis in mice with preirradiation*

Treatment	Days to reach 11mm (mean±S.E.)	Tumor size at killed(mm) (mean±S.E.)	Incidence of metastasis	Number of metastasis (mean±S.E.)
no treatment	16.1±0.8	20.5±0.7	12/12	10.2±1.8
OK-432 at day 5**	16.5±0.6	22.3±0.9	11/11	8.5±1.4
OK-432 at day 12	17.0±0.5	21.2±0.9	9/11	7.3±2.0
OK-432 at day 5&12	17.2±0.5	20.4±0.6	8/12	3.9±1.2***

* Mice with 20Gy preirradiation were killed 17 days after tumors reached 11mm in diameter.

** OK-432 was given locally into the normal tissue around the tumor in the dose of 2.5 KE

*** The difference between no treatment and OK-432 groups is significant by Mann-Whitney U test ($p < 0.05$)

下では転移は認められず、11mmの場合は、前照射群に高頻度に転移がみられた。

2. OK-432の投与法と転移

OK-432の投与を行なった実験では、すべてのマウスに腫瘍移植前日20Gyの前照射を行なった。OK-432(2.5KE)の投与法が転移に及ぼす影響の検討は、腫瘍移植後5日目あるいは12日目に薬剤を1回投与した群と、5、12日目の2回投与した群の3群を用いた。本検討では、下肢の切断は行なわず、腫瘍が11mmに達した時点から17日後に肺を剥出し、肺転移結節数を算定した(Table 3)。

OK-432投与群は非投与対照群に比べて、腫瘍の

発育が多少遷延し、腫瘍が11mmに達するまでの日数が長くなっているが有意差はなかった。肺転移の頻度は、無治療群に比べてOK-432を2回投与した群で低下したが有意ではなかった。しかし、転移結節数はOK-432を投与すると減少し、特に、腫瘍移植後5、12日目の2回投与群では、他のいずれの群に対しても有意に減少していた。

3. OK-432の転移抑制作用

下肢を切断せずに全経過中腫瘍が存在した場合は、OK-432を2回投与することにより転移結節数は減少したが、転移頻度はあまり減少しなかった。本検討では、前照射部位に移植した腫瘍を、移植

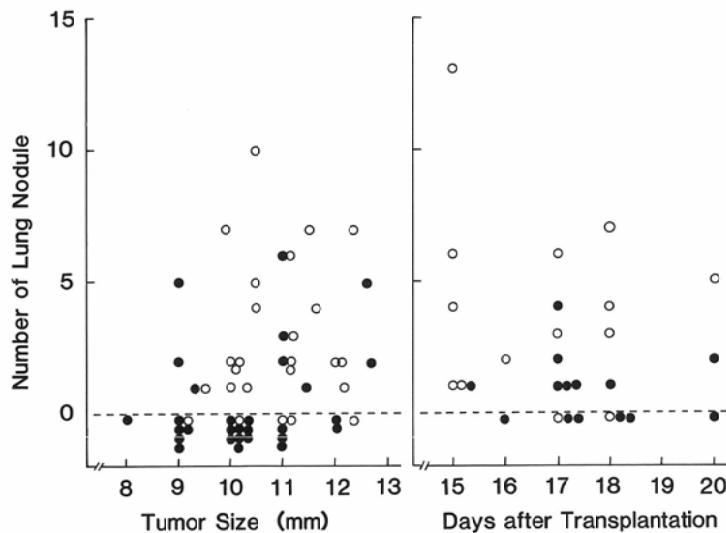


Fig. 4 Relationship between number of lung nodules and either tumor size at amputation or interval from tumor transplantation to leg amputation. Mice were given injections of NFSa cells into the right thighs which were irradiated with 20Gy single dose of electron beams 1 day earlier. The tumor-bearing legs were amputated either 17 days after tumor transplantation (left) or when tumors reached 11mm in diameter (right). Mice were sacrificed 18 days after leg amputation and the numbers of lung nodules were scored macroscopically in either mice without OK-432 (○) or with OK-432 at 5 and 12 days after tumor transplantation (●).

17日後あるいは腫瘍サイズ11mmにて切除した。OK-432(2.5KE)の投与は、腫瘍移植後5および12日の2回行なった。

腫瘍移植後17日目に下肢を切断して腫瘍を除去した群において、切断時の腫瘍サイズと肺転移結節数の関係をFig. 4(左)に示した。OK-432投与群は31% (9/29) に転移が認められたが、無治療対照群の80% (20/25) に比べて、転移の頻度は有意に減少した。しかし、下肢切断時の平均腫瘍サイズは、無治療群の 10.9 ± 0.2 mmに比べてOK-432投与群は 10.2 ± 0.2 mmと小さかった。OK-432による局所腫瘍の増抑制が、転移頻度を減少させている可能性がある。すなわち、腫瘍移植17日目の下肢切断時における腫瘍サイズが11mm未満の場合は、OK-432投与群の転移頻度は17% (3/18)で、無治療群の83% (10/12)と著しく異なる。一方、11mm以上では、OK-432投与群の転移頻度は55% (6/11)と上昇し、無治療群の73% (8/11)

と有意差がなかった。

OK-432による腫瘍増殖抑制により、転移頻度が減少したのか否かを検討するため、腫瘍が11mmに達したところで腫瘍を除去して、11mmに達するまでに要した日数と肺転移結節数の関係をFig. 4(右)に示した。OK-432投与群は、腫瘍移植後平均 17.4 ± 0.36 日に下肢の切断を行ない、転移頻度は57% (8/14)、平均肺転移結節数 0.93 ± 0.30 であった。一方、無治療群は 16.7 ± 0.42 日後に切断を行ない、転移頻度と平均結節数はそれぞれ、86% (12/14) と 3.9 ± 0.94 であった。同一腫瘍サイズで両群を比較した場合は、肺転移の頻度に有意差は認められなかったが、転移結節数はOK-432投与群で有意に減少した。

考 察

前照射を行なった部位に移植した腫瘍は、無照射正常組織に移植した腫瘍より発育が遅延する現象は、tumor bed effect (TBE) として知られて

いる⁹⁾。前照射を行なった部位に移植した腫瘍よりの自然肺転移は、無照射部位の腫瘍と同一腫瘍サイズにおいて比較すると、高頻度に発生すると報告されている¹⁰⁾。今回の検討に用いたNFSa腫瘍は、あまり著明なTBEは示さない¹¹⁾。しかし、適当なサイズで下肢を切断して腫瘍を除去し、それ以前に発生している自然肺転移を検討してみると、前照射群は無照射群に比べて、小さな腫瘍サイズで高頻度に転移をおこしていた。一方、腫瘍移植後の期間が同一の場合は、転移の頻度に差異がなかった。すなわち、本腫瘍は、腫瘍サイズが約10mmを越えると転移が発生するが、腫瘍サイズとともに、腫瘍移植後の期間も転移の発生に重要な因子となっている。

同一腫瘍サイズで比較した場合、前照射群の転移の頻度が高くなる原因として、照射により正常組織の血管やリンパ管の透過性が亢進し¹²⁾¹³⁾、転移を促進する可能性が示唆されている。我々はTBEにより腫瘍の発育が遅延するため、無照射群と同一サイズに達するのに長時間を必要とし、転移の発生する機会が多くなることも一因と考えているが、正確な機序は不明である。

OK-432は臨床的にもよく用いられるbiological response modifier (BRM) の1つで、腫瘍への局注により著明な効果が認められると報告されている¹⁴⁾。本研究は、腫瘍部位に局注した薬剤が全身転移の抑制にも有効か否かを検討するため、OK-432は局注した。BRMの効果を期待するには、薬剤の投与量と投与時間が重要であると報告されている¹⁵⁾。投与量はNFNa腫瘍に対するOK-432の抗腫瘍効果を検討した向井ら¹⁶⁾の研究に従って2.5KEを1時間間隔で2回投与した。投与時間は、移植腫瘍が局所に肉眼で確認できる腫瘍を形成する移植4日目以後で、転移が高頻度に発生する14日前とするため、移植後5日目と12日目に投与した。1回投与に比べて一定間隔において2回投与する方が、局所腫瘍に対する抗腫瘍効果が優れていると言われている¹⁶⁾が、転移の抑制の場合も同様の結果がみられた。OK-432の抗腫瘍効果を期待する場合、primingが必要であると考えられるが、その作用機序に関しては不明である。

BRMによる転移の抑制作用の研究は、多くの場合人工肺転移を用いて行なわれており、BRMの投与後に人工肺転移をおこすと、極めて強い転移抑制作用が認められている¹⁷⁾。しかし、人工肺転移と自然肺転移の実験結果の間には、しばしば矛盾したようにみえる結果が報告され¹⁸⁾、人工肺転移の抑制は必ずしも自然転移のモデルにはならないと考えられる。自然転移には宿主の腫瘍細胞への作用や、転移発生機序への介在があるためと推測されている。

本実験では、腫瘍の存在した状態と腫瘍を切除し治療した状態で、OK-432の自然転移抑制作用を検討したが、いずれの場合にもOK-432は有效であった。OK-432の抗腫瘍作用として、直接作用¹⁹⁾と免疫系を介する間接作用が報告されている²⁰⁾、薬剤を局注した場合、薬剤が血中に入れて肺で直接作用する可能性も否定はできないが、(1) 薬剤投与より主に転移が発生すると思われる時点まで数日経過していること、(2) 1回投与では効果がないこと、(3) 局注した薬剤の局所腫瘍に対する作用も免疫系を介しておこると考えられること¹⁵⁾などより、転移抑制作用も免疫系を介した間接作用であろうと推測される。

局所の腫瘍細胞が遠隔転移をおこす過程として、(1) 局所の腫瘍細胞の性状の変化、(2) 肿瘍よりの離脱とリンパ液あるいは血液への流中、(3) 血中(リンパ液中)での宿主の免疫系細胞による攻撃、(4) 転移先での組織への侵入と生着などが考えられるが、OK-432がいずれの過程で作用しているのかの解明は、今後検討していく必要がある。

ま と め

NFSa腫瘍をC₃Hマウスの右大腿部皮下に移植し、この腫瘍からの自然肺転移について検討した。腫瘍移植前日、右下肢を局所的に20Gy照射しておくと、腫瘍の発育は遅延した。前照射群と無照射群において、腫瘍移植後同一時期に下肢を切断して肺転移を検討すると、いずれの群でも腫瘍の直径が約10mmを超えると肺転移が発生した。しかし、前照射群では小さな腫瘍サイズから高頻度に転移が認められた。

前照射マウスに移植した腫瘍の直径が11mm

に達した時点より17日後に肺転移を検討すると、転移の頻度は100%で、平均転移結節数は 10.2 ± 1.8 であった。一方、腫瘍移植後5、12日目にOK-432(2.5KE)を局注し、同様の検討を行なうと、転移頻度は67%，平均結節数は 5.4 ± 1.2 と減少した。同様の実験系を用いて、腫瘍移植17日後に下肢を切断し腫瘍を除去しておくと、OK-432投与群の肺転移頻度は31%となり、無治療群の80%より有意に減少した。以上のことより、OK-432は大腿部に移植した腫瘍よりの自然肺転移を抑制することがわかった。

本研究の一部は、文部省科学研究費(62770798)、成人病研究所記念財団研究助成金(昭和62年度)、資生会研究所助成金(理事長大島武雄)および伊藤テルミー研究助成金によったことを記して謝意を表する。

文献

- 1) Fidler IJ, Kripke ML: Metastasis results from preexisting variant cells within a malignant tumor. *Science* (Wash DC) 197: 893-895, 1977
- 2) Reading CL, Belloni PN, Nicolson GL: Selection and in vivo properties of lectin-attachment variations of malignant murine lymphosarcoma cell lines. *J Natl Cancer Inst* 64: 1241-1249, 1980
- 3) Nicolson GL, Labiche RA, Frazier M, et al: Differential expression of metastasis-associated with surface glycoproteins and mRNA in a murine large cell lymphoma. *J Cell Biochem* 31: 305-312, 1986
- 4) Hammond JA, Herson J, Freedman RS, et al: The impact of lymph node status on survival in cervical carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7: 1713-1718, 1981
- 5) Milas L, Peters LJ, Ito H: Spontaneous metastasis: Random or selective? *Clin Expl Metastasis* 1: 309-315, 1983
- 6) Miller W, Ota D, Giacco G, et al: Absence of relationship of size of primary colon carcinoma with metastasis and survival. *Clin Exp Metastasis* 3: 186-196, 1985
- 7) Nicolson GL: Cancer metastasis: Organ colonization and the cell surface properties of malignant cells. *Biochim Biophys Acta* 695: 113-176, 1982
- 8) 入村達郎: 肺転移の生化学、蛋白質・核酸・酵素, 32: 189-202, 1987
- 9) Hewitt HB, Blake HR: The growth of transplanted murine tumor in preirradiated sites. *Br J Cancer* 22: 808-823, 1968
- 10) Milas L, Hunter N, Peters LJ: The tumor bed effect: Dependence of tumor take, growth rate and metastasis on the time interval between irradiation and tumor cells transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 13: 379-383, 1987
- 11) Ito H, Barkley T Jr, Peters LJ, et al: Modification of tumor response to cyclophosphamide and irradiation by preirradiation of the tumor bed: Prolonged growth delay but reduced curability. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 11: 547-553, 1985
- 12) van der Brenk HSA, Crowe MC, Stone MG: Reactions of the tumor bed to lethally irradiated tumor cells and the Révész effect. *Br J Cancer* 36: 94-104, 1977
- 13) Rappaport DS, Brown JM: Influence of localized preinoculation irradiation of the foot on lymphatic metastasis from a primary tumor growing in the foot. *Radiat Res* 78: 108-121, 1979
- 14) 向井 稔、山崎義和、長尾孝一、他: 食道癌に対するOK-432の癌巣周辺投与と放射線の合併療法の経験、癌と化学療法, 10: 1700-1705, 1983
- 15) 向井 稔、安藤典一、小池幸子、他: C₈Hマウス線維肉腫(NFSa)に対するOK-432の局所投与と放射線の併用効果、癌と化学療法, 13: 3432-3435, 1986
- 16) 向井 稔: 私信
- 17) Milas L, Hunter N, Ito H, et al: Studies on the antitumor activities of pyrimidiuone-interferon inducers. Part 2. Potentiation of antitumor resistance mechanisms. *Clin Expl Metastasis* 1: 213-222, 1983
- 18) Suzuki N: Spontaneous versus artificial lung metastasis: Discrepant effect of whole-body irradiation in NFSa2ALM and NFSa1SLM tumor systems. *J Natl Cancer Inst* 71: 835-839, 1983
- 19) Ono T, Kurata S, Wakabayashi K, et al: Inhibitory effect of a streptococcal preparation (OK-432) on the nucleic acid synthesis in tumor cells in vitro. *Gann* 64: 56-69, 1973
- 20) Hojo H, Hashimoto Y: Cytotoxic cells induced in tumor bearing rats by a streptococcal preparation (OK-432). *Gann* 72: 692-699, 1981