

Title	マウス放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球サブセットのモノクローナル抗体による解析
Author(s)	広田, 佐栄子; 小川, 恭弘; 瀬口, 春道
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1986, 46(11), p. 1331-1349
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18457
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

マウス放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球サブセットの
モノクローナル抗体による解析

神戸大学医学部放射線医学教室 (主任：河野通雄教授)

広田 佐栄子

高知医科大学放射線医学教室 (主任：前田知穂教授)

小川 恭弘

高知医科大学第2解剖学教室

瀬口 春道

(昭和61年7月22日受付特別掲載)

(昭和61年8月29日最終原稿受付)

Analysis of Lymphocyte Subset Infiltrated into the Mouse Tumor
Tissue Exposed to Local Irradiation
—Histological Study Using Monoclonal Antibodies—

Saeko Hirota

Department of Radiology, Kobe University School of Medicine

(Director: Prof. Michio Kono)

Yasuhiro Ogawa

Department of Radiology, Kochi Medical School

(Director: Prof. Tomoho Maeda)

Harumichi Seguchi

Second Department of Anatomy, Kochi Medical School

Research Code No. : 405.9

Key Words : Monoclonal antibodies, Tumor-infiltrating
lymphocyte, Lymphocyte subset, PSK,
Radiotherapy

The subset changes of lymphocytes, infiltrated into the tumor tissue after irradiation, were analyzed using monoclonal antibodies and Avidin-Biotin-peroxidase-Complex method (ABC method). The effect of PSK administration was also analyzed.

MM46 tumor was inoculated into the right thigh of the C3H/He mouse (5×10^6 cells each), and irradiated with a single dose of 0, 10, 20, 30 and 40 Gy using 6 MeV electron beam 7 days after inoculation, with or without PSK administration, for 5 days in succession after irradiation.

The cryostat sections were stained by ABC method, using monoclonal anti-Thy 1.2, anti-Lyt-1, anti-Lyt-2, MAS110 (anti-L3T4), MAS034 (anti macrophage) and MAS053 (anti H-A I-A) antibodies and were classified into grades based on extents of lymphocyte infiltration on tumors, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after irradiation.

The microscopic observation revealed the intensive lymphocytic reactions in the irradiated tumor 7 days after irradiation, accompanied by the infiltration of Thy 1.2⁺ cells (marked), Lyt-1⁺ cells (marked), Lyt-2⁺ cells (moderate), MAS110⁺ cells (marked), MAS034⁺ cells (moderate) and MAS053⁺ cells

(moderate), whereas less reactions were seen in the non-irradiated tumor. PSK enhanced Thy 1.2⁺, Lyl-1⁺, Lyl-2⁺ and MAS110⁺ cells infiltration into 30~40 Gy irradiated tumor.

The results suggest that helper/inducer T subset is a major group of tumor-infiltrating lymphocytes after irradiation and that PSK inhibits irradiated tumor growth by the action of T lymphocytes and their subsets.

I. 結 言

近年、癌の治療効果に担宿主の免疫能の関与があることが認識されてきた。

癌に対する免疫機構の関与は古くより癌の自然治癒¹⁾、腎移植患者における高頻度の癌発生率²⁾³⁾、abscopal effect⁴⁾⁵⁾等の事象から推察されてきたが、更に、病理組織学的手法でヒト癌組織周辺にしばしば円形細胞浸潤が認められ、予後との相関も報告されるにいたり^{6)~8)}、癌治療における免疫機構の関与を示唆する具体的な傍証と考えられている。

一方、放射線治療は末梢血リンパ球数の減少^{9)~11)}、PHAの低下^{12)~14)}等患者に免疫抑制をもたらし、癌治療においてマイナスの側面を含んでいると永らく理解されてきた。しかし、放射線照射によって癌組織内のリンパ球浸潤が増強される場合のあること^{15)~18)}が報告され、必ずしも宿主の免疫抑制ばかりでなく増強の方向にも働きうることが示唆されてきた。

この放射線照射によって増強されるリンパ球細胞浸潤を詳しく解析する事は腫瘍免疫の側面を解明し、癌放射線治療をより効果的に施行するために必須であると考えられるが、この現象に対して深く検討を加えた報告は未だ極めて少ない。

我々は、これらの浸潤細胞のサブセットをマウス腫瘍を対象にモノクローナル抗体を用いて解析し、加えて臨床的にもしばしば用いられる免疫賦活剤であるPSKを併用したときの効果、及びその双方の場合の脾における変化もあわせて検討した。

II. 対象及び方法

1) 実験動物

Charles River社より購入した8週齢雌性のC3H/Heマウス(体重20±1g)を用いた。

2) 実験腫瘍

東北大学抗酸菌病研究所より供与され腹腔内継代移植にて維持したMM46腫瘍細胞 5×10^6 個を同系のC3H/Heマウス右大腿部に移植し(trypsin blue dye exclusion testにて95%のviability)固型腫瘍としたものを用いた。

3) 腫瘍組織浸潤細胞の照射後経時的变化の検討

20Gy(2,000rad)照射腫瘍について1, 3, 5, 7, 10, 14日目に腫瘍及び脾臓を摘出し免疫組織学的に検討した(各群6匹)。

4) 照射線量による腫瘍組織浸潤細胞の変化の検討

0, 10(1,000), 20(2,000), 30(3,000), 40(4,000) Gy(rad)1回局所照射後7日目に腫瘍組織及び脾臓を摘出し、前述の様な免疫組織学的検討に供した(各群10匹)。

5) 免疫賦活剤併用効果の検討

PSK 5% solution(呉羽化学より提供)を宮地ら¹⁹⁾の方法に従い250mg/kg/dayを照射翌日より5日連続にて腹腔内に投与し、照射後7日目の腫瘍組織及び脾臓について免疫組織学的検討に供した(各群6匹)。

同時にPSK併用、非併用の非照射および30Gy照射腫瘍につき照射後の腫瘍体積の推移を検討した(各群6匹)。

腫瘍体積はノギスにて測定された長径×短径×厚みを記録した。

6) 方法

a) 放射線照射

腫瘍移植後7日目に小川らが考案したマウス用放射線局所照射器具²⁰⁾を用い、40mg/kgのネブタール麻酔下で腫瘍局所に対し6MeV電子線(Linear accelerator ML-15M III, 線量率400R/min)にて1回照射を施行した。尚、照射局所に5mm厚のbolusを使用した。

b) 腫瘍組織

放射線照射後計画された日時後にマウスを屠殺し、腫瘍組織及び脾を摘出し、直ちに液体窒素中に凍結保存した。尚、腫瘍組織は周辺正常筋組織をつけてなるべく大きく摘出した。

c) モノクローナル抗体

T lymphocyte 及び T lymphocyte subset, macrophage 等を同定するために anti-Thy1.2, anti-Lyt-1, anti-Lyt-2, (以上 Becton Dickinson 社製), MAS110c, MAS034b, MAS053b (以上 sera-lab 社製) を用いた。anti-Thy1.2 はマウス Thy1.2 T lymphocyte 抗原と特異的に反応するラット IgG で (以下の抗体は全て抗マウスのラット IgG), 即ち、マウス T lymphocyte 及び胸線細胞と反応する²¹⁾。同様に anti-Lyt-1 は T lymphocyte と, anti-Lyt-2 は suppressor/cytotoxic T lymphocyte を識別する^{21)~23)}。MAS110c はマウス L3T4 抗原を識別, 即ち, helper/inducer T lymphocyte を識別する²⁴⁾。同様に, MAS034b はマウス macrophage²⁵⁾ を, MAS053b は HLA-DR, H-A I-A と即ち B lymphocyte, activated T lymphocyte を識別する²⁶⁾。すなわちマウス Lyt-1, L3T4, Lyt-2.3 はヒト T1, T4, T8 抗原に相当するといわれている。

d) 免疫ペルオキシダーゼ染色

本研究においては特異性及び感受性の優れた ABC 法を用いた。ABC 法は一次抗体, ビオチン化二次抗体と予め調整したアビジンビオチンペルオキシダーゼコンプレックス (Avidin Biotin peroxidase Complex) (“ABC”) を用いるものである。アビジンはビオチンに極めて高い親和性 ($10^{15} M^{-1}$) を有し, その結合は不可逆的である。ABC 法の第一段階は, 抗原に対する一次抗体 (ラット抗体) で組織切片をインキュベートし, 次にビオチン化抗ラット IgG のようなビオチン標識二次抗体を加える。その結果, ビオチン基が一次抗体の位置で組織切片上に導入され, 次にアビジン: ビオチン化ワサビペルオキシダーゼ複合体を加えると, ビオチン化二次抗体と結合し, 組織切片上の抗原位置は, ペルオキシダーゼ基質溶液中でインキュベートする事により確認できる²⁷⁾。本研究に

おいては Vector 社製 Vectastain™ ABC キット (PK4004) を用いて ABC 法を行った。

e) 染色操作法

①凍結標本からクライオスタットを用いて腫瘍組織および脾の厚みの中程のところで $6\mu m$ の連続切片を作成風乾, ②10分間アセトン固定しその後十分に風乾, ③切片を PBS (Phosphate Buffered Saline) 中にて10分間 incubation, ④組織切片を希釈正常血清 (Vectastain ABC キット) で室温で20分間 incubation (非特異的染色のブロック), ⑤組織切片より過剰の血清を除去, ⑥組織切片を PBS で希釈した各種一次抗体 (前記モノクローナル抗体を1切片当たり約 $1\mu g$) と室温で30分間 incubation, ⑦組織切片を PBS 中で10分間洗浄, ⑧組織切片を希釈ビオチン化抗体溶液 (Vectastain ABC キット) で30分間室温で incubation, ⑨組織切片を PBS 中で10分間洗浄, ⑩組織切片を室温で10分間 $0.3\% H_2O_2$ を含む PBS で incubation (内因性ペルオキシダーゼを不活化), ⑪組織切片を PBS 中で20分間洗浄, ⑫組織切片を ABC 試薬 (Vectastain ABC キット) で30分間室温で incubation, ⑬組織切片を PBS 中で10分間洗浄, ⑭組織切片をペルオキシダーゼ基質溶液 ($0.02\% H_2O_2$ と $0.1\% diaminobenzidine tetrahydrochloride$ 溶液を等量混合したもの) で5~10分間室温で incubation, ⑮組織切片を水道水で5分間洗浄, ⑯マイヤー・ヘマトキシリンでカウンター染色後封入検鏡。

尚、一次抗体を添加しない検体をコントロールとして作成した。

f) 写真撮影

光学顕微鏡 Nikon Optiphot と連動した撮影装置 Nikon UFX-II にて撮影を行った。

III. 結 果

1) 腫瘍組織浸潤細胞の検討

各種のモノクローナル抗体陽性細胞は DAB の反応生成物により黒褐色の環状 (細胞膜陽染) ないしびまん性に黒褐色調 (細胞質陽染) を呈する (Fig. 1)。

腫瘍組織内浸潤程度の判定は腫瘍と周辺正常組織との境界部の全周について行い, Shimokawara

らの分類²⁸⁾にしたがい、陽性細胞が認められないか極く僅かのもの none(-), 僅かに認められるもの slight(+), 中等度に認められるもの moderate(++) , 著明に認めるもの marked(###)に分類した。尚、一次抗体を添加していない検体をコントロールとして比較を行った。

① 腫瘍組織浸潤細胞の照射後経時的変化の検討

判定結果を Table 1 に示す。20Gy 照射腫瘍組織では照射後 1 日目では腫瘍細胞は軽度の膨化を示すものがみられるが腫瘍構築の乱れは無く細胞

浸潤もごく僅かであった。3 日目には腫瘍細胞は更に膨化し、異常分裂像も認められるようになり浸潤細胞も増多していた。この時期の浸潤細胞としては Thy1.2, Lyt-1, MAS110(L3T4), MAS053 陽性細胞が中等度、Lyt-2, MAS034 陽性細胞が軽度認められた。5 日目には腫瘍細胞は更に膨化し、細胞間隙もやや開大、7 日目には障害が更に進行し、多核巨細胞も出現、5 日目より浸潤細胞は急激に増多し、7 日目にはその程度はピークに達し腫瘍構築を分割するような浸潤形態を示した。浸潤細胞のサブセットは Thy1.2, Lyt-1, MAS110

Table 1 Transition of Scores of Immune Cells Infiltrated into Tumor Tissues according to Days after Irradiation : Exposed with a Single Dose of 20 Gy.

	a day after irradiat.					3 days after irradiat.					5 days after irradiat.							
	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total
Thy 1, 2 ⁺	4	1			1	6	1	4	1			6		2	3	1		6
Lyt-1 ⁺	5	1				6	1	5				6		3	3			6
Lyt-2 ⁺	5	1				6	1	5				6	3	2		1		6
MAS110 ⁺	6					6	4	1		1	6		2	4				6
MAS034 ⁺	4	2				6	4	2			6		1	5				6
MAS053 ⁺	5	1				6	5	1			6		4	2				6

	7 days after irradiat.					10 days after irradiat.					14 days after irradiat.							
	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total
Thy 1, 2 ⁺					10	10		4	2			6	4	2				6
Lyt-1 ⁺			1	8	1	10		4	2			6	4	2				6
Lyt-2 ⁺		1	8	1		10	1	5			6	2	4					6
MAS110 ⁺				9	1	10		4	2			6	5			1		6
MAS034 ⁺		2	8			10	4	2			6	6						6
MAS053 ⁺			9	1		10	3	2	1		6	4	2					6

- : none + : slight ++ : moderate ### : marked (Classification by Shimokawara)
* : poorly stained specimen

Table 2 Scores of Immune Cells Infiltrated into Tumor Tissues Treated with Radiotherapy only : 7 Days after Irradiation.

	0 Gy					10 Gy					20 Gy					30 Gy					40 Gy								
	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total	-	+	++	###	*	total					
Thy 1, 2 ⁺	8	2				10	1	8	1			10	1	8	1			10	3	6	1			10	3	6	1		10
Lyt-1 ⁺	10					10	1	9				10	1	8	1			10	3	6	1			10	6	3	1		10
Lyt-2 ⁺	8	1			1	10	3	7			10	1	8	1			10	6	4		10	1	6	2		1		10	
MAS110 ⁺	10					10	9			1	10		9	1			10	4	6		10	1	7	2		1		10	
MAS034 ⁺	6	3			1	10	3	7			10	2	8			10	2	7		1	10		6	4				10	
MAS053 ⁺	8	2				10	5	5			10	9	1			10	4	4		1	10		2	6	2			10	

- : none + : slight ++ : moderate ### : marked (Classification by Shimokawara)
* : poorly stained specimen

陽性細胞が中等度から著明浸潤, Lyt-2, MAS034 陽性細胞が軽度から中等度浸潤といずれも 3 日目より増多していた。10 日目には腫瘍細胞の融解壊死が増多, 14 日目には腫瘍細胞は間質に取り囲まれるように島状に残存するようになり, 浸潤細胞はむしろ 7 日目より減少, MAS034, MAS053 陽性細胞は余り減少せず, Thy1.2, Lyt-1, MAS110 (L3T4) 陽性細胞が減少の主体を占めていた。

② 放射線照射線量と浸潤細胞

①の検討において最も浸潤度の強かった放射線照射後 7 日目の腫瘍組織について照射線量ごとの浸潤細胞について検討した結果を Table 2 に示す。非照射腫瘍組織では腫瘍細胞は敷石状を呈し, 腫瘍周囲の正常筋組織との境界部に極くわずから部位によっては軽度の浸潤細胞を認めた (Fig. 2)。いずれのサブセットも同程度の浸潤度であり, 特に Lyt-2, MAS110 (L3T4) 陽性細胞に関してみてもほぼ同程度かやや Lyt-2 陽性細胞が優勢であった。

10Gy 照射腫瘍では一部の腫瘍細胞に膨化, 巨細胞化を認め, 浸潤細胞も非照射腫瘍に比し増多していた。いずれのサブセットも軽度の浸潤を呈していたが, Thy1.2, Lyt-1, MAS110 (L3T4) 陽性細胞がわずかに優勢であった。浸潤細胞は腫瘍辺縁に一樣に帯状には浸潤せず比較的厚く浸潤する部位と薄く浸潤する部位とが認められた。20 Gy 照射腫瘍では腫瘍細胞は前述のごとく障害が進行しおびただしい数の細胞浸潤を認め, 腫瘍組織を分断するかのような浸潤形態を呈していた。10Gy 照射組織同様非常に厚く浸潤している部分と比較的薄い部分があったもののその差は余り明瞭でなかった。また, Thy1.2, Lyt-1, MAS110 (L3T4) 陽性細胞が極めて優勢に浸潤し, 次いで MAS053 陽性細胞の浸潤度が高かった。MAS034, Lyt-2 陽性細胞も 10Gy (1,000rad) に比較して浸潤増多していたが中等度浸潤にとどまった (Fig. 3~5)。各陽性細胞はお互いに混じり合うようにほぼ一樣に浸潤していたが (diffuse infiltration) (Fig. 1) 所々に集簇的に (focal infiltration) 浸潤する部分も認められた。これらの集簇的に浸潤する細胞はほとんど Lyt-2 陰性,

MAS034 陰性で L3T4 陽性, MAS053 陽性細胞が多数を占めていた (Fig. 6)。これは 10Gy, 30Gy 照射腫瘍組織でも認められたが, 20Gy 照射腫瘍組織で最も顕著であった。細胞浸潤は腫瘍との境界部が最も高度ではあるが, 周辺筋組織内にも疎ではあるが散在性に各陽性細胞が認められた。膨化した腫瘍細胞に数個の MAS034 陽性細胞や Lyt-2 陽性細胞が直接接している像も認められた (Fig. 7)。

30Gy 照射腫瘍では腫瘍細胞の巨細胞化が 20Gy よりも更にすすみ, 細胞浸潤は 20Gy に比較すると全体に少なく, 腫瘍・正常組織境界部のみならず解離した腫瘍細胞間にも境界部から連続するように diffuse に浸潤を認めた。いずれのサブセットも軽度から中等度の浸潤で Thy1.2, Lyt-1, MAS110 (L3T4) がやや優勢ではあるが 20Gy 照射組織のように明瞭な差は認められなかった (Fig. 8)。40Gy ではほとんどの腫瘍細胞は巨細胞化し, 細胞間には解離しており腫瘍細胞と周囲正常筋組織との境界が判然としなくなり, 境界部と思われる部分や解離した腫瘍細胞間に 30Gy よりも更に少ない細胞浸潤を認めた。いずれのサブセットもほとんど同程度か MAS034, MAS053 陽性細胞がやや優勢であった。

③ PSK 投与群における照射線量と各陽性細胞浸潤

PSK 併用による影響を照射後 7 日目の腫瘍組織について検討した。検討結果は Table 3 に示す通りである。PSK 非投与群と比較すると 0Gy ~10Gy では Thy1.2, Lyt-1, Lyt-2, MAS110 (L3T4) 陽性細胞が併用群でやや多く浸潤している印象があったが明らかな変化ではなかった。20 Gy 照射腫瘍ではいずれのコンポーネントも強い浸潤を呈し, PSK 投与, 非投与群での差は明瞭でなかった。30~40Gy 照射腫瘍では PSK 併用群の方が Thy1.2, Lyt-1, Lyt-2, MAS110 (L3T4) 陽性細胞の浸潤度を強くみとめた (Fig. 9)。

④ PSK 投与の腫瘍成長に対する抑制効果

PSK 投与群と非投与群の成長曲線を Fig. 10 に示す。非照射腫瘍, 30Gy 照射腫瘍ともに PSK 併用群において腫瘍成長抑制が示されたが, 放射

Table 3 Scores of Immune Cells Infiltrated into Tumor Tissues Treated with Radiotherapy and PSK : 7 Days after Irradiation.

	0 Gy+PSK					10 Gy+PSK					20 Gy+PSK					30 Gy+PSK					40 Gy+PSK									
	-	+	++	+++	*	total	-	+	++	+++	*	total	-	+	++	+++	*	total	-	+	++	+++	*	total	-	+	++	+++	*	total
Thy 1,2 ⁺	4	1			1	6	4	1			1	6						6	6					6	6					6
Lyt-1 ⁺	4	2				6	5	1				6	1	5				6	2	3	1			6	2	2	2			6
Lyt-2 ⁺	4	2				6	4	2				6	5	1				6	2	4				6	5			1		6
MAS110 ⁺	6					6	5	1				6						6	1	4	1			6	6	2				6
MAS034 ⁺	5	1				6	1	3			2	6	2	4				6	2	4				6	1	1	2	2		6
MAS053 ⁺	8	2				6	1	4	1			6	5	1				6	3	2		1		6					6	6

- : none + : slight ++ : moderate +++ : marked (Classification by Shimokawara)

* : poorly stained specimen

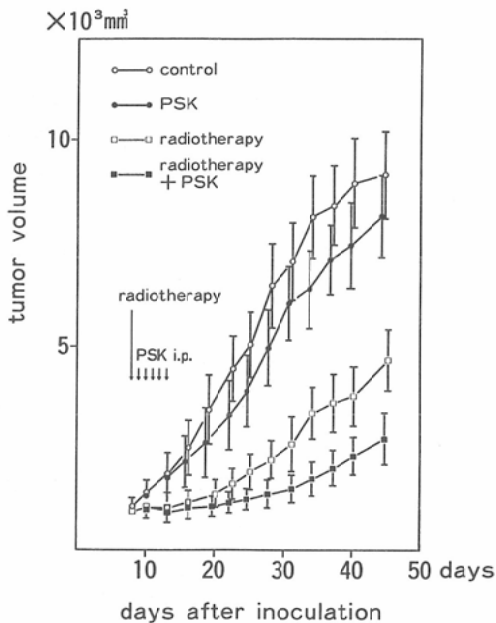


Fig. 10 Tumor growth curves of MM46 inoculated in C3H/He mice which received both radiotherapy and PSK, radiotherapy alone, PSK alone and those receiving neither are shown. ○ = untreated; ● = PSK alone (250 mg/kg/day) i.p. from day 9 to day 13; □ = radiotherapy alone (30 Gy) on day 8; ■ = radiotherapy (30 Gy) on day 8 + PSK (250 mg/kg/day) i.p. from day 9 to 13.

線照射併用群の方が抑制効果が明らかであった。

2) 脾組織の検討

① 照射マウス脾の照射線量別の変化, 照射後の経時的变化

非担癌マウスに比し, 担癌マウスでは二次濾胞

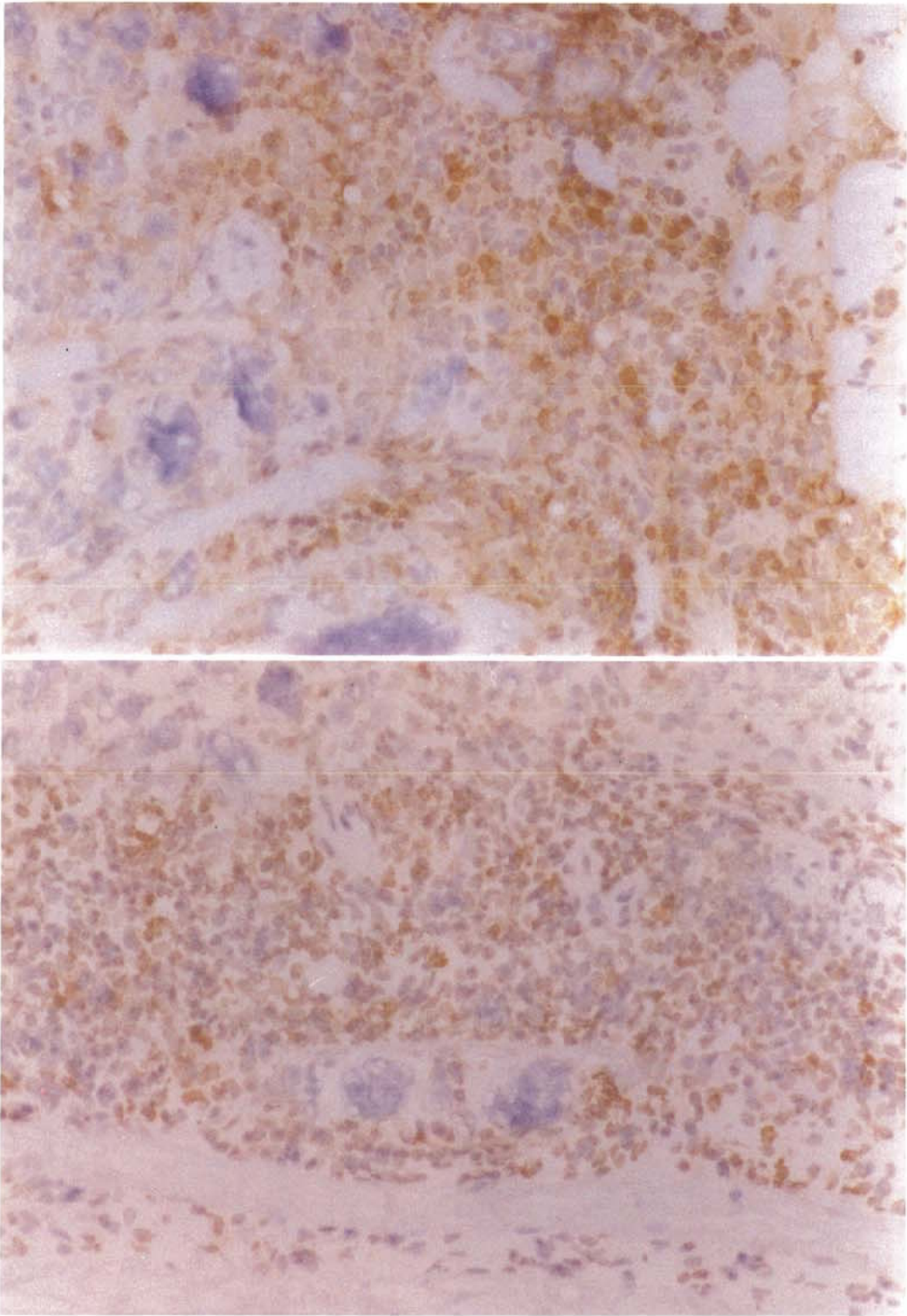
の増多, 増加が認められ, T cell dependent zone は20~30Gy 照射7日目の生体で最も厚くなっており, 二次濾胞の増多と増大を認めた. MAS034 陽性細胞も腫瘍組織内の浸潤程度とほぼ平行するように増多が認められた (Fig. 11).

② PSK 併用群では30~40Gy 照射例で T cell dependent zone が非併用群に比しやや厚みを増していた。

IV. 考 察

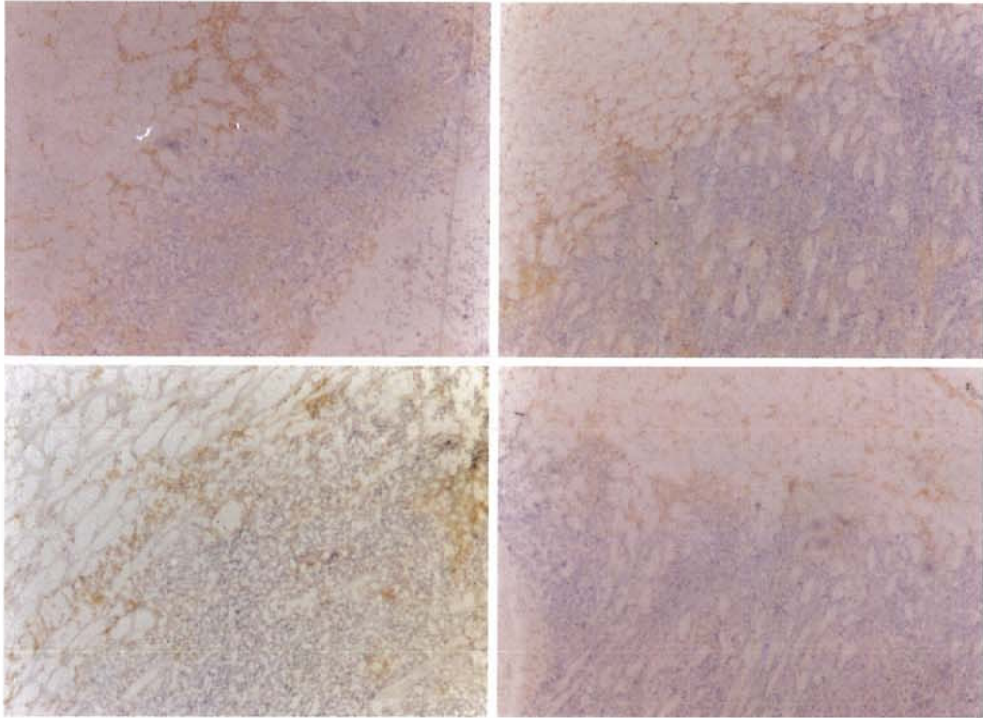
放射線治療患者における末梢血リンパ球数の低下⁹⁾¹¹⁾, 特に T lymphocyte 数の低下⁷⁾や, 細胞性免疫の指標である PHA 反応の低下^{12)~14)}など放射線治療が担癌宿主免疫機構に対して抑制的に作用することが強調されてきた。

しかし, 大照射野にて治療を行う場合, 末梢血リンパ球数や PHA 反応の低下が線量の増加につれ認められるが, 小照射野では不変かむしろ亢進を認めることが指摘されている²⁹⁾. 即ち, 免疫抑制的な変化は照射野内を通過するリンパ球及び線量に応じた変化であり, むしろ腫瘍局所では放射線照射によりリンパ球細胞浸潤の増強がみられ, 腫瘍細胞の免疫原性の増強が大星らの実験的研究により示唆されている^{15)~18)}. 更に彼らは, これらのリンパ球浸潤の増強は放射線障害を受けた癌組織の崩壊産物に対する結果ではなく免疫反応であると考察し, これらの反応は癌細胞が形態的にある程度変化した時期に見られるとしている¹⁸⁾. 我々の検討においても20Gy 1回局所照射7日目に最も強いリンパ球細胞浸潤を認め, 腫瘍細胞の変性



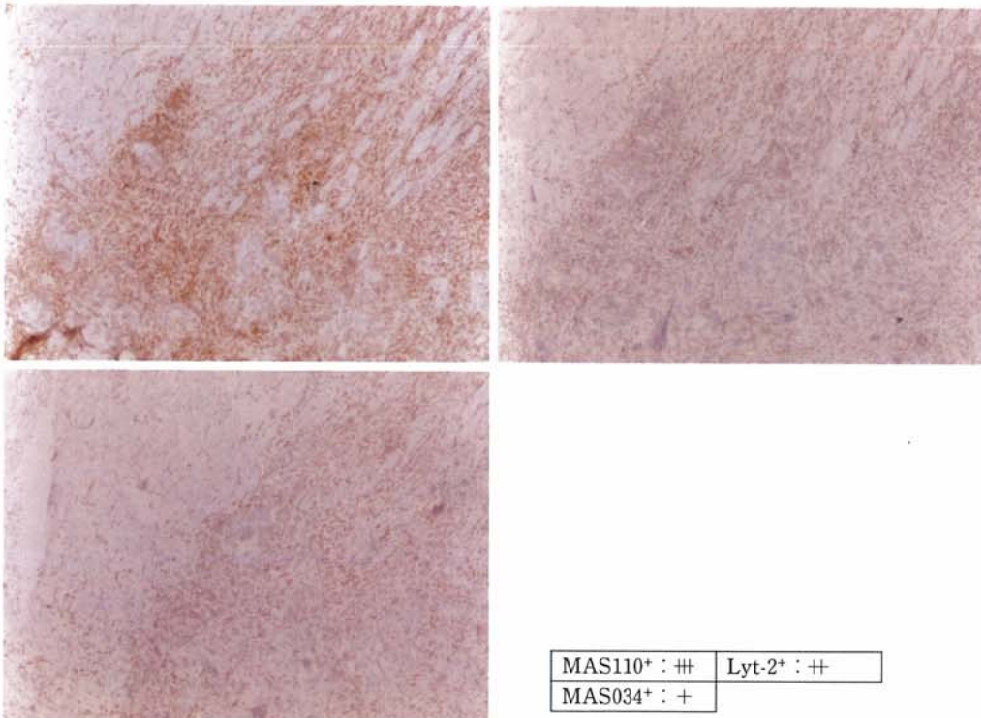
Lyt-2 ⁺
MAS034 ⁺

Fig. 1



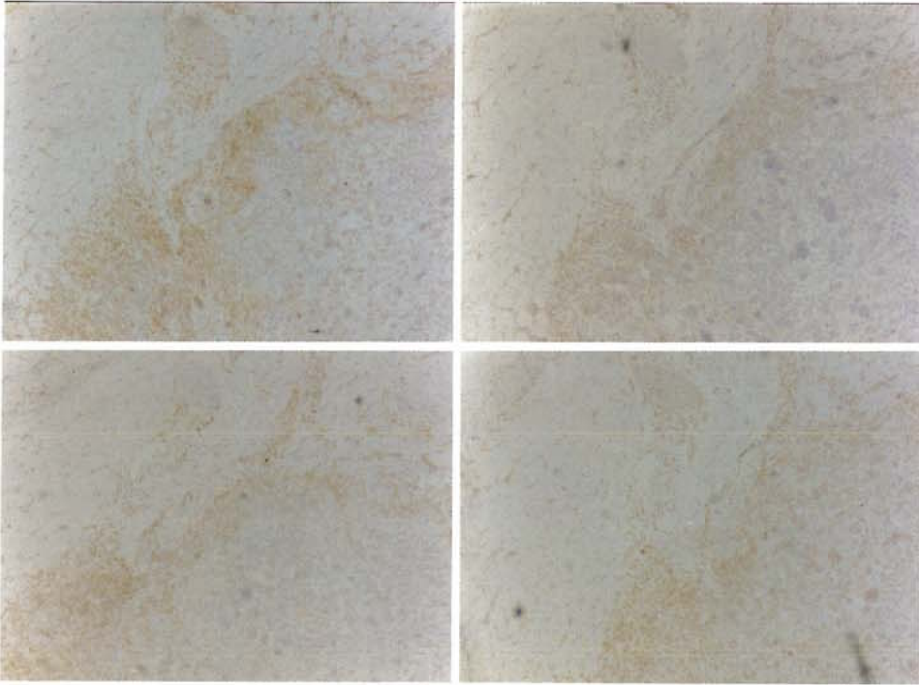
MAS110 ⁺ : -	Lyt-2 ⁺ : -
MAS034 ⁺ : -	MAS053 ⁺ : -

Fig. 2



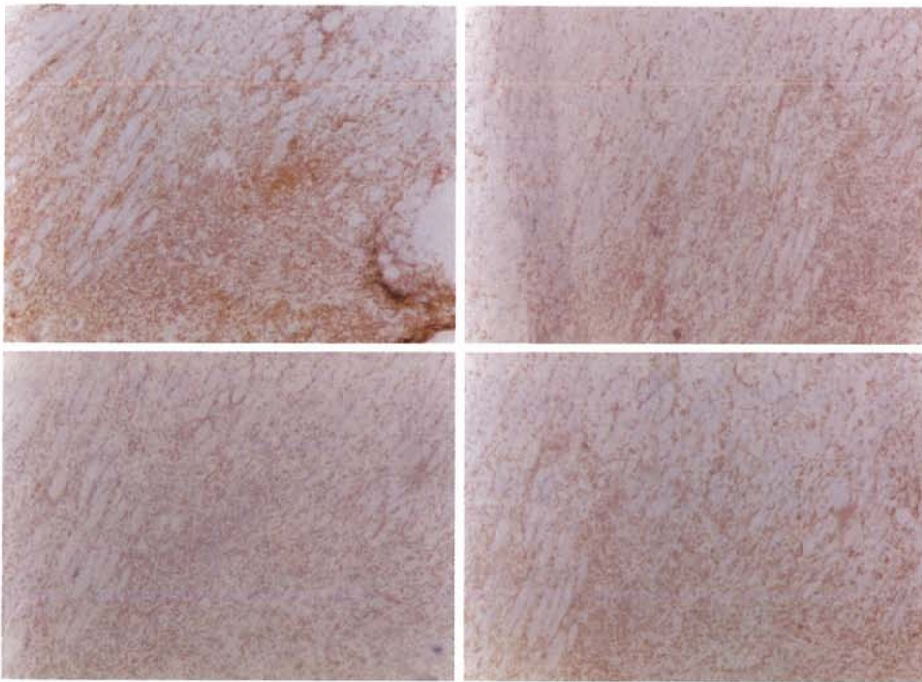
MAS110 ⁺ : 卅	Lyt-2 ⁺ : 卅
MAS034 ⁺ : +	

Fig. 3



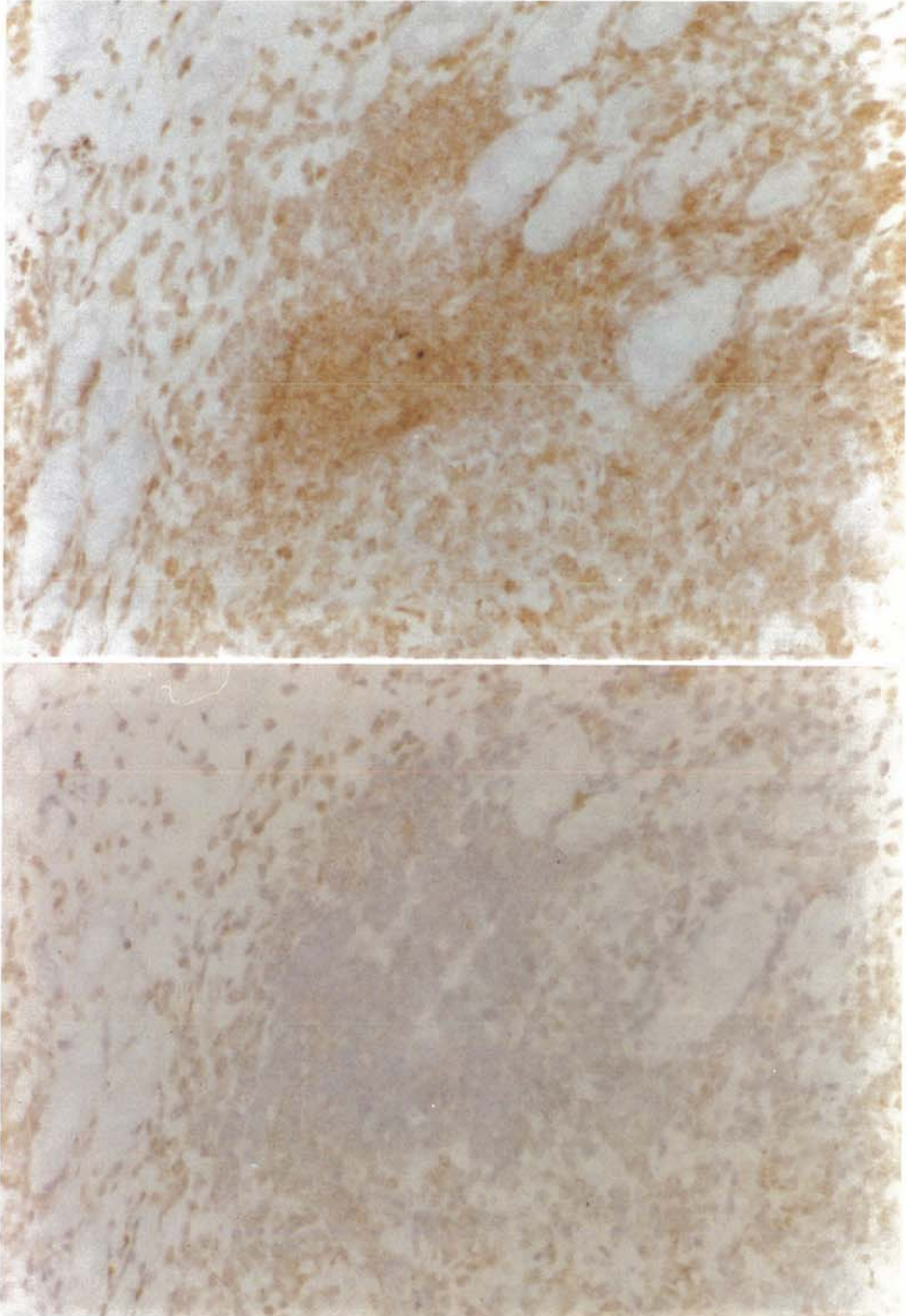
MAS110 ⁺ : ++	Lyt-2 ⁺ : +
MAS034 ⁺ : +	MAS053 ⁺ : +

Fig. 4



MAS110 ⁺ : ++	Lyt-2 ⁺ : ++
MAS034 ⁺ : ++	MAS053 ⁺ : ++

Fig. 5



MAS110 ⁺
Lyt-2 ⁺

Fig. 6

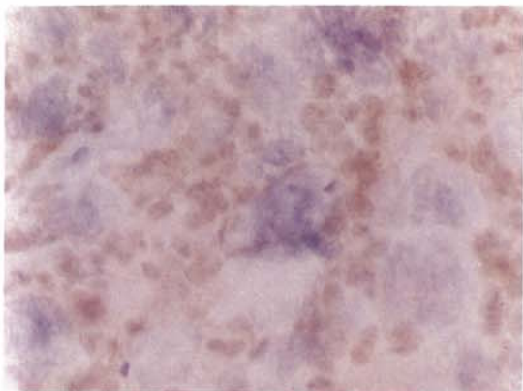
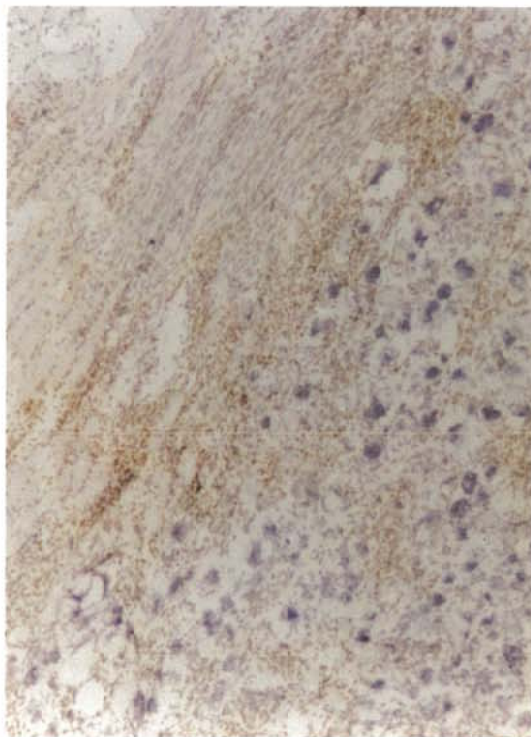


Fig. 7



	MAS110 ⁺ : +
Lyt-2 ⁺ : +	MAS034 ⁺ : +

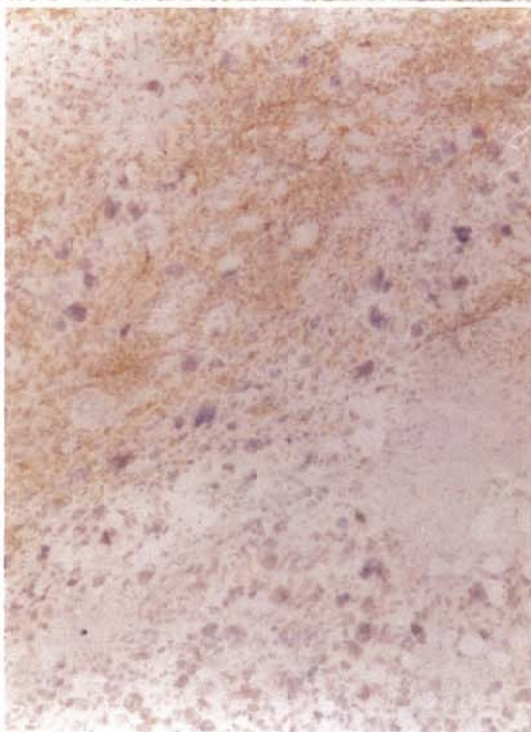
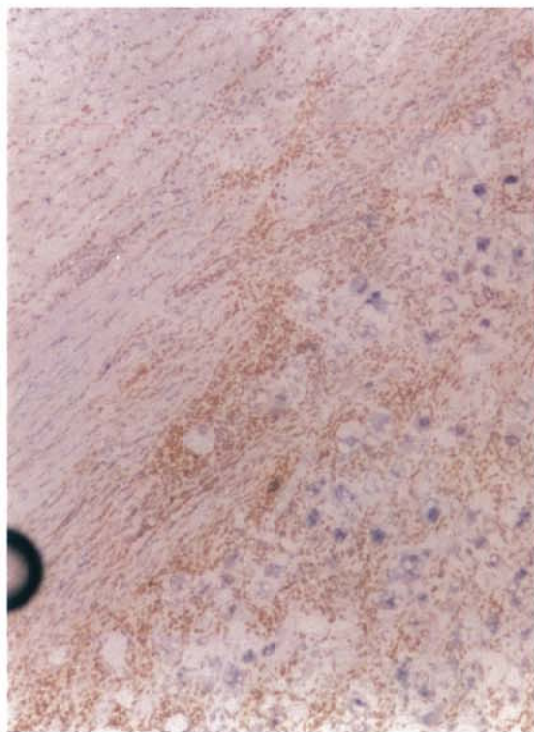


Fig. 8

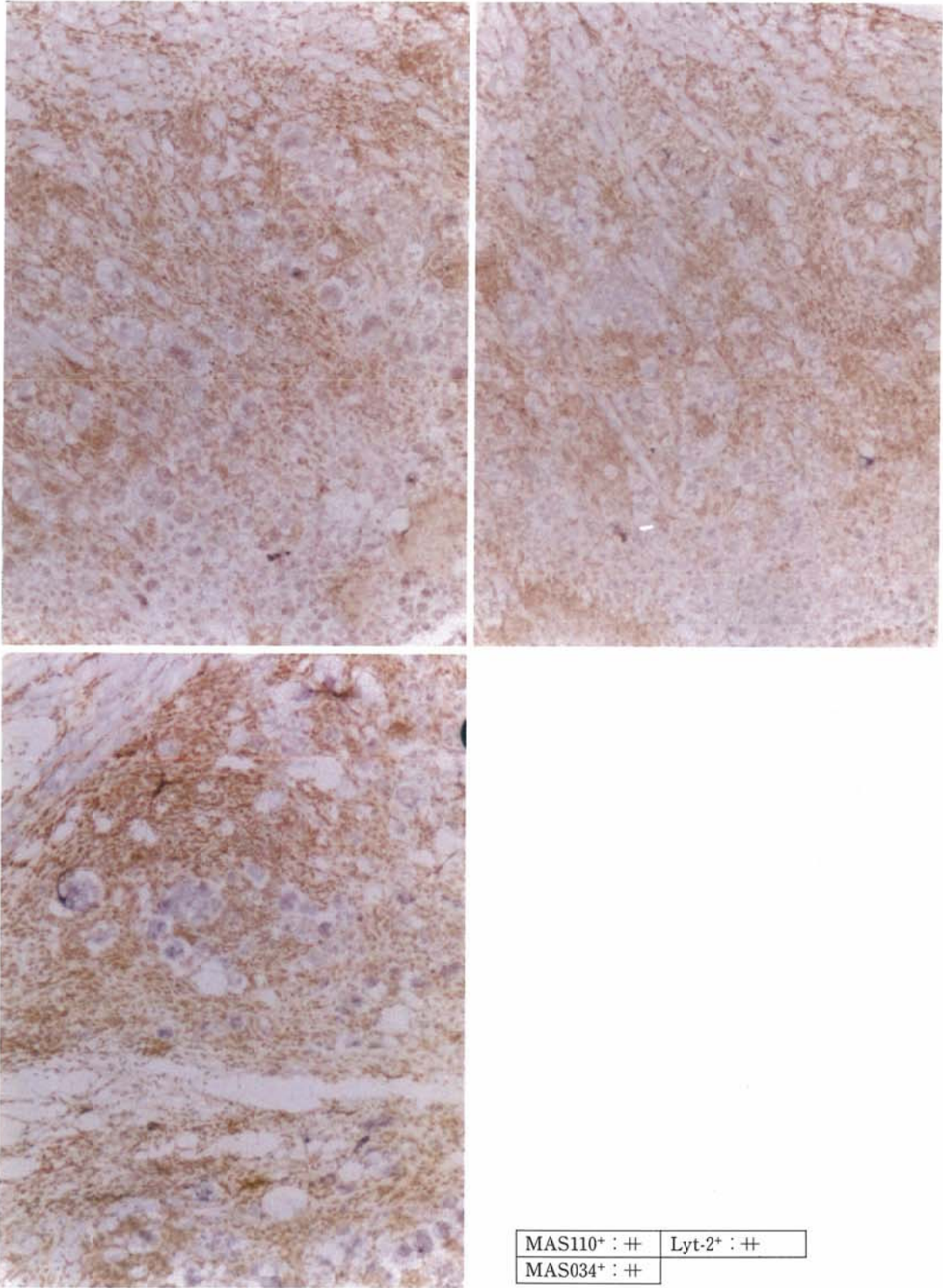
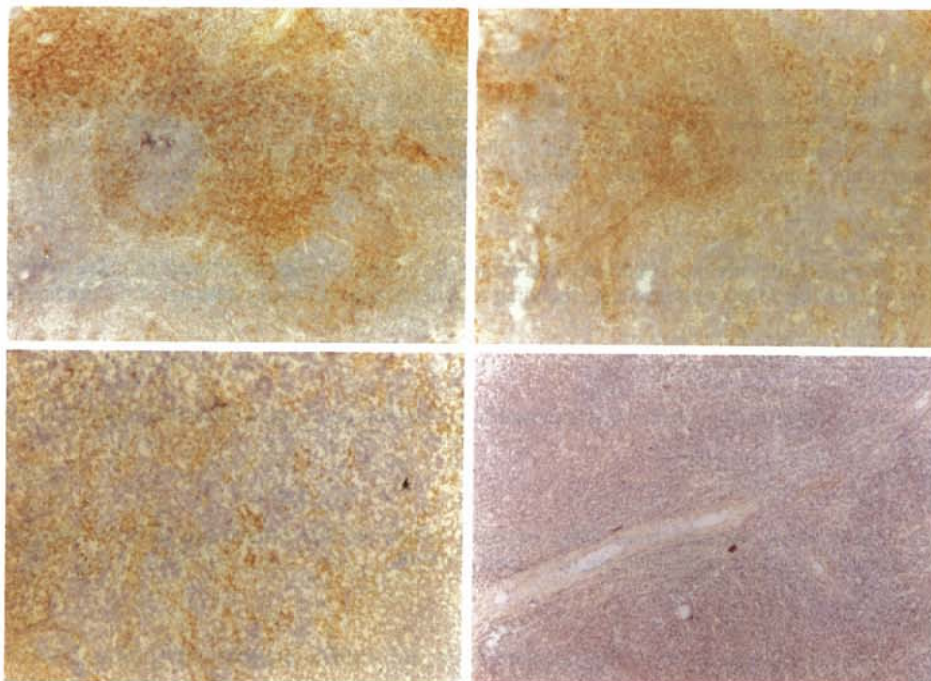
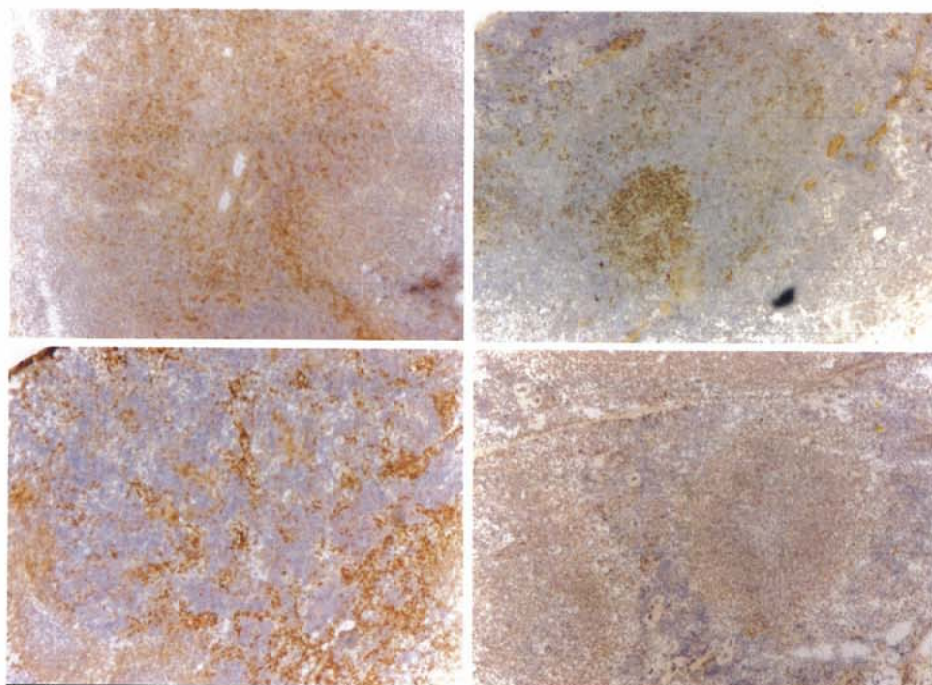


Fig. 9



MAS110+	Lyt-2+
MAS034+	MAS053+

Fig. 11a



MAS110+	Lyt-2+
MAS034+	MAS053+

Fig. 11b

Figures の説明

Fig. 1 These are the sections of 10 Gy exposed tumor. Cells which bear the antigens recognized by the monoclonal antibodies display brown rings (surface staining) or diffuse brown (cytoplasmic staining) in addition to the counterstain. Cells which do not bear the antigens only display the counterstain (purple color). Positive cells exist among negative lymphoid cells. ($\times 100$)

Lyt-2 ⁺
MAS034 ⁺

Fig. 2 These are the sections of non-exposed tumor. Only little amount of positive cells are gathering at the border-line of the tumor and surrounding muscle. Any positive cell does not show predominance. ($\times 40$)

MAS110 ⁺ : -	Lyt-2 ⁺ : -
MAS034 ⁺ : -	MAS053 ⁺ : -

Fig. 3 These serial sections from 20Gy exposed tumor exhibit dominant infiltration of MAS110⁺ cells. ($\times 40$)

MAS110 ⁺ : ##	Lyt-2 ⁺ : ++
MAS034 ⁺ : +	

Fig. 4 These serial sections from 20Gy exposed tumor exhibit rather less cellular infiltration. Nevertheless, MAS110⁺ cells infiltrate dominantly. ($\times 40$)

MAS110 ⁺ : ++	Lyt-2 ⁺ : +
MAS034 ⁺ : +	MAS053 ⁺ : +

Fig. 5 These serial sections from 20Gy exposed tumor also exhibit dominant infiltration of MAS110⁺ cells. ($\times 40$)

MAS110 ⁺ : ###	Lyt-2 ⁺ : ##
MAS034 ⁺ : ++	MAS053 ⁺ : ++

Fig. 6 Infiltrated lymphocytes often gather closely together ; focal infiltration. These serial sections reveal that most of such cells are not MAS034⁺ but MAS110⁺ : Sections are from 20 Gy exposed tumor. ($\times 100$)

MAS110 ⁺
Lyt-2 ⁺

Fig. 7 Several Lyt-2⁺ cells attach to tumor cells, which are swollen and degenerated : Sections are from 20 Gy exposed tumor, anti Lyt-2 staining. ($\times 400$)

Fig. 8 Sections from 30 Gy exposed tumor. ($\times 40$)

	MAS110 ⁺ : +
Lyt-2 ⁺ : +	MAS034 ⁺ : +

Fig. 9 Sections from tumor treated with 30 Gy radiotherapy and PSK. ($\times 40$)

MAS110 ⁺ : ++	Lyt-2 ⁺ : ++
MAS034 ⁺ : ++	

Fig. 11a Sections from spleen of non-treated tumor bearing mouse. ($\times 40$)

MAS110 ⁺	Lyt-2 ⁺
MAS034 ⁺	MAS053 ⁺

Fig. 11b Sections from spleen of local irradiated mouse (20Gy). ($\times 40$)

MAS110 ⁺	Lyt-2 ⁺
MAS034 ⁺	MAS053 ⁺

の時期に一致していた。

1) 放射線照射による腫瘍組織浸潤細胞について

以上のような研究過程の中で、照射腫瘍局所浸潤リンパ球サブセットに関してモノクローナル抗体による解析、特に実験腫瘍に関する研究は未だ例をみない。そこで我々はモノクローナル抗体を用いて検討を行った結果、放射線照射により浸潤増多してくる細胞成分の大半がT lymphocyteおよびそのサブセットであることを見いだした。これは同様の対象で ANAE (α -naphthyl acetate esterase) 染色を行って検討を行った今中ら²⁰⁾²¹⁾の報告と一致する。非照射腫瘍においても浸潤リンパ球の主体はT lymphocyteであるといわれており²⁸⁾³²⁾³³⁾、放射線照射によっても浸潤細胞の主体がT lymphocyteであることは変わらないようである。

浸潤T lymphocyte subsetについては非照射腫瘍に関していくつかの報告があるが、照射腫瘍については我々の研究を見るのみである。非照射腫瘍については、どちらかといえば suppressor/cytotoxic T lymphocyte が優勢に浸潤しているという報告が多い³⁴⁾³⁵⁾が、 helper/inducer T lymphocyte が主体であったと報告している文献^{36)~38)}や、T lymphocyte subset に関しては一定の傾向は認めたいと結論づけている報告³⁹⁾もあり、意見の一致をみていない。

今回の放射線照射組織浸潤リンパ球サブセットに関する検討において、特に細胞浸潤が最も高度となる20Gy 照射腫瘍組織ではThy1.2, Lyt-1, MAS110(L3T4)陽性細胞、即ち、 helper/inducer T lymphocyte が優勢であり、非照射腫瘍に関する多くの報告で suppressor/cytotoxic T lymphocyte がやや優勢であったとしているのと対照的であった。しかし、近年抗腫瘍免疫におけるTDTH (delayed hypersensitivity initiation T lymphocyte)の重要性も唱えられており、特にマウスLyt-1, ヒトT4の表面抗原を有する細胞にTDTH活性が認められていることから⁴⁰⁾⁴¹⁾、 helper/inducer T lymphocyteのみならずTDTH細胞の増多も同時に捉えていることが考えられ

る。実際、Abeら⁴²⁾は同系のMM46腫瘍で強く免疫したC3H/Heマウスに対し、MM46抗原分画が delayed hypersensitivity reaction を引き起こしたとしている。

照射腫瘍において、総じてMAS110(L3T4)陽性細胞がLyt-2陽性細胞より優勢に浸潤していた今回の結果からいくつかの推測ができる。即ち、腫瘍細胞は血中に様々な免疫抑制物質を放出しているといわれ、その一つに膜抗原のshedding及びそれによる suppressor T lymphocyte の賦活化が推測されている^{43)~47)}。放射線照射による損傷が進行し膜抗原が損なわれないでsheddingのみが抑制され suppressor T lymphocyte の活性化がとればそれまで抑制されていた helper/inducer T lymphocyte, TDTH等が浸潤増多してくることが考えられる。腫瘍細胞が変性しかかったときがもっともリンパ球浸潤が強く、40Gy照射7日目のように変性が高度になるとむしろ浸潤度が低下してくることからもこのことは示唆される。cytotoxic T lymphocyteも増多してくるであろうが本研究で用いたモノクローナル抗体では suppressor T lymphocyte と cytotoxic T lymphocyte の二つのサブセットを識別できない。これらは形態学的なアプローチから得られた結果にすぎないが、放射線照射によって増強してくる細胞が機能的に抗腫瘍活性を有することを Winn assay を用いて証明した報告もあり⁴⁸⁾、放射線照射による局所免疫の増強を示唆している。MAS110(L3T4)陽性細胞優勢の理由としては放射線感受性の高いと言われている suppressor T lymphocyte⁴⁹⁾の減少によるものと考えられることができるが、末梢血のサブセット比に差はないとの報告¹¹⁾⁵⁰⁾もあり局所照射で果して差がでるのか疑問が残る。

浜田ら⁵¹⁾はヒト照射腫瘍組織に対する同様の検討で activated T lymphocyte の増強を報告しており、非照射腫瘍組織においてもしばしば activated T lymphocyte が多く浸潤しているのが認められている⁵²⁾。我々の検討においても照射によるMAS034陽性(H-A I-A陽性)細胞の増多が認められ、特に40Gyでは最も優勢に浸潤して

おり、activated T lymphocyte の増多が示唆されるが、H-A I-A 陽性細胞は activated T lymphocyte のほかにも B lymphocyte も示しているため、直接的には証明されない。

照射腫瘍では T lymphocyte の他にも macrophage が多数認められた。非照射腫瘍においても 4~56%⁵³⁾認められると言われている。macrophage も照射により増多しており総合的な免疫反応の増強であると考え。30~40Gy 照射腫瘍で T lymphocyte 及びそのサブセットの減少に比し、macrophage の減少が軽度であったのは壊死細胞の処理及び組織修復の役割を担った細胞の浸潤が増多したためかもしれない。

2) 腫瘍局所放射線照射による脾組織の変化について

腫瘍免疫においては cytotoxic T lymphocyte, helper/inducer T lymphocyte, delayed hypersensitivity initiation T lymphocyte (TDTH), 活性化 macrophage 等の役割が重要視されており、照射によりこれらの細胞の増強を認めたことは腫瘍免疫の増強を示唆するものと考え、脾臓においても腫瘍局所と同様の変化が認められたことからこの免疫増強は脾レベルにまで伝播されていることが推察される。Moroson ら⁵⁴⁾も腫瘍に対する局所照射による脾細胞の lymphocytotoxicity の増強を報告している。

3) 免疫賦活剤の併用効果について

PSK はカワラタケの一系統である CM101 株の菌糸体を熱水で抽出し、精製乾燥して得られた免疫賦活剤である。PSK の抗腫瘍効果のメカニズムについては様々な報告がなされているが^{55)~59)}、放射線照射併用時の作用機序についての報告はほとんど見られない。我々の検討では 30~40Gy 照射腫瘍で PSK を併用した群において Thy1.2, Lyt-1, Lyt-2, MAS110 (L3T4) 陽性細胞、即ち、T lymphocyte およびそのサブセットの増多を認めた。腫瘍成長曲線の分析からも、PSK 放射線照射併用群でとくに抗腫瘍効果を認め、このような効果の mediator として前述の細胞群の存在が重要であると考えられる。0~10Gy では Thy1.2, Lyt-1, Lyt-2, MAS110 (L3T4)

陽性細胞の増多する傾向があるものの著明な変化でなく増殖曲線からみた抗腫瘍効果も照射併用群に比べ低い。これは腫瘍による免疫抑制作用が PSK の作用に拮抗しているものと思われる。Tsukahara ら⁶⁰⁾も子宮癌症例を対象に放射線照射による間質反応の増強と照射後の PSK 投与によるそれらの間質反応の増強を報告している。臨床的にもこのような免疫賦活剤を放射線治療患者に投与することの意義が裏付けられたといえるが、PSK と放射線治療の併用では PSK の投与タイミングが重要と言われており¹⁹⁾、最適の投与方法に関してはなお検討の余地がある。

4) 今後の課題と展望

我々は、リンパ球サブセット表面抗原に特異的に反応するモノクローナル抗体を用いて放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球サブセットを解析した。しかし、今回我々の用いた抗体では異なる機能を有する helper T subset と inducer T subset 及び TDTH subset, suppressor T subset と cytotoxic T subset を識別できず、今後これらを識別しうるモノクローナル抗体の開発が待たれる。更には、局所浸潤リンパ球を分離抽出したうえで、表面抗原という形態だけでなく機能から解析したサブセットの検討が今後の課題であろう。

本研究から放射線治療による腫瘍の免疫原性の増強が示唆されたが、このような効果は、活動性特異免疫療法⁶¹⁾に応用されたり、術中照射・術前照射の照射方法、照射線量を決定する際の一資料として考慮すべきものであると考える。たとえば①癌細胞周辺に循環しているリンパ系細胞に与える障害を少なくし、②癌組織に対する障害を大きくして抗原性の拡大を容易にするとの観点⁶²⁾からは術前照射ではむしろ少分割大線量照射、1回大線量照射の方が均等分割照射より望ましいと推察される。その意味で、今回は一回照射による検討であったが、分割照射による検討も今後行いたい。

以上、放射線治療の腫瘍免疫増強効果を、照射組織浸潤リンパ球のサブセットをモノクローナル抗体を用いて解析することによって検討を加えた。

V. 結 語

C3H/He マウス右大腿部に移植された自然発生 MM46 腫瘍を対象に放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球のサブセットをモノクローナル抗体を用いて検討した。また、免疫賦活剤 PSK の併用効果と双方の場合の脾の変化についても解析した。20Gy 照射腫瘍では照射後 7 日目に最もリンパ球浸潤が強く、10~30Gy では Thy1.2, Lyt-1, Lyt-2, MAS110, MAS034, MAS053 陽性細胞のいずれも非照射腫瘍に比較して浸潤増強を認めたが中でも Thy1.2, Lyt-1, MAS110 陽性細胞の浸潤度が強かった。30~40Gy 放射線照射・PSK 併用群では放射線照射単独治療群と比較し Thy1.2, Lyt-1, Lyt-2, MAS110 (L3T4) 陽性細胞が浸潤増多していた。脾組織では腫瘍組織とはほぼ平行して T cell dependent zone の肥厚と二次濾胞の増多・増大、macrophage の増多を認めた。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました河野通雄教授に深甚の謝意を表します。また多大の御協力を頂きました高知医科大学前田知穂教授、神戸大学伊東宏教授、川崎医科大学今城吉成助教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) Mohr, S.J. and Whistel, J.A.: Spontaneous regression of renal cell carcinoma metastasis after preoperative embolization of primary tumor and subsequent nephrectomy. *Urology*, 14: 5-8, 1979
- 2) Birkeland, S.A.: Immune monitoring of tumor development after renal transplantation. *Cancer*, 55: 988-994, 1985
- 3) Penn, I.: Tumors arising in organ transplant recipients. *Adv. Cancer Research*, 28: 31-61, 1978
- 4) Nobler, M.P.; The abscopal effect in malignant lymphoma and its relationship to lymphocyte circulation. *Radiology*, 93: 410-412, 1969
- 5) Kingsley, D.P.E., F.R.C.S. and D.M.R.D.: An interesting case of possible abscopal effect in malignant melanoma. *Br. J. Radiol.*, 48: 863-866, 1975
- 6) Black, M.M., Freeman, C., Mork, T., Harvey, S. and Cutler, S.J.: Prognostic significance of microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymph nodes. *Cancer*, 27: 703-711, 1971
- 7) Di Paola, M., Bertolotti, A. and Coli, C.M.: Histology of bronchial carcinoma and regional

lymph nodes as putative immune response of the host to the tumor. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 73: 531-537, 1977

- 8) Hasumi, K., Sugano, H., Sakamoto, G., Masubuchi, K. and Kubo, H.: Circumscribed carcinoma of the uterine cervix with marked lymphocytic infiltration. *Cancer*, 39: 2503-2507, 1977
- 9) Raben, M., Walach, N., Galili, U. and Schlesinger, M.: The effect of radiation therapy on lymphocyte subpopulations in cancer patients. *Cancer*, 37: 1417-1421, 1976
- 10) Stratton, J.A., Byfield, J.E., Small, R.C., Benfield, J. and Pilch, Y.: A comparison of the acute effects of radiation therapy, including or excluding the thymus, on the lymphocyte subpopulations of cancer patients. *J. Clin. Invest.*, 56: 88-97, 1975
- 11) 小川恭弘, 前田知穂, 小川由紀子, 猪俣泰典, 森田 賢, 山本洋一, 小谷了一, 吉田祥二, 今城吉成, 木村修治: 癌患者の放射線治療中のリンパ球サブセットの変動—フロー・サイトメトリーによる解析—. *日癌治*, 18: 1883-1903, 1983
- 12) Thomas, J.W., Coy, P., Lewis, H.S. and Yuen, A.: Effect of therapeutic irradiation on lymphocyte transformation in lung cancer. *Cancer*, 27: 1046-1050, 1971
- 13) Tarpley, J.L., Potvin, C. and Chretien, P.B.: Prolonged depression of cellular immunity in cured laryngopharyngeal cancer patients treated with radiation therapy. *Cancer*, 35: 638-644, 1975
- 14) Rafia, S., Yang, S.J. and Meleka, F.: Changes in cell-mediated immunity in patients undergoing radiotherapy. *Cancer*, 41: 1076-1086, 1978
- 15) 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(I). 癌組織の治癒過程の組織学的追跡(その1). *医学のあゆみ*, 61: 622-625, 1967
- 16) 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(I). 癌組織の治癒過程の組織学的追跡(その2). *医学のあゆみ*, 61: 665-671, 1967
- 17) 大里幸雄, 板倉克明, 梅垣洋一郎: 癌放射線療法の病理(II). 癌組織の治癒過程に出現するリンパ球細胞反応の免疫学的意義. *医学のあゆみ*, 61: 725-730, 1967
- 18) 下里幸雄, 尾形利郎: 病理学にみる肺癌の術前照射. *肺と心*, 13: 332-338, 1965
- 19) Miyaji, C., Ogawa, Y., Imajo, Y.: Immunomodulators in the treatment of MM46 tumor transplanted in C3H/He mice. *Oncology*, 40: 115-119, 1983
- 20) 小川恭弘, 宮地千尋, 今中一文, 井上善夫, 今城吉成, 木村修治: マウスの放射線局所照射器具の

- 作成. 免疫実験操作法, X: 3317—3320, 1981
- 21) Ledbetter, J.A., Rous, R.V., Mickelm, S. and Herzenberg, L.A.: T cell subsets defined by expression of Lyt-1,2,3 and Thy-1 antigens. *J. Exp. Med.*, 152: 280—295, 1980
 - 22) Ledbetter, J.A., Evans, R.L., Lipinski, M., Cunningham-Rundles, C., Good, R.A. and Herzenberg, L.A.: Evolutionary conservation of surface molecules that distinguish T lymphocyte helper/inducer and cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. *J. Exp. Med.*, 153: 310—323, 1981
 - 23) Ledbetter, J.A., Seaman, W.E., Tsu, T.T. and Herzenberg, L.A.: Lyt-2 and Lyt-3 antigens are on two different polypeptide subunits linked by disulfide bonds. Relationship of subunits to T cell cytolytic activity. *J. Exp. Med.*, 153: 1503—1516, 1981
 - 24) Dialynas D.P., Maraack, P., Pierres, A., Wall, K.A., Harvan, W., Otten, G., Loken, M.R., Pierres, M., Kappler, J. and Fitch, F.W.: Characterization of the murine antigenic determinant, designated L3T4a, recognized by monoclonal antibody GK1.5: Expression of L3T4a by functional T cell clones appears to correlate primarily with class II MHC antigen reactivity. *Immunol. Rev.*, 74: 29—56, 1983
 - 25) Springer, T., Galfré, G., Secher, D.S. and Milstein, C.: Monoclonal xenogenic antibodies to murine cell surface antigens. *Eur. J. Immunol.*, 8: 539—551, 1978
 - 26) Cranford, D.H., Brickell, P., Tidman, N., McConnel, I., Hoffbrand, A.V. and Janossy, G.: Increased numbers of cells with suppressor T cell phenotype in the peripheral blood of patients with infectious mononucleosis. *Clin. Exp. Immunol.*, 43: 291—297, 1981
 - 27) 基礎免疫研究用試薬キット ABC システム実験法 (その1), Vectastain™ ABC キットの使用の実際について, フナコシ技術レポート⑩, 1980
 - 28) Shimokawara, I., Imamura, M., Yamanaka, N., Ishii, Y. and Kikuchi, K.: Identification of lymphocyte subpopulation in human breast cancer tissue and its significance: An immunoperoxidase study with anti-human T- and B-cell sera. *Cancer*, 49: 1456—1464, 1982
 - 29) 押谷高志: 宿主免疫能に及ぼす放射線治療の影響. *日本医放会誌*, 41: 873—886, 1981
 - 30) 今中一文: 腫瘍に対する放射線局所照射と免疫細胞反応について—MM46 腫瘍および Ehrlich 腫瘍担癌 C3H/He マウスを用いた酵素組織学的検討—*日本医放会誌*, 43: 355—369, 1983
 - 31) Imanaka, K., Gose, K., Ogawa, Y., Imajo, Y., Kimura, S. and Itoh, H.: Histological and histoenzymatic studies in the cellular immunoreaction in Ehrlich tumor-bearing C3H/He mice exposed to various doses of local irradiation. *J. Jpn. Soc. Cancer Ther.*, 17: 1276—1283, 1982
 - 32) Jondal, M. and Klein, G.: Classification of lymphocytes in nasopharyngeal carcinoma (NPC) biopsies. *Biomed*, 23: 163—165, 1975
 - 33) Schoorl, R., Rivieré, A.B., Borne, A.E.G.K. and Feltkamp-Vroom, T.M.: Identification of T and B lymphocytes in human breast cancer with immunohistochemical techniques. *Am. J. Pathol.*, 84: 529—544, 1976
 - 34) Hanwehr, R.I., Hofman, F.M., Taylor, C.R. and Apuzzo, M.L.J.: Mononuclear lymphoid populations infiltrating the microenvironment of primary CNS tumors. Characterization of cell subsets with monoclonal antibodies. *J. Neurosurg.*, 60: 1138—1147, 1984
 - 35) Hiratsuka, H., Imamura, M., Kasi, K., Kamiya, H., Ishii, Y., Kohama, G. and Kikuchi, K.: Lymphocyte subpopulations and T-cell subsets in human oral cancer tissues: Immunohistologic analysis by monoclonal antibodies. *Am. J. Clin. Pathol.*, 81: 464—470, 1984
 - 36) Watanabe, S., Sato, Y., Kodama, T. and Shimosato, Y.: Immunohistochemical study with monoclonal antibodies on immune response in human lung cancers. *Cancer Res.*, 43: 5883—5889, 1983
 - 37) Ruiten, D.J., Bhan, A.K., Harrist, T.J., Sober, A. J. and Mihm, M.C.: Major histocompatibility antigens and mononuclear inflammatory infiltrate in benign nevocellular proliferations and malignant melanoma. *J. Immunol.*, 129: 2808—2815, 1982
 - 38) 笠井 潔, 今井正克, 平塚博義, 白井朋明, 神谷博文, 室谷光三, 成松英明, 水無瀬昂, 戸塚守夫, 菊地浩吉: ヒト胃癌組織に浸潤する T 細胞および T 細胞亜群の免疫組織学的検索. *癌の臨床*, 29: 981—986, 1983
 - 39) Rabin, B., Johnson, J. and Classen, D.: Identification of subsets of lymphocytes infiltrating head and neck tumor tissue: A preliminary report. *Laryngoscope*, 94: 688—690, 1984
 - 40) 田村慎一: クローン化 T 細胞を用いた遅延型過敏症 (DTH) 発現機序の解析. *臨床免疫*, 17: 167—177, 1985
 - 41) 森川 茂: 遅延型アレルギー (DTH) 発現の調節. *臨床免疫*, 17: 186—197, 1985
 - 42) Abe, S., Takahashi, K., Yamazaki, M. and Mizuno, D.: Assembly of transferred normal spleen cells in situ at sited eliciting the delayed hypersensitivity reaction to tumor antigens in mice. *Gann*, 75: 442—447, 1984
 - 43) Renk, C.M., Gupta, R.K. and Morton, D.L.:

- Immunosuppressive factors from human breast carcinoma cell lines that affect initiation of lymphocyte proliferation. *Cancer Immunol. Immunother.*, 9: 55—62, 1980
- 44) Nordquist, R.E.: Antibody-induced antigen redistribution and shedding from human breast cancer cells. *Science*, 197: 366—367, 1977
- 45) Kim, U., Baumler, A., Carruthers, C. and Bielat, K.: Immunological escape mechanism in spontaneously metastasizing mammary tumors. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 72: 1012—1016, 1975
- 46) Hadjipetrou-Kourounakis, L., Manikou, H. and Tsougranis, A.: Restoration of immunosuppression in lung cancer by normal sera. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 16: 149—153, 1985
- 47) Lerner, M.P., Lucid, S.W., Wen, G.J. and Nordquist, R.E.: Selected area membrane shedding by tumor cells. *Cancer Letters*, 20: 125—130, 1983
- 48) 露木 建, 久保田哲朗, 山田好則, 花谷勇治, 中田宗彦, 石引久弥, 阿部令彦: 実験的放射線治療における宿主免疫能の関与. *日癌治*, 18: 1108—1115, 1983
- 49) Di Paola, M., Angelini, L., Bertolotti, A. and Colizza, S.: Host resistance in relation to survival in breast cancer. *Br. Med. J.*, 4: 268—270, 1974
- 50) Haas, G.S., Halperin, E., Doseretz, D., Linggood, R., Russel, P.S., Colvin, R., Barret, L. and Cosimi, A.B.: Differential recovery of circulating T cell subsets after nodal irradiation for Hodgkin's disease. *J. Immuno.*, 132: 1026—1030, 1984
- 51) 浜田富三雄, 小川恭弘, 前田知穂, 瀬口春道: 放射線治療中の癌組織浸潤リンパ球サブセットの変動—モノクローナル抗体による解析—. *日本医放会誌*, 45: 407—426, 1985
- 52) Thomas, J.A., Iliescu, V., Craford, D., Ellouz, R., Cammoun, M. and De-Thé, G.: Expression of HLA-DR antigens in nasopharyngeal carcinoma: An immunohistological analysis of the tumour cells and infiltrating lymphocytes. *Int. J. Cancer*, 33: 813—819, 1984
- 53) Eccles, S.A. and Alexander, P.: Macrophage content of tumours in relation to metastatic spread and host immune reaction. *Nature*, 250: 667—669, 1974
- 54) Moroson, H., Nowakowski, J. and Schechter, M.: Enhanced lymphocyte-mediated killing of tumor cells after irradiation in vivo. *Int. J. Radiat. Biol.*, 33: 473—482, 1978
- 55) 安藤隆雄, 塚越 茂: マウス Ehrlich 腹水癌細胞の増殖に対する PS-K の in vitro 効果. 基礎と臨床, 9: 1751—1753, 1975
- 56) 安藤隆雄, 塚越 茂: かわらたけ多糖製剤 PS-K の Ehrlich 腹水癌細胞に対する suppression 活性. 基礎と臨床, 9: 1754—1755, 1975
- 57) 佐野秀一, 中西昌美, 佐々木文章, 宇根良衛, 秦温信, 内野純一, 葛西洋一: 肝癌に対する免疫賦活剤の直接抗腫瘍効果および細胞回転に及ぼす影響. *癌と化学療法*, 8: 778—783, 1981
- 58) 武市紀年: 高血圧自然発症ラット (SHR) の T-cell 機能不全症とその癌研究への応用. *Oncologia*, 1: 54—68, 1982
- 59) 安藤隆雄, 松田由紀子, 松永謙一, 藤井孝美, 吉汲親雄, 野本亀久雄: 担癌マウスにおけるマクロファージ機能低下と PSK の効果. *癌と化学療法*, 11: 827—834, 1984
- 60) Tsukahara, Y., Shiozawa, I., Sakai, Y., Ishii, J., Iwai, S. and Fukuta, T.: A histological study on immune reaction of advanced uterine cervical carcinoma with a regard to the effect of a low-dose irradiation and PSK. *Acta Obst. Gynaec. Jpn.*, 33: 279—284, 1981
- 61) Ogawa, Y., Imanaka, K., Ashida, C., Takashima, H., Imajo, Y. and Kimura, S.: Active specific immunotherapy using the immune reaction of a low-dose irradiated tumor tissue. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 9: 533—537, 1982
- 62) 御厨修一, 上村志伸, 加藤利男, 大網 弘, 織田敏次: 腫瘍免疫治療と展開. (2) 放射線治療と腫瘍免疫. *癌の臨床*, 29: 1521—1536, 1983