

# 担癌マウスに対する Levamisole の 抗腫瘍性について

岡山大学医学部第一外科学教室（主任：折田薫三教授）

大 江 新 野

（昭和54年2月20日受稿）

Key words: levamisole (LMS), 抗腫瘍効果,  
MH-134 肝癌細胞, 自然発生乳癌

## 結 言

悪性腫瘍に対して外科療法、放射線療法、化学療法に加え免疫療法が登場して以来、BCG (Bacillus Calmette-Guérin) を代表に、いくつかの免疫賦活剤の研究がなされてきた。現在、悪性腫瘍に対する外科療法のアジュバント治療として使用されている免疫賦活剤の中で、以前駆虫剤として使用されていた<sup>19)</sup> Levamisole (以下LMS) が、遅延型過敏反応を促進し、細胞性免疫を賦活し、各種免疫学的検査においてもその抗腫瘍効果を認める結果が報告されつつある<sup>2)3)6)8)10)20)21)22)25)30)</sup>、その作用機序、投与方法、投与量等に関しては未だ確立されていない。

本論文では、LMS 投与によりマウス自然発生乳癌の増殖が抑制されること、およびマウスの同系移植癌において、ある程度増殖発育してから LMS を投与する方が、抗腫瘍効果の高いという従来の制癌剤にみざる興味ある知見を得たので報告する。

## 実験材料及び実験方法

### 第1節 実験動物

岡山大学マウスコロニーにて維持、飼育されている C<sub>3</sub>H/He マウスで乳癌の自然発生したもの、及び健常な生後2ヶ月の体重20g前後の C<sub>3</sub>H/He マウス♂を購入し、マウス用固型飼料（東洋醸造KK）と水で飼育した。

### 第2節 実験腫瘍

佐藤春郎教授によりつくられ、東京大学医科学研究所で継代されてきた、C<sub>3</sub>H/He マウス由来の腹水肝癌細胞 MH-134 を同研究所より附与され、C<sub>3</sub>H/He マウスの腹腔内に継代したもの。

### 第3節 Levamisole (LMS)

LMS は L-2, 3, 5, 6, -tetrahydro-6-phenyl imidazo [2, 1-b] thiazole hydrochloride の白色結晶状の粉末であり、生理的食塩水に溶解して使用、協和醗酵KKより入手した。

### 第4節 実験方法

実験1 自然発生乳癌担癌マウスに対する LMS の抗腫瘍効果

自然発生乳癌担癌マウスを無作為に、対照群(a)、LMS 投与群(b)、LMS 投与群(c)の3群に分つ。実験群(b)では、LMS 1.15mg/kgを、マウス一匹あたり約0.1mlとなるように生理的食塩水に溶解し、隔日に10回、腫瘍をさけて背部皮下に注射する。実験群(c)では、実験群(b)と同量のLMSを、同様に背部皮下に週1回、マウスが死に至るまで注射、対照群(a)では、生理的食塩水0.1mlを隔日に10回、実験群(b)と同様に注射し、LMS 投与開始日より隔日に腫瘍の平均直径と生存期間を測定した。(平均直径は縦径と横径の平均値)。

実験2 MH-134肝癌細胞移植マウスに対する LMS の抗腫瘍効果

健常で生後2ヶ月、体重20g前後の C<sub>3</sub>H/He マウスの背部皮内に、1×10<sup>5</sup>個/0.1mlとなるように生理的食塩水に浮遊させた MH-134 肝癌細胞を注射し、任意に七群に分つ。

#### 対照群(a)

生理的食塩水0.1mlを腫瘍移植日より隔日に10回、臀部皮下に注射した。

#### 実験群(b)

腫瘍移植日より、LMS 1.15mg/kgをマウス一匹あたり約0.1mlとなるように生理的食塩水に溶解し、隔日に10回、臀部皮下に注射した。

#### 実験群(c)

腫瘍移植後7日目より、LMSを同量、同様の部位に隔日に10回、皮下注射施行。

実験群(d)

腫瘍移植後10日目より、LMSを同量、同様の部位に隔日に10回、皮下注射施行。

実験群(e)

腫瘍移植後14日目より、LMSを同量、同様の部位に隔日に10回、皮下注射施行。

実験群(f)

腫瘍移植後21日目より、LMSを同量、同様の部位に隔日に10回、皮下注射施行。

実験群(g)

腫瘍移植後28日目より、LMSを同量、同様の部位に隔日に10回、皮下注射施行。

これらの各群の腫瘍移植後14日目より、腫瘍の平均直径と生存期間を測定した。(平均直径は縦径と横径の平均値)。

## 実験結果

### 第1節 自然発生乳癌担癌マウスに対するLMSの抗腫瘍効果

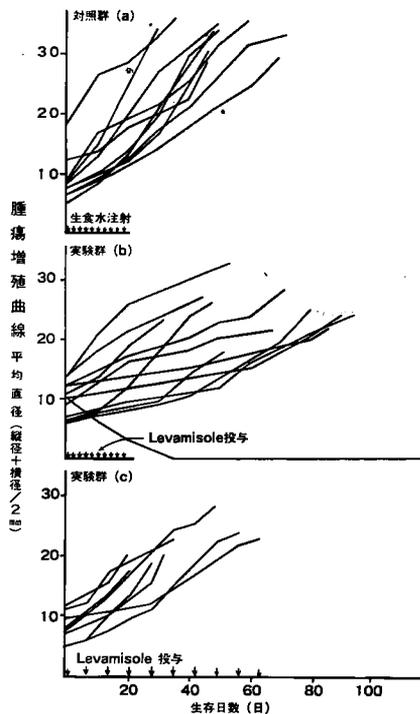


図1. 自然発生乳癌マウスに対する Levamisole の抗腫瘍性

図1にみられるように、対照群(a)は、LMS投与開始時の腫瘍の大きさにかかわらず、ほぼ一様なカーブの増殖速度を示しており、表1にみられるように、腫瘍の平均直径が、生理的食塩水注射開始時の2倍になるに要した期間は、平均24.0日であった。また担癌動物の実験開始日よりの生存日数は、平均50.2日であった(表1)。これに対し実験群(b)では、

表1. 自然発生乳癌担癌マウスに対する Levamisole の抗腫瘍効果

	対照群(a)	実験群(b)	実験群(c)
腫瘍の平均直径が生食水またはLMS投与開始時の2倍になるに要した日数(日)	24.0	※ 49.6	26.5
平均生存日数(日)	50.2	※※ 65.5	38.5
Pは実験群と対照群の有意差を表わす		※…P<0.01 ※※…P<0.05	

腫瘍増殖速度がさまざまであり、対照群(a)に比して、増殖速度の緩慢なものが12例中6例にみられ、全体として腫瘍増殖に時間がかかっていることを示しており、この増殖抑制効果は、LMS投与完了後も続いている。LMS投与開始時に平均直径が14mmと大きい2例では、抑制効果が他の小さい腫瘍をもつマウスに比し、落ちていることを示している。また平均直径が7mmの腫瘍をもつ例に対しては、LMS投与中、あるいはその後に、腫瘍増殖速度が増加する傾向にあることがわかる。さらに12例中1例は、LMS投与開始より急速に腫瘍の縮小をみ、34日目には腫瘍の消失をみており、この1例はLMS投与開始時より180日間観察を続けたが、腫瘍の再発は認められなかった。また表1にみられるように、実験群(b)において、腫瘍の平均直径が、LMS投与開始時の2倍になるに要した期間は平均49.6日(P<0.01)であり、対照群(a)に比し、約2倍以上の腫瘍抑制効果を示しており、平均生存日数も65.5日(P<0.05)であり、延命効果も認められる。実験群(c)は、8例中8例とも、ほぼ一様な腫瘍増殖速度を示しており、いくぶん対照群(a)よりも抑制効果が認められるように思われるが、実験群(b)ほどのものではない。むしろ対照群(a)とほとんど変わらない。実験群(c)において、LMS注射開始時の腫瘍の大きさが2倍になるに要した期間は平均26.5日と、対照群(a)と同様で、平均生存日数は38.5日と対照群(a)よりも、延命効果は明らかに悪い成績となっている(表1)。

これらのことにより、自然発生乳癌担癌マウスに対する LMS の効果は、1.15mg/kgの量で隔日10回投与した例のうち、腫瘍の平均直径が約10mm程度の大きさのものに対して、最大の腫瘍抑制効果があることを示していることがわかり、さらに LMS 投与間隔を7日毎に行なった例は、LMS 投与開始時の腫瘍の大きさにかかわらず、腫瘍増殖抑制効果はみられず、延命効果に対しては、対照群(a)よりも成績が悪く、LMS の投与方法、及び投与時において、生体の抗腫瘍免疫能賦活作用に対する影響に大きな差異が認められた。

第2節 MH-134 肝癌細胞移植マウスに対する LMS の抗腫瘍効果

図2にみられるごとく、対照群(a)は、10例中10例ともに一般的な腫瘍増殖速度を示し、腫瘍の平均直径が、腫瘍移植後14日目の時の2倍に増殖するに要した期間は平均16.4日であり、腫瘍移植後50日目の生存率は5%であった(表2)。実験群(b)は、対照群(a)とほぼ一様の曲線を示し、腫瘍の平均直径が、腫瘍移植後14日目の時の2倍に増殖するに要した期間は平均15.8日で、腫瘍移植後50日目の生存率は0%であり(表2)、むしろ対照群(a)よりも成績は劣っている。腫瘍移植後7日目より LMS 投与を開始した実験群(c)は、対照群(a)に比し、その腫瘍増殖曲線は多少のバラツキを示し、10例中4例に腫瘍増殖速度の低下を認める。腫瘍の平均直径が、腫瘍移植後14日目の時の2倍に増殖するに要した期間は平均21.2日 ( $P < 0.05$ ) で、腫瘍移植後50日目の生存率は15%であった。これらは共に、腫瘍移植後7日目よりの LMS 投与が、対照群(a)に比し、腫瘍抑制効果があることを示している。腫瘍移植後10日目より LMS 投与を開始した実験群(d)は、図2にみられるように、腫瘍増殖速度に一定の傾向は全くみられず、腫瘍が縮小、消滅した例が2例を認める以外に、増殖速度が著しく緩慢になったものが9例中4例を認め、これらの腫瘍はいずれも平均直径が10mm未満のものであり、12.5mmの平均直径をもった1例は、LMS 投与完了時より約10日内の腫瘍抑制効果がみられた後、ふたたび増殖速度を増している。LMS 投与時期と、腫瘍の大きさに関して興味深い結果を示している。尚、腫瘍の消失した2例に関しては、MH-134 肝癌細胞移植後80日間の観察を続けたが、腫瘍の再発は認められなかった。また実験群(d)において、腫瘍の消失した2例を除き、腫瘍の平均直径が、腫瘍移植後14日目の時の2倍に増殖するに

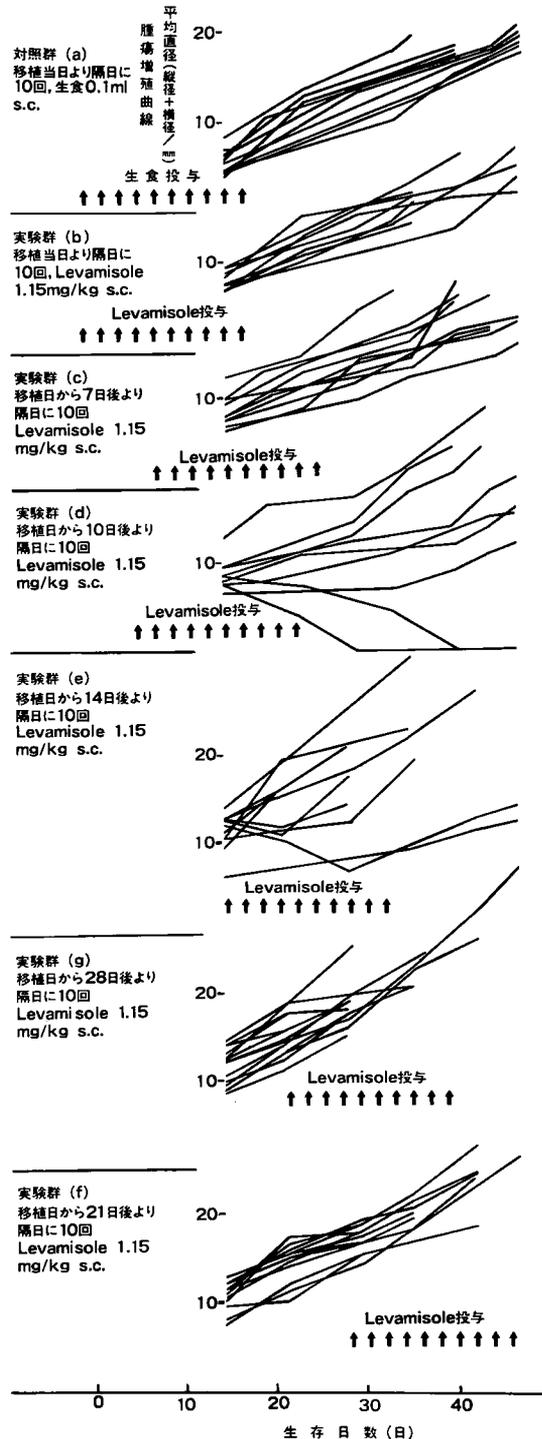


図2. MH-134 腫瘍担癌マウスに対する Levamisole の抗腫瘍性

表2. 腹水肝癌 MH-134 担癌マウスに対する Levamisole の抗腫瘍効果

	対照群(a)	実験群(b)	実験群(c)	実験群(d)	実験群(e)	実験群(f)	実験群(g)
腫瘍の平均直径が腫瘍移植後14日目時の2倍になるに要した日数(日)	16.4	15.8	21.2	28.6	26.8	16.3	19.3
腫瘍移植後50日目の生存率(%)	5	0	15	30	10	5	0
Pは実験群と対照群有意差を表わす		○… 0.1>P>0.05	○○… P<0.05	○○○… P<0.01 △… P<0.05	○○○○… 0.1>P>0.05		

要した期間は平均28.6日 ( $P<0.01$ )で、腫瘍移植後50日目の生存率は30% ( $P<0.05$ )であり、対照群(a)と比し、あきらかに腫瘍増殖抑制効果を示している。腫瘍移植後14日目よりLMSの投与を開始した実験群(e)は、実験群(d)にみられたような腫瘍の消滅した例はみられなかったが、やはり腫瘍増殖曲線は一定の傾向をみせず、増殖抑制速度は減少しているものの、一時縮少し、その後増殖しているものの、増殖速度が対照群(a)と変わらないもの等、種々の結果を示しているが、平均直径が10~12mmのものでは、その増殖速度に抑制効果が認められる。腫瘍の平均直径が、腫瘍移植後14日目時の2倍に増殖するに要した期間は平均26.8日 ( $0.1>P>0.05$ )で、腫瘍移植後50日目の生存率は10%となっており(表2)、対照群(a)と比し、あきらかに腫瘍抑制効果を示しているが、実験群(d)には及ばず、実験群(c)と比較すると、50日目の生存率において成績が劣っている。実験群(f)は、腫瘍移植後21日目よりLMSを投与したもので、その増殖曲線は一定の傾向を示し、対照群(a)と似た増殖速度であるが、LMS投与開始時における腫瘍の平均直径は12.5mm以上と大きくなっている。腫瘍の平均直径が、腫瘍移植後14日目時の2倍になる平均日数も16.3日で、移植後50日目の生存率も5%(表2)となり、ほぼ対照群(a)と同様の結果を示している。LMSは腫瘍の発育、増殖に何らの影響も与えていないとも言える。腫瘍移植後28日目よりLMSを投与した実験群(g)も、実験群(f)及び対照群(a)とほぼ似たような結果で、同様の腫瘍増殖曲線を示し、腫瘍移植後14日目の平均直径が2倍になる期間が19.3日、腫瘍移植後50日目の生存率も0%と、成績は悪くなっている。

### 考 案

Levamisole (LMS) は白色の結晶状粉末で、水に易溶性であり、分子量240.75であって、酸性溶液中できわめて安定である。消化管より吸収され、大部分は肝で分解され尿中に排泄される<sup>31)</sup>。近年悪性腫瘍に対する免疫療法の研究が行なわれ、BCGを中心として各種免疫療法剤が出現し<sup>11)16)17)18)28)</sup>、その作用機序、治療効果、使用法、投与量、副作用等が免疫学的、臨床的に研究されている中で、本来、回虫症に対する駆虫剤として使用されていたLMS<sup>3)13)19)</sup>が、細胞性免疫に関与していることが報告され、免疫療法剤として期待されはじめた<sup>12)2)3)4)5)7)29)</sup>。LMSはBCG等より副作用が少ないとされ<sup>3)30)</sup>、また感染に対する血清抗体を増加せしめるのみでなく<sup>3)8)</sup>、PPD及びDNCBを陽転させる、いわゆる遅延型過敏反応を促進させる作用をもち<sup>8)9)14)20)27)30)</sup>、T細胞に対しその機能を賦活させ、あるいは細胞数を増加させる作用を持ち<sup>10)11)21)22)26)28)</sup>、LMSの作用時間、使用方法による効果の差異<sup>13)27)30)</sup>、免疫賦活剤として悪性腫瘍に対する有効性<sup>25)28)29)30)</sup>、そして副作用<sup>3)30)</sup>、等に関して報告されている。Perk<sup>12)</sup>、Chirigos<sup>15)</sup>は、マウス自然発生乳癌にはLMS単独投与は無効と報告しているが、本実験では、10mm径以下の大きさの腫瘍をもった担癌マウスに、LMS 1.15mg/kgを隔日10回投与すると抗腫瘍性に作用すること、同じスケジュールでLMSを投与しても10mm径以上のものには無効のことが多いこと、そしてLMSを1週1回投与したのでは全く無効なことをみている。投与量の他にも、投与時期、投与方法が重要と思われる。Chirigosは、マウス白血病に対し、5mg/kgの5日間i.p投与ではほとんど効果なく、20mg/kgのone shotに効果があるとしているが、両者共にアルキル化剤であるBCNU (1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea)の併用により、LMS単独投与より明らかに大きい

抗腫瘍効果をみている。LMS 投与量が本実験より多いが、この dosis により効果の差が出るかどうかは不明である。また Rojas は、人肺癌 stage III の患者に Co 照射後、経口 150mg/日、3 日間連続投与を隔週続けることにより、対照群の 6 倍以上の再発防止効果を報告している<sup>30)</sup>。さらに腫瘍の発育時間は図 1 の如く、増殖曲線が実験群 (b) の LMS 1.15mg/kg 隔日投与において緩慢になっており、この dosis における LMS の抗腫瘍効果は認められる。また投与方法で、実験群 (b) の隔日投与群が実験群 (c) の 1 週 1 回投与群に比し、発育増殖曲線、延命効果に圧倒的優位な結果をもたらしたことに関しては、Hugo が投与方法如何を問はず、投与されて 30 分で最高血中濃度を示し、数時間で血中より消失するとしていることからすると、LMS の作用が短時間であり<sup>13)</sup>、1 週間に 1 度の投与より、隔日投与の方が細胞免疫賦活に対し効果が、より大きく得られるものと考えられる。Verhaegen<sup>27)</sup>、Rojas<sup>30)</sup> は、3 日連続単独投与を隔週続けることにより、LMS の抗腫瘍効果をみているが、Chirigos<sup>29)</sup> は、単独投与に、より効果が大きいとしている。本実験では、週 1 回投与より、隔日 10 回投与の方がその効果が大きい結果を得ている。少なくとも自然発生乳癌担癌マウスに対しては、LMS 単独投与による治療効果は有効であることをはじめに明らかにしたものとえよう。次に実験 2 における MH-134 肝癌細胞の移植に対する LMS の抗腫瘍効果は、LMS 投与群の中で、移植当日、および移植後 28 日目より、LMS 投与を開始した実験群 (b)、実験群 (g) 以外のいずれの LMS 投与実験群でも、対照群よりも移植後 50 日目の生存率の上昇をみている。この実験も、実験 1 の自然発生乳癌担癌マウスにおけると同様、やはり LMS には抗腫瘍効果のあることを十分に示唆するものであろう。腫瘍移植後より、LMS の投与時期を変化させ、投与量を一定にして、その効果の差をみているが、その時期によりかなりの差があることは、本実験のみでなく、多くの報告があり、LMS は常に細胞性免疫を賦活するのではなく、その投与時期、あるいは他剤の併用により抗腫瘍効果が変化している<sup>3)5)6)12)15)23)24)29)</sup>。本実験では、実験 1・2 より C<sub>3</sub>H/He 系マウスの場合には、腫瘍の平均直径が 10mm 前後の時期に一番抗腫瘍効果を発現すること、さらに実験 2 より、LMS 投与群の各成績をみると、LMS の抗腫瘍効果は常に一定でなく、腫瘍の発育に伴う生体の免疫能のある一定の段階でその効果を発揮し、その時期をはずれると無効、ある

いは逆効果さえあり得ること、さらに腫瘍移植後約 1 週間から 10 日目の時期に著効を示すことが示唆されている。Marx<sup>31)</sup> は、人悪性腫瘍に対し、in-operable の場合に効果があり、LMS は、ある程度細胞性免疫能がむしろ抑制されている時にのみ効果を発揮している。Chan らは、in vitro では、LMS は PHA に対して、hyporesponsive の人リンパ球に対して作用効果があるとしており、Woods らは、BCNU 投与によりリンパ球活性の落ちた 5~8 日目に LMS を投与すると、リンパ球の免疫賦活作用が得られるとしている。Chirigos らも、BCNU と LMS との併用により、LMS の抗腫瘍効果の増大を報告している。これらの報告及び本実験より、LMS は、その細胞性免疫賦活作用において、常に作用するものでなく、一番効果のある時期があり、ある程度腫瘍増殖があつて細胞性免疫が抑制される時期にその効果を発揮するが、腫瘍増殖が激しく、死の直前ではその効果を認めがたいと思われる。つまり未だ細胞性免疫が正常に機能している間は、LMS の免疫賦活作用は少なく、ある程度抑制されて正常以上の賦活作用をもつに至るのであろう。LMS の作用は、immuno-potentiator というよりも immuno-normalizer とむしろいべきであるように思われる。Verhaegen<sup>27)</sup> は、人で LMS の効果は持続的投与方法より、断続的投与方法の方が遅延型過敏反応陽転率が高いとし、Chirigos は、マウスの実験より LMS 2.5~15mg/kg が有効であり、dose dependency はあまりないとしているが、dosis に関しても未だ確立されたものはない。しかし LMS がある dosis で担癌動物に投与されると、動物の細胞性免疫が落ちている時期において、細胞性免疫を賦活し、その結果、抗腫瘍効果を示すことは事実と思われる。人における治療に際しても BCG におけるような副作用もみられず、経口投与も可能であり、他の薬剤との併用において、LMS 投与の最適の時期を作り出し、その効果を挙げることのできる可能性のある LMS は、今後の研究に期待されるところ大であると思われる。LMS は、従来の免疫賦活剤や制癌剤と異なり、腫瘍が発育し、ある程度大きくなってから投与すれば、抗腫瘍効果を発揮するという興味ある特性を有し、各種薬剤に抵抗性のマウス自然発生乳癌や、MH-134 肝癌細胞の同系移植に、LMS が抗腫瘍性に働くことも特筆されるように思われる。

## 結 語

担癌マウスを用いて、LMS の抗腫瘍効果を、その

投与量を一定にし、投与方法、及び投与時期を変えて検討し、次の結論を得た。

1. 自然発生乳癌担癌マウスを無作為に3群に分け、生理的食塩水0.1mlを隔日に10回、背部皮下に投与した群と、週1回 Levamisole 1.15mg/kg を同様の部位に、マウスが死に至るまで皮下注射した両群に比し、同量、隔日10回、同様の部位に投与した群に延命効果を認め、そのうち1匹に腫瘍の消失をみた。

2. 背部皮下に $1 \times 10^5$ 個の肝癌細胞を移植したマウスに、移植当日より0.1mlの生理的食塩水を隔日10回投与した群と、移植当日、7日、10日、14日、21日、28日後より、それぞれ Levamisole 1.15mg/kg を臀部皮下に投与した群とに分けたが、他の群に比し、

移植後10日目より Levamisole を投与した群において、明らかな延命効果を認め、内2匹に移植腫瘍の消失をみている。

これらのことより、Levamisoleは担癌動物の細胞免疫が未だ正常範囲にある場合、あるいは消失している場合には効果的でなく、細胞免疫がある程度抑制された時期に効果を發揮していることを示唆しているように推測できよう。

#### 謝 辞

稿を終えるに臨み、終始懇篤なるご指導、ご校閲を賜った恩師折田薫三教授に、深甚なる謝意を捧げます。

本論文の要旨は第35回日本癌学会において発表した。

#### 文 献

1. Marx, J.L.: The host's response to cancer. *Science* **184**, 552—556, 1974.
2. Fisher, G.W.: Enhancement of host defense mechanisms against grampositive pyogenic coccal infections with Levo-Tetramisole (levamisole) in neonatal rats. *Ann. Allergy* **33**, 193—198, 1974.
3. Marx, J.L.: Focus on drug levamisole. *Cancer Immunotherapy* **9**, 57, 1176.
4. Copeland, D.: Effect of levamisole on *in vitro* human lymphocyte transplantation. *Cancer Immunotherapy Reports Part 1*, **58**, 167—170, 1975.
5. Woods, W.A.: Effect of levamisole on DNA synthesis by lymphocytes from immunosuppressed C57BL mice. *Cancer Chemotherapy Reports, Part 1*, **59**, 531—536,
6. Chan, S.H. and Simons, M.J.: Levamisole and lymphocyte responsiveness. *Lancet* **1**, 1246—1247, 1975.
7. Renoux, G. and Renoux, M.: Levamisole inhibits and cures a solid malignant tumor and its pulmonary metastases in mice. *Nat. New Biol.* **240**, 217—218, 1972.
8. Brugmans, J.: Restriction of host defense mechanisms in man by levamisole. *Life Sci.* **14**, 1499—1504, 1973.
9. Tripodi, D., Parks, L.C. and Brugmans, J.: Drug-induced restriction of cutaneous delayed hypersensitivity in anergic patients with cancer. *New. Engl.J. Med.* **289**, 354—357, 1973.
10. Biniaminov, M., and Ramot, B.: *In vitro* restriction by levamisole of thymus-derived lymphocyte function in Hodgkin's disease. *Lancet* **1**, 464, 1975.
11. Woods, W.A., Fliegelman, M.J. and Chirigos, M.A.: Effect of levamisole on the *in vitro* immune response of lymphocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **148**, 1048—1050, 1975.
12. Perk, K., Chirigos, M.A., Fuhrman, F., and Pettigrew, H.: Some aspects of host response to levamisole after chemotherapy in a murine leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.* **54**, 253—256, 1975.
13. Bossche, H.V.D., and Janssen, P.A.J.: The biochemical mechanisms of action of the anthelmintic drug tetramisole. *Life Sci.* **6**, 1781—1792, 1967.
14. Churchill, W.H., and David, L.R.: Levamisole and cell-mediated immunity. *N. Eng. J. Med.* **289**, 375—376, 1973.
15. Chirigos, M.A., Fuhrman, F., and Pryor, J.: Prolongation of chemotherapeutically induced remission of a syngenic murine leukemia by L-2, 3, 5, 5, -Tetrahydro-6-phenylimidazo (2, 1-b) thiazole hydrochloro-

- ride. *Cancer Res.* **35**, 927—931, 1975.
16. Mathe, G.: Experimental basis and first clinical controlled trias of leukemia active immunotherapy. In *Progress in Immunology*, ed. B. Amos, pp. 959—966, 1972.
  17. Mathe, G., Amiel, J.L., Schwarzenwarg, L., Schlumberger, J.R., Schneider, M., Callan, A., Hayat, M. and Vassl, F.: Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* **1**, 697—699, 1969.
  18. Mastrangelo, M.J., Kim, Y.H., Bornstein, R.S., Chee, D.O., Sulit, H.L. and Yarbrow, J.W.: Clinical and histrological correletion of melanoma regression after intralesional BCG therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* **52**, 19—24, 1974.
  19. Lionel, N.D.W., Mirando, E.H., Nanayakkara, J.C., and Soysa, P.E.: Levamisole in the treatment of ascariasis in children. *Br. Med. J.* **8**, 340—341, 1969
  20. Verhaegen, H.: Levamisole and the immune response. *New Engl. J. Med.* **289**, 1148—1149, 1973.
  21. Verhaegen, H., Cock, W., Cree, J., Verhaegen, M., Verbruggman, M. and Brugmans, J.: *In-vitro* restoration by levamisole of thymus-derived lymphocyte function in Hodgkin's disease. *Lancet* **1**, 978, 1975.
  22. Ramot, B., Biniaminov, M., Shoham, C.H. and Rosental, E.: Effect of levamisole on E-Rossete-Foerming Cells *in-vivo* and *in-vitro* in Hodgkin's disease. *N. Eng. J. Med.* **294**, 809—811, 1976.
  23. Lima, A.O., and Savierre, M.Q.: Immunological Phagocytosis. Eeffect of drugs on phosphodiesterase activity. *Experimentia* **30**, 945—946, 1976.
  24. Cre, D.J., Verhaegen, H., Cock, W., Vanheule, R., Brugmans, J. and Schuermans, V.: Impaired neutrophil phagocytosis. *Lancet* **2**, 294—295, 1974.
  25. Study Group for Bronchogenic Carcinoma.: Immunopotential with levamisole in resectable bronchogenic carcinoma. *Br. Med. J.* **23**, 461—464, 1975.
  26. Sampson, D. and Lui, A.: The effect of levamisole on cell-mediated immunity and suppressor function; *Cancer Res.* **36**, 952—955, 1976.
  27. Verhaegen, H., Cree, J. and Cock, W.: Levamisole and the immune response. *N. Eng. J. Med.* **289**, 1148—1149, 1973.
  28. Bausal, S.C. and Sjogren, H.O.: Effect of BCG on various facts of the immune response against pol-yoma in rats. *Int. J. Cancer* **11**, 162—171, 1973.
  29. Chirigos, M.A., Peason, J.W., and Pryor, J.: Augmentation of chemotherapeutically induced remis-sion of a murine leukemia by a chemical immunoadjuvant. *Cancer Res.* **33**, 2615—2618, 1973.
  30. Rojas, A.F., Feierstein, J.N., Miciewicz, E., Glait, H. and Olivari, A.J.: Levamisole in advanced human breast cancer. *Lancet* **1**, 211 — 215, 1976.
  31. Symoens, M., Rosenthal, J.: Levamisole in the modulation of the immune response: The current experimental and clinical state. Rev. *J. Reticuloendthel. Soc.* **21**, 175—221, 1977.

## The antitumor effect of levamisole against tumor-bearing mice

Shinya OHE

First Department of Surgery, Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. K. Orita)

The effect of *in vivo* treatment with levamisole (LMS) as cancer immunotherapy was studied on mammary cancer (female) and transplanted MH-134 hepatoma (male) in C3H/He mice. LMS 1.15mg/kg was administered s.c. at various intervals and various stages of cancer growth. In experiment I, sterile saline was injected s.c. in the scapular region of mice bearing mammary cancer every other day ten times as a control group. LMS was injected until the animal died in the third group with the same method. The treatment with LMS in the second group resulted in a most extended survival period and a tumor-free survivor, compared with control and third group. In experiment II, sterile saline was injected s.c. in the gluteal region every other day 10 times from the day the hepatoma cells were inoculated as a control group. LMS was injected s.c. in the same region every other day 10 times from 0, 7, 10, 14, 21 and 28 days after hepatoma cells inoculation. In the fourth group injected 10 days after tumor inoculation, treatment with LMS resulted in a most extended survival period and two tumor-free survivors. These experiments demonstrated that the effect of LMS was different according to the administration time under this dose and LMS prevented tumors from growing when it was used in mice bearing moderately grown tumors. LMS did not appear to possess any significant antitumor effect in both cases (mammary cancer and hepatoma), when it was used in early or far advanced stage. This suggests that LMS has no antitumor effect when cell-mediated immunity is within normal limit, and that LMS has remarkable effect as a cancer immunotherapy when cell-mediated immunity comes to be depressed. So, it can be said that LMS may be immuno-normalizer rather than immuno-potentiator, because LMS is effective in moderately advanced stage of cancer, compared with other immuno-therapeutic agents which are more effective in early stage.