

各種 mitogen に対する癌患者 末梢血リンパ球の幼若化反応

岡山大学医学部第一外科学教室
(主任：折田薫三教授)

河 合 知 則

(昭和54年3月17日受稿)

Key words: PHA, ConA, PWM, レバミゾール,
幼若化反応

I 緒 言

担癌生体では、免疫能とくに、細胞性免疫能の抑制がみられる¹⁾²⁾ことは、よく知られていることであり、それは、担癌生体における同種移植皮膚片や、同種移植癌細胞の生着の延長³⁾⁴⁾⁵⁾、遅延型アレルギー反応の減弱⁶⁾⁷⁾⁸⁾、末梢血リンパ球の phytohaemagglutinin⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾ (以下 PHA という)、Poke weed mitogen¹⁴⁾ (以下 PWM という) に対する幼若化反応の低下などの現象として観察されている。又逆にみても、先天性免疫不全癌患者¹⁵⁾や、免疫抑制剤を必要とする腎移植患者に¹⁶⁾¹⁷⁾、健康人にみられる数十倍の頻度で発癌がみられることなどから、細胞性免疫が、発癌から腫瘍増殖時に、抑制的に作用しているといえる。このことから、癌患者の細胞性免疫能を賦活向上させ、癌病態を免疫学的検索、特に細胞性免疫能でみるのが、癌の治療、又その予後をみるうえでの重要な課題といえよう。細胞性免疫能を知る方法としては、特異的免疫反応と、非特異的免疫反応があり、前者に macrophage migration inhibition test (MIT)¹⁸⁾¹⁹⁾、mixed lymphocyte tumor cell reaction (MLTR)²⁰⁾、colony inhibition test (CI)²¹⁾、cell-mediated cytotoxicity test²²⁾ があり、非特異的免疫反応として、in vitro では、末梢血リンパ球の PHA に対する幼若化反応や²³⁾²⁴⁾²⁵⁾、PWM⁹⁾¹⁴⁾、Concanavalin A (以下 ConA という) に対する幼若化反応²⁶⁾、T-cell B-cell 頻度²⁷⁾、carcinoembryonic antigen (CEA)²⁸⁾ があり、又 DNCB 貼布試験²⁹⁾、PPD 反応³⁰⁾、PHA 皮内反応³¹⁾、その他にも mumps antigen, SK-SD, tetanus toxoid 等を用いる検査法がある。現在これらの特異的、非特異的免疫反

応を指標として、BCG-CWS³²⁾³³⁾、OK-432³⁴⁾、PSK³⁵⁾、Levamisole³⁶⁾、等の免疫賦活剤を用いての非特異的免疫療法が用いられて有効な成績をおさめつつある。著者は、三輪らの報告しているごとく、細胞性免疫反応における非特異的免疫反応である PHA、PWM 幼若化率が担癌生体の進行度⁹⁾¹³⁾、又その予後³⁷⁾³⁸⁾をよく表わすことから、主として Levamisole 投与の消化器進行癌患者の PHA、PWM の幼若化反応を測定し、各々のマイトジェンに対する反応を比較し、予後との関係を検討した。又 PHA は T-リンパ球を刺激する³⁹⁾⁴⁰⁾が、同じ T-リンパ球 stimulator である PHA と反応が異なる Con A⁴¹⁾⁴²⁾についても検索を行ない、人癌患者末梢血リンパ球の T-リンパ球 subpopulation の術後の変動を、mitogen に対する反応でみた。

免疫反応において、抗体産生に関与する細胞としては、マクロファージ、胸腺由来リンパ球(T細胞)、および骨髄由来リンパ球(B細胞)があり、抗体発現にはこの3系の細胞群の効果的な補助作用が宿主免疫の形を支配し⁴³⁾⁴⁴⁾、B細胞は体液性抗体産生に働き、T細胞は主として細胞性免疫に関与する。したがってB細胞を刺激するといわれる Lipopolysaccharide⁴⁵⁾ (以下 LPSと略す)の幼若化反応も併せ調べた。

II 研究対象および方法

A. 研究対象

研究対象は、levamisole 投与群として、岡山大学第1外科入院中及び外来通院中、70才以下の主として進行消化器癌患者101例である。内訳は胃癌60例、結腸・大腸癌38例、肝癌3例であり、そのうち48例が治癒切除、38例が非治癒切除、15例が非切除例であった。

levamisole 投与方法は、levamisole 150mg/day を手術前3日前より、3日間連続投与して以後は隔週投与を継続した⁴⁶⁾⁴⁷⁾。

対照群として治癒切除12例、非治癒切除5例について検索した。

B. 研究材料及び研究方法

1. リンパ球分離液 (Ficoll-Conray) の作製, 9% Ficoll 400 (生化学工業) と33.4% Conray 400 (第1製薬) を24:10の割合に混合し、比重を1.077±0.001に調製したものを、1気圧、120℃、20分、オートクレーブで滅菌し、リンパ球分離液として使用した。

2. リンパ球培養液の作製

RPMI 1640, 6mlにRPMIで溶解したカネンドマイシン (明治製薬) 1mg/ml, 2mlを加え、Fetal Calf Serum (Gibco) 2mlを加え培養液とした。

3. PHA, Con A, PWM の調製

PHA-P (Difco) 50mg, Con A (Sigma) 25mg, PWM (Gibco, Control No. A 665702) をそれぞれ5mlのRPMIにて溶解したものを100%とし、各々50%, 25%, 10%, 5%濃度の各種濃度のマイトジェンを作製した。

4. LPS の調製

LPS (DIFCO) 100mgをRPMI 10mlに溶解したものを100%濃度とし、50%, 25%, 10%, 5%濃度に調製した。

5. リンパ球分離

佐丸らの方法⁴⁸⁾によった。すなわちヘパリン0.2mlを入れた注射器を用いて、被検者の肘静脈より5mlを採血し、Ficoll-Conray 10mlを遠心管に入れ、その上にヘパリン加血を静かに重層した。これを1800r.p.m, 30分間遠心沈殿させ、上層のリンパ球をピペットで回収し、蒸留水で再び1000 r.p.m 10分間遠心沈殿する。沈殿リンパ球をRPMI 1640にて再び1000 r.p.m 5分間遠心沈殿して、ほぼ純粋なリンパ球を採取した。白血球計算板にて計数後リンパ球を 5×10^5 /mlに調製した。

6. マイトジェンの添加方法と、至適濃度、至適培養日数の決め方

採取したリンパ球に、リンパ球培養液 (200r/ml カネンドマイシン, 20% FCS 加 RPMI) を加え、これをU-microtiter plate (Cook) に1ウェル当り、 10^5 個/0.2mlに分注する。各々のウェルに23Gの注射針をつけた1mlの注射器を使用して、各々の濃度のマイトジェンを1滴 (0.02ml) 滴下する。すなわち50

%, 25%, 10%, 5%各々マイトジェンの終濃度は、およそ5%, 2.5%, 1%, 0.5%となる。マイトジェン非添加のウェルにはRPMIを0.02ml加えた。

U-microtiter plateを5% CO₂ incubatorにて、37℃, 2日～6日間培養し、マイトジェンの至適濃度と至適培養日数を決めた。

7. 幼若化反応の測定

培養終了1日前に1μCiの³H-thymidine (Code TRA 6.1, Bach 180) をHamiltonのRepeating Dispenserを使用して分注する。MASH II (Multiple Automated Sample Harvester, Skatron社) を蒸留水にて洗浄後、グラスファイバーフィルター (Whatman) を置き、これに各ウェルの細胞を吸引し、グラスファイバーフィルター上に固着させる。固着させたフィルターを充分乾燥させた後、細胞固着部を剥離し、あらかじめ7mlの液体シンチレーター (0.1gのpopoと5gのppoを1lのトルエンに溶解したもの) を加えたカウンティングバイアル中に入れ、リンパ球のDNA合成の際の³H-thymidineの取り込みを液体シンチレーションカウンター (Aloka社) で測定する。実験はすべてtriplicateで行ない、表現方法はすべて

$$S-I = \frac{\text{マイトジェン添加のリンパ球 c.p.m}}{\text{マイトジェン非添加のリンパ球 c.p.m}}$$

で表わした。個々のデータは、3者のS-I平均値をとった。

III 研究結果

A. 各種マイトジェンの至適濃度

1. PHA と至適濃度

14例 (20～35才) の健康人末梢血リンパ球のPHAによるS-Iは、5%, 2.5%, 1%, 0.5%濃度で各々 56.5 ± 21.3 , 68.4 ± 11.3 , 108.9 ± 16.4 , 108.3 ± 15.8 と1%濃度で最大の反応がみられた。(図1)

2. Con A の至適濃度

5%, 2.5%, 1%, 0.5%, 各々 77.6 ± 16.3 , 87.6 ± 14.8 , 102.7 ± 14.6 , 94.8 ± 14.8 と1%濃度で最大の反応がみられた。(図2)

3. PWM の至適濃度

5%, 2.5%, 1%, 0.5%, 各々 58.6 ± 14.9 , 71.1 ± 11.4 , 75.8 ± 11.2 , 58.5 ± 16.1 とPHA, ConAと同様、1%濃度で最大の反応がみられた。(図3)

4. LPS の至適濃度

13例 (20～30才) について調べた。

5%, 2.5%, 1%, 0.5%, 各々 4.7 ± 1.7 , $11.2 \pm$

4.1, 18.0 ± 2.9 , 17.4 ± 2.9 と他の 3 種のマイトジェンと同様に 1% 濃度で最大の反応がみられた。(図 4)

図 1. PHA 幼若化率の濃度による変化 (N=14)

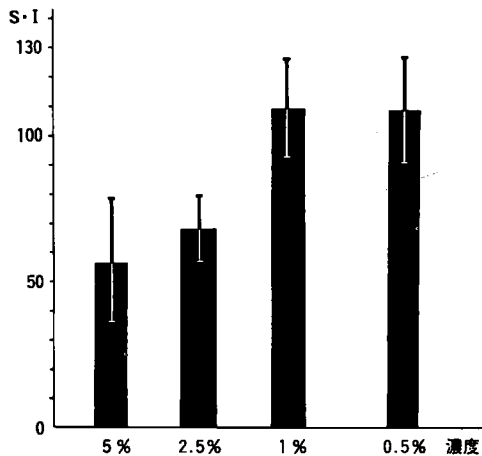


図 2. Con A 幼若化率による変化 (N=13)

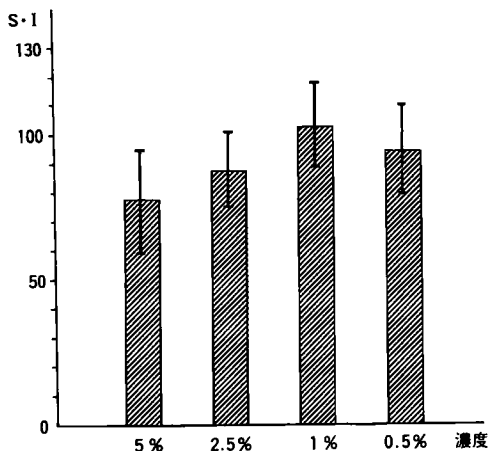


図 3. PWM 幼若化率による変化 (N=13)

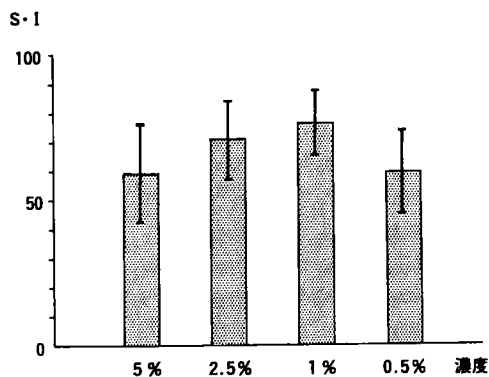
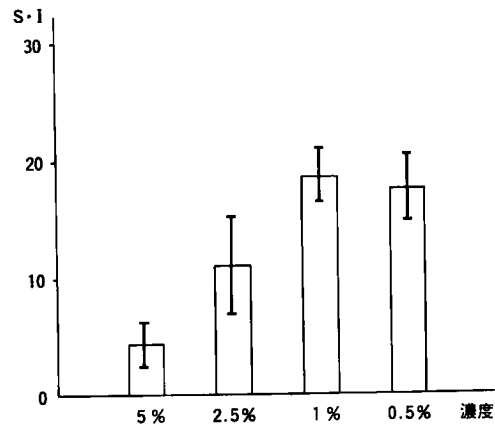


図 4. LPS 幼若化率の濃度による変化 (N=13)



以上の結果より、免疫抑制の強い癌患者末梢血リンパ球の非特異的幼若化反応を検索する為には、反応を最大に起させることが必要であり、その為、上記 4 種の mitogen 濃度を 1% で行なった。

B. 各種 mitogen の至適培養日数

mitogen 添加リンパ球の培養日数は何日で最大の反応を起すかを調べる為、1% 濃度の mitogen を加えたリンパ球を 2～6 日培養した。被検者は、20～35 才の健康成人男子 6 名である。なお $1 \mu\text{Ci}$ の ^3H -thymidine の入れる時期は、すべての例で培養終了前 24 時間である。

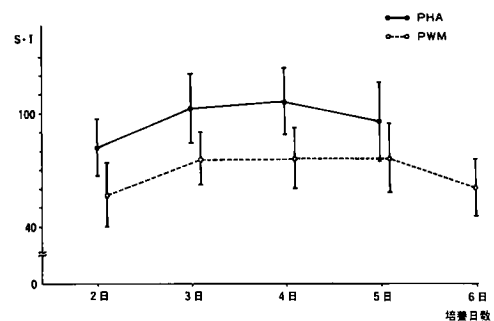
1. 1% PHA による至適培養日数

2～5 日培養の結果、S-I の Mean $\pm$ S.D はそれぞれ 82.4 ± 14.1 , 101.3 ± 20.3 , 105.2 ± 18.0 , 96.6 ± 18.3 と 3 日目に上昇し、5 日目に下降する。(図 5)

2. 1% Con A による至適培養日数

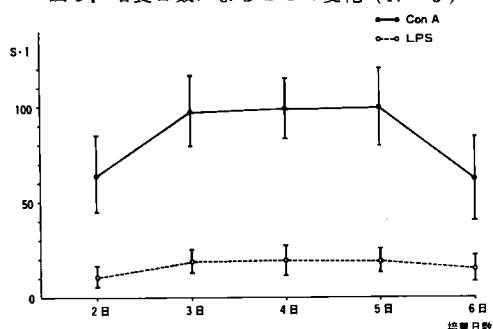
2～6 日培養でそれぞれ、 63.0 ± 21.5 , 97.2 ± 18.1 ,

図 5. 培養日数による S-I の変化 (N=6)



99.2±14.5, 100±19.7, 62.4±21.8と3～5日目に上昇するも、6日目に低下する。(図6)

図6. 培養日数によるS-Iの変化 (N=6)



3. 1% PWMの至適培養日数

2～6日培養でそれぞれ57.4±15.7, 73.9±14.9, 75.0±15.7, 74.9±17.3, 58.0±17.1と3～5日目に

に反応値が上昇し、4日目に反応が最大となった。

4. 1% LPSの至適培養日数

2～6日培養でそれぞれ10.3±3.9, 19.2±6.8, 19.0±2.2, 19.3±7.1, 15.4±7.2と3～5日目に反応が最大となった。(図6)

各 mitogen は、3, 4, 5 日目に反応値の上昇が起ったが、各々の間に有意差はなく、1 様に4 日目を至適培養日数に定めた。以上の実験結果をもとに4 種の mitogen 濃度を1%, 培養日数を4 日として、正常人末梢血リンパ球の mitogen response を比較してみるに、S-I は PHA が最も高く、次いで Con A, PWM, LPS の順になり、個々の例についてみても、PHA の値は、常に Con A, PWM, LPS の値より高かった。(表1)

これら基礎実験をもとにして、癌患者末梢血リンパ球の幼若化反応を上記の濃度及び培養日数で検討

表1 正常人末梢リンパ球の各マイトジェンに対する幼若化率

	PHA	Con A	PWA	LPS
1	114.4	104.1	79.5	19.1
2	130.9	112.3	83.8	21.0
3	83.5	84.8	63.9	11.1
4	88.5	79.8	64.3	19.8
5	115.0	105.8	68.9	15.8
6	120.3	119.1	86.3	20.1
7	120.1	119.0	78.6	14.8
8	98.5	93.5	60.9	16.8
9	90.8	89.0	68.4	19.2
10	101.5	100.0	75.6	17.3
11	88.8	82.3	65.2	15.8
12	123.8	115.8	98.9	20.4
13	120.0	120.4	89.3	21.1
14	128.4	110.9	76.9	19.8
M±S.D	108.9±16.4	102.6±14.5	75.8±11.2	18±2.9

してみた。

C. 進行度別にみた末梢血リンパ球幼若化反応

1. 対照群 (Levamisole 非投与群)

治癒切除12例の術前のS-Iは、PHA, Con A, PWM それぞれ60.9±12.8, 53.1±9.3, 44.1±8.3で術後2週迄は、手術侵襲や麻酔の影響で低下したが、3週目にはそれぞれ56.2±9.2, 52.8±6.8, 47.4±7.9, とほぼ術前値迄回復し、以後5週目迄は術前値を下らない。

LPSは、術前値に比べ、術後の低下はみられず、

ほぼ1定に変動し、5週目に至る。(図7, 表2)このことから手術の細胞性免疫能に及ぼす影響は、術後1週目及び2週目に強い様である。非治癒切除症例は5例について検索したが、癌病態に左右される為、個々のデータにばらつきが多く、1定の傾向を示すに至らなかった。(図8)

2. Levamisole 投与群

治癒切除例48例のPHA幼若化反応は、術前58.3±12.5と対照群とほぼ同じで、術後の幼若化は、対照群と異なり、手術侵襲による術後の低下はみら

図 7. 末梢血リンパ球の各種 mitogen にける幼若化 (治癒切除例), N=12

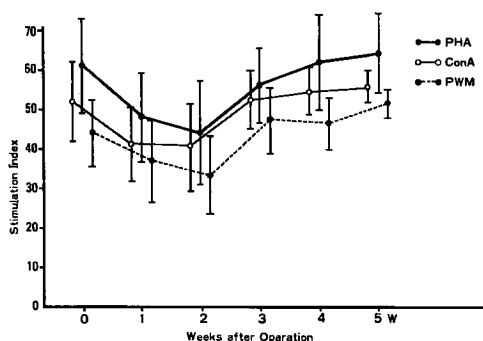
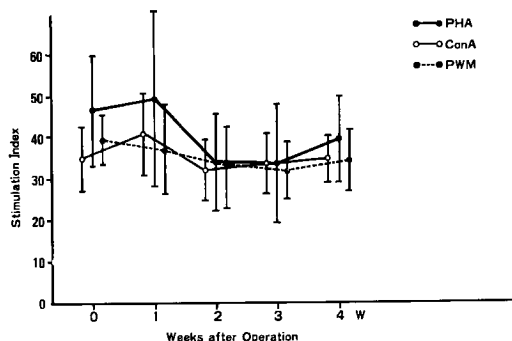


図 8. 末梢リンパ球の各種 mitogen における幼若化 (非治癒切除例), N=5



れず、むしろ術後1週目に上昇 ($P < 0.05$) し、4週目に最高となり ($P < 0.01$) 以降は6ヶ月迄すべて術前の値を上回る。(図9, 表2, 3)

非治癒切除例38例では、術前 44.8 ± 10.9 であったものが術後上昇し、1ヶ月目 60.5 ± 11.5 と上昇 ($P < 0.01$) 以後2ヶ月迄は、術前値を上回るが、それ以降は低下の傾向をとる。

非切除例も、非治癒切除例と同様術後2ヶ月迄は、術前値を上回るが、それ以降は低下する。(図9, 表2, 3)

Con A 幼若化反応は、治癒切除例で術前、 56.4 ± 10.4 と PHA よりも S-I が低く、以後1週目 (63.6

図 9. 進行度別に見た末梢血リンパ球の PHA 幼若化 (Levamisole 群)

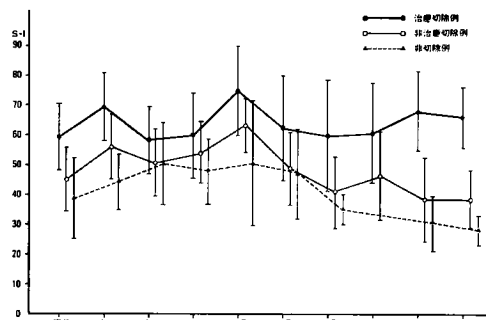


表 2 治癒切除例の術前値と術後4週迄の幼若化率

		術 前	1 W	2 W	3 W	4 W
PHA	非投	60.9 ± 12.8	48.3 ± 10.3 ※ 1	43.9 ± 13.2 ※ 1	56.2 ± 9.2	64.6 ± 9.3
	投	58.3 ± 12.5	68.1 ± 12.8 ※ 1, # 1	58.2 ± 11.4	60.0 ± 14.3	74.5 ± 15.2 # 2, ※ 2
Con A	非投	53.1 ± 9.3	41.1 ± 9.3 ※ 1	40.3 ± 11.4 ※ 1	52.8 ± 6.8	54.5 ± 5.8
	投	56.4 ± 10.4	63.6 ± 11.6 ※ 1	53.9 ± 8.8	54.0 ± 12.4	67.6 ± 12.6 # 1, ※ 2
PWM	非投	44.1 ± 8.3	36.7 ± 10.7 # 1	33.4 ± 9.8	47.4 ± 7.9	46.5 ± 6.2 ※ 2
	投	46.4 ± 9.3	51.2 ± 8.3	43.2 ± 9.8	46.9 ± 12.4	56.9 ± 8.6
LPS	非投	11.3 ± 2.5	11.0 ± 2.3	11.1 ± 1.1	13.4 ± 3.1	12.2 ± 3.3
	投	10.3 ± 2.6	12.3 ± 2.4	12.8 ± 3.1	13.3 ± 4.8	13.9 ± 3.9

投: Levamisole 投与群

非: Levamisole 非投与群(control)

※: 術前値と比較した t 検定

※ 1 $P < 0.05$

※ 2 $P < 0.01$

Levamisole 投与群, control 群との t 検定

1 $P < 0.05$

2 $P < 0.01$

表3 術後6ヶ月迄の幼若化率 (Levamisole 投与群)

		術 前	1 M	2 M	3 M	4 M	5 M	6 M
P H A	治 癒 切 除	58.3±12.5	※3 74.5±15.2	62.0±17.6	59.6±18.4	60.2±16.9	67.4±13.6	65.4± 9.8
	非治癒切除	#2 44.8±10.9	※3 60.5±11.5	#1 48.0±12.7	#1 40.2±12.3	46.0±14.9	#2 38.1±13.7	#2 38.0± 9.7
	非 切 除	#2 38.9±13.5	50.3±20.9	#1 47.3±14.5	#2 34.7± 4.9		#2 30.5± 8.9	#2 27.9± 4.4
C o n A	治 癒 切 除	56.4±10.4	※3 67.6±12.6	60.0±17.1	60.0±16.9	56.7±17.2	62.7±16.0	62.1± 9.7
	非治癒切除	#1 49.2± 6.5	55.3± 6.2	47.2±13.8	#1 48.3± 7.1	#1 47.3± 8.7	#2 40.2±10.1	#1 49.3±11.6
	非 切 除	#2 42.4± 9.3	46.3±20.9	57.2±14.5	#1 45.4± 6.3		#2 38.2± 9.1	#2 33.6± 5.0
P W M	治 癒 切 除	46.9± 9.3	※3 56.9± 8.6	49.5±11.0	44.6± 8.2	49.0± 8.0	※1 59.8±16.6	51.6± 3.9
	非治癒切除	45.7± 6.7	49.7± 6.7	42.7± 9.8	45.8± 5.0	44.7± 6.9	#1 41.4±16.1	46.7± 7.0
	非 切 除	39.8±12.2	#1 42.2±10.8	46.9± 7.3	#1 38.8± 4.3		#2 35.0± 4.4	#2 29.0± 3.5
L P S	治 癒 切 除	10.3± 2.6	13.9± 3.9	13.6± 4.3	10.5± 2.8	11.4± 2.9	13.6± 4.4	13.9± 3.1
	非治癒切除	9.5± 2.4	12.5± 3.9	9.2± 4.7	11.0± 3.7	9.5± 3.7	9.5± 5.1	9.8± 5.5
	非 切 除	8.7± 4.4	10.5± 4.0	12.6± 3.2	10.9± 2.3		#1 9.4± 2.9	#1 8.5± 2.3

※ 術前値と比較したt検定

治癒切除と比較したt検定

※1 P<0.05

#1 P<0.05

※2 P<0.02

#2 P<0.01

※3 P<0.01

±11.6)と4週目(67.6±12.6)に S・I が最も上昇し、その間も6ヶ月目迄、S・I は術前値をほぼ上回る。(図10)

PWM 幼若化反応は、治癒切除例で、術前46.4±9.3であったものが、術後1ヶ月目に56.9±8.6 (P<0.01)、術後5ヶ月目に59.8±16.6 (P<0.01)と最も上昇し、その間も術前値より低下をしない。

一方非治癒切除例では、術前45.7±6.7と対照群に比べ差はなく、術後1週目も49.2±6.2と手術侵襲によるS・Iの落ち込みがない。PHA, Con A にみる様な3～6ヶ月目のS・Iの低下もない。非切除例では、術後4ヶ月目迄は、術前に比べ変動はないが、術後5ヶ月、6ヶ月目に低下する。(図11)

LPSは治癒切除例、非治癒切除例、非切除例、それぞれ10.3±2.6、9.5±2.4、8.7±4.4とPHA, Con A, PWMの様に3者S・Iの差はなく、治癒切除例では、術後1ヶ月以降高値をとり続け6ヶ月目に至る。

非治癒、非切除例は、PHA, Con A, PWM にみられる様な術後の変動はなく、6ヶ月に至る。しかし治癒切除例に比して全体的に低い傾向にある。(図12, 表2, 3)すなわち、PHA, Con A, PWMはほぼ似た様な術後の変動を示したが、LPSは他の3者

図10. 進行度別に見た Con A の幼若化 (Levamisole 群)

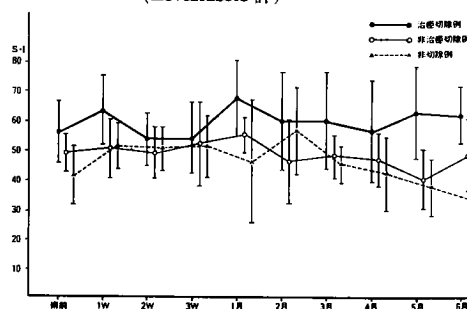
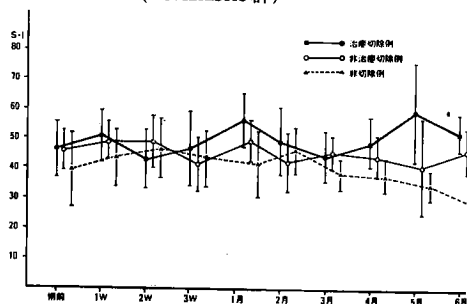


図11. 進行度別に見た PWM の幼若化 (Levamisole 群)



の mitogen と異なる変動を示した。

D. 手術侵襲に及ぼす levamisole の効果

levamisole 投与群の治癒切除例を、術後 4 週にわたって対照群と比較してみると、PHA, Con A, PWM 幼若化反応は、術後 1 週間目に対照群に比し有意の差があった。 $(P < 0.01)$ しかし LPS は、対照群に比べ、著明な変化はみとめられなかった。(図13)

E. 進行度別にみた 4 種の mitogen の変動

治癒切除例では、S-I 値は全経過を通じ $PHA > Con A > PWM > LPS$ の順である。(図14) が、非治癒切除例では、Levamisole 投与群で 3 ヶ月目より、 $Con A > PWM > PHA > LPS$ の順となる。(図15)

図12. 進行度別に見た LPS 幼若化(Levamisole 群)

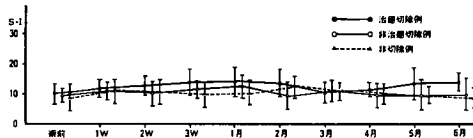


図13. 手術侵襲に及ぼす Levamisole の効果

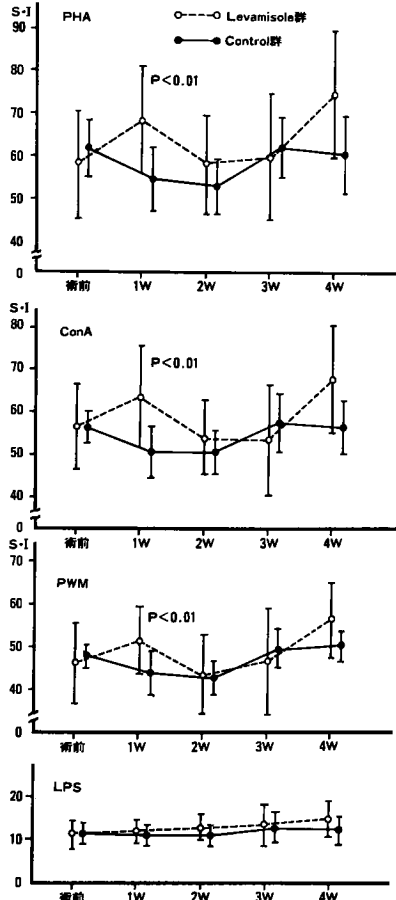


図14. 末梢リンパ球の各種 mitogen における幼若化(Levamisole 群, 治癒切除例)

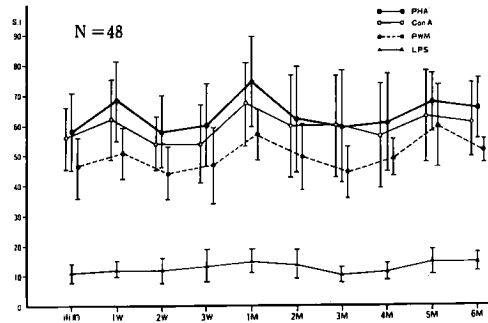
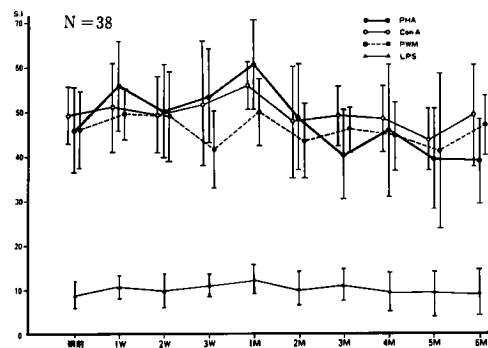
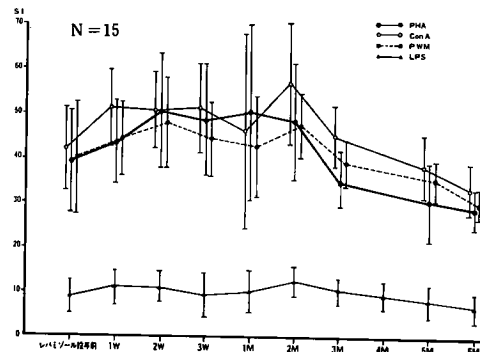


図15. 末梢リンパ球の各種 mitogen における幼若化(Levamisole 群, 非治癒切除例)



非切除例では最初から $Con A > PWM > PHA > LPS$ の順となって変動する。(図16)

図16. 末梢リンパ球の各種 mitogen における幼若化(Levamisole 群, 非切除例)



PHA と Con A の個々の値についてみると、治癒切除例では、術後 6 ヶ月目迄の再発はなく、 $Con A / PHA > 1$ なる頻度も常に低い値を示しているが、非治癒切除例、非切除例では、術後 1 ヶ月迄は、術前

に比べ極めて強い低下がみられるが、3ヶ月以降ではほぼ術前値にもどる。(図17)

PHA と PWM の比についても、PHA と Con A の比と同様の結果になった。(図18)

図17. 全症例中 $\frac{\text{Con A}}{\text{PHA}} > 1$, 例の占める頻度

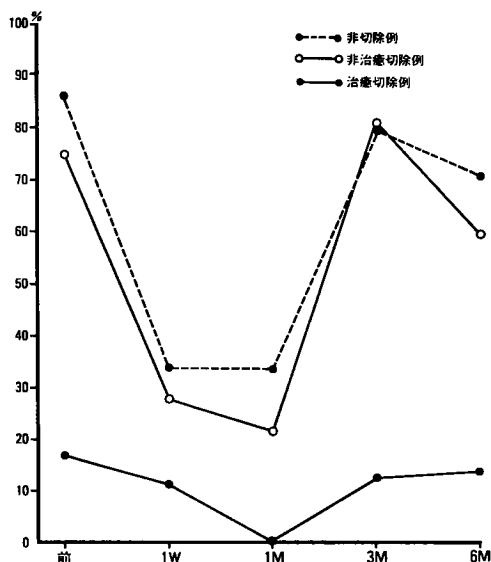
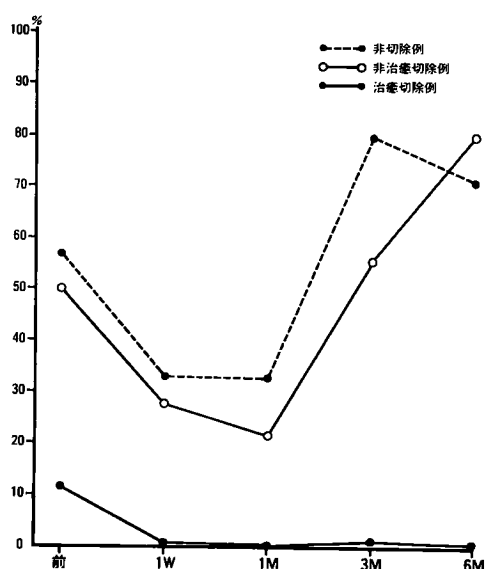


図18. 全症例中 $\frac{\text{PWM}}{\text{PHA}} > 1$, 例の占める頻度



以上のことは、PHA が Con A や PWM より低くなることが癌病態の悪化の指標となることが、推察

される。

IV 考 案

「五月さざげ」(*phaseolus vulgaris*) からの抽出物である PHA (phytohaemagglutinin) は、1900年代初、Landstainer により、その赤血球凝集作用が発見され、主として抗血清を作る際の赤血球除去を目的で使用された。1960年に入り、Nowell⁽⁴⁹⁾ らは、PHA の白血球に対する芽細胞化、分裂作用を発見し、Paermain⁽⁵⁰⁾ らにより、リンパ球幼若化現象を引き起こすことが発見されて以来、免疫反応の in vitro での検査手段として脚光をあびてきた。1968年 Greaves⁽⁵¹⁾ らが、bursectomised chicken, thymectomized chicken に PHA を作用させて、後者の PHA 反応が出ないのに、前者では対照群と同様 PHA 反応が出現した事から PHA が T リンパ球の stimulator であることを報告した。一方、Jack 豆の蛋白成分 (Concanavalin A) である、Concanavalin A (Con A) も、1919年 Sumner⁽⁵²⁾ らにより抽出され、Wecksler⁽⁵³⁾, Powell⁽⁵⁴⁾ らにより、リンパ球の非特異的幼若化反応を起せしめることを、又 Toivanen⁽⁵⁵⁾ らにより T リンパ球を刺激することがわかった。

PWM は「ブタ草」(*Phytolacca americana*) からの抽出物で、1964年 Farnes⁽⁵⁶⁾ らにより、リンパ球の幼若化作用が見出された。

これは、T, B 両リンパ球を刺激するといわれており⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾, Mellstedt⁽⁵⁹⁾ らによれば、PWM の濃度に左右され、low dose では B cell が反応し、high dose では、T cell が反応するといひ、Waxdal⁽⁶⁰⁾ らは、PWM を 5 つの mitogen に精製分離し、4 つの mitogen は T cell を刺激するが、蛋白分子量の大きい他の 1 つ (Pa-1) は B cell を刺激するといっている。一方 Janossay⁽⁶¹⁾ らは B cell mitogen である Pa-1 も T cell 依存性であると述べ、笠原⁽⁶²⁾ らも人リンパ球を Nylon fiber column 及び E-R 法にて T, B リンパ球に分離して PWM の作用を調べたところ、B cell の存在により、T cell 単独より強い刺激はあるが B cell 単独ではまったく反応しないと述べている。

これらのことから、Greaves⁽⁴⁰⁾ のいう様に、PWM は B cell よりも T cell をより強く刺激している様に思われ、本実験においても、PWM の反応は、PHA, Con A の反応と、よく似ており、すくなくとも 1% 濃度では T cell によく反応している様に思われる。

LPS はグラム陰性の細胞壁外層に存在するリ多糖類で、lipid A と称される lipid 部分、Core と称

される多糖体部分、及び種、抗原性の差異を示すO抗原複合体の部分よりなり⁶³⁾、lipid Aがリンパ球の芽球化を起すと考えられている⁶⁴⁾。これはマウスのBリンパ球を特異的に刺激することが知られている⁴⁵⁾⁶⁵⁾が、人のリンパ球については否定的な報告が⁶⁶⁾多い。これは人リンパ球を刺激して、RNA合成は亢進させるが、DNA合成はほとんど促進させない⁶⁸⁾、本方法による³H-thymidineの取り込みでは反応値が出ないのであろう。

これらの研究を背景に、Tリンパ球の subpopulation を PHA, Con A などの mitogen によって解析しようという試みが行われ、Stobo⁶⁹⁾⁷⁰⁾らはマウスで、 θ 抗原を有し、radiation sensitive で主にリンパ節にみとめられるTリンパ球(lymph node seeking cell)は PHA 及び Con A に同程度に反応し、 θ 抗原少く、比較的 radiation resistance で主として脾に存在するTリンパ球(spleen seeking cell)は Con A のみによく反応し PHA には反応しないと述べている。又 Diamond⁷¹⁾らもリンパ節に home するTリンパ球は、脾に home するTリンパ球に比し、in vitro で PHA 及び alloantigen によく反応し、これと逆に Con A に対しては、脾に home するリンパ球の方が、リンパ節に home するリンパ球より、よく反応すると述べている。

以上のごとく、Tリンパ球も機能的に均一な population でなく、すくなくともリンパ節に seeking する細胞と、脾に seeking する細胞に2大別されているが、Tリンパ球は、cell mediated cytotoxicity⁷²⁾、helper activity, suppressor function, graft vs host reactivity, killer activity 等の多様の機能を営んでいるものと思われ、PHA, Con A に対する反応性もそれぞれ subpopulation により異なっている様に思われる。そして、Con A 存在下でマウスの移植片拒絶反応が抑制されること⁷³⁾や、人 MLC において、末梢血リンパ球を Con A と共に培養すると suppressor cell が出現すること⁷⁶⁾、人腎移植患者には、suppressor cell が出現し、拒絶反応時では、PHA の反応に比べ Con A の反応性が低下⁷⁷⁾することからみると Suppressor T cell に Con A の反応性が高い様に思われる。

Sampson⁷⁸⁾らは、PHA, Con A で刺激した脾リンパ球の混合培養では、PHA の方が suppressor cell の出現が高いと異論を述べている。

Stont & Herzenberg⁷⁹⁾によると、マウスの脾の Ig G Fc receptor 陽性 (Ig G FcR⁺) のTリンパ球は

FcR⁺Tリンパ球に比して PHA に対する反応が不良であるとのべ、矢田⁸⁰⁾⁸¹⁾らも人リンパ球で同様の結果を述べている。健康人の末梢血リンパ球中の Ig G FcR⁺ Tリンパ球は羊赤血球ロゼット形成細胞の5.2 $\pm$ 1.9%を占めているが、癌の進行と共に増加する。胃癌の術前値を切除可能例、不能例、末期癌例に分けてみると、それぞれ8.5 $\pm$ 5.7%, 21.7 $\pm$ 4.9%, 29.5 $\pm$ 9.5%と癌の増悪と共に Ig G FcR⁺ Tリンパ球頻度が上昇してくる。腫瘍を切除すると、1~3週間以内に正常域に降りてくるという。以上より、進行癌患者の末梢血中には、PHA に反応性の低い、恐らくは Con A に比較的良好に反応するといわれる Suppressor T (Ts)細胞が増加して、有意に末梢血リンパ中のT細胞頻度が低下しないのに、PHA 幼若化反応が著明に低下するものと思われる。正常人や癌病態の良好な症例では PHA>Con A>PWM>LPS の順に反応したのに、進行癌では Con A>PWM $\geq$ PHA>LPS と順序が入れ替ったのは、進行癌では Ts が増加し、恐らくは helper T cell (T_H) や Cytotoxic T (T_C) 頻度が低下した為と考えられる。したがって、PHA, Con A, PWM などの mitogen を巧みに組み合わせてやると、その作用の強さから癌の進行度をより詳細に測定できるものと思われる。いわゆる immenological parameter として意義あるものと思われる。

1 方 Levamisole は L-tetramisole, Levo-2, 3, 5, 6-tetrahydro-6-phenyl-imidazo (2, 1-b) -thiazol monohydrochloride⁸²⁾ の構造式を持ち、Raeymaekers⁸³⁾らによって1966年合成され、強い駆虫作用⁸⁴⁾を示す。Renoux らは、この Levamisole に細胞性免疫能増強作用のあることを初めて見出し⁸⁵⁾、又彼らによってマウスでの tumor が Levamisole によって腫瘍部位の大きさと肺転移の抑制がある⁸⁶⁾との報告以来、in vitro, in vivo での検索がすすめられ、良好な臨床成績もみられている³⁶⁾⁸²⁾⁸⁷⁾。Levamisole の in vitro のTリンパ球刺激作用のうち最もよく検索されているものは、PHA に対する幼若化率に関してであり⁸⁸⁾⁸⁹⁾⁹⁰⁾、Levamisole 添加による幼若化率の上昇をみている。又 PHA の他に Con A, PWM の増強作用もみられている。

三輪⁹¹⁾らは、消化器癌患者143例に、術前3日前より Lavamisole を投与して、術後の PHA 幼若化率の変動とその予後とみているが、治癒切除例の PHA 幼若化率は、術後1ヶ月目に術前値より高く、以後幼若化率は低下せず持続するが、非治癒切除例では

2ヶ月目に上昇後6ヶ月目迄1次下降すると述べている。

三輪のリンパ球幼若化反応測定法は、PHAやPWMを1% (v/v) に加えて3日間培養後出現してくる大・中リンパ球の頻度を測定する形態学的方法によるものであるが、今回の³H-thymidineのup-takeにも機能的測定法においても、三輪のデータと大略一致している。Sampson⁹²⁾らは、健康人末梢血リンパ球を用いて、in vitroでlevamisoleがPHA, Con A, PWMの幼若化反応をいかに増幅するかを検討し、その結果PWMに最強の反応があり、ついでCon A, PHAの順に幼若化反応を増幅すると述べている。このことがin vivoにおいても然りであるとするなら、levamisole投与例においてはPWM>Con A>PHAの順位でも良いはずであるが、levamisole投与治癒切除症例群では終始PHA>Con A>PWMであり、levamisole投与非治癒切除症例群でも術後2ヶ月まではPHA>Con A>PWMであり、2ヶ月以降で病勢が増悪してきた時からCon A>PWM>PHAと順位が逆転している。levamisole非投与群の非治癒切除症例群では術前よりすでにCon A>PWM>PHAである。したがって、mitogenの反応順序の入れ替りは単なるlevamisoleのリンパ球のsubsetへの作用程度の差ではなく、やはり前述したごとく、進行性ではTsが増すなど、リンパ球の構成成分の変動によるものと結論する方が正しいようにみえる。

手術侵襲や、麻酔の影響が免疫能の低下を招来し⁹³⁾⁹⁴⁾、それが癌細胞の着床や増殖を促進し、ひいては再発の誘因となろう状態をlevamisoleによって抑制しようという試みが、Swierenga³⁶⁾、三輪⁹⁵⁾⁹⁶⁾らによってなされているが、本実験でもlevamisoleが、手術侵襲による細胞性免疫能低下を著明に防止している。

マウスの実験で、Merluzzi⁹⁷⁾らは、levamisole投与したマウス脾細胞にLPSを加えて反応値の上昇はみられなかったとしているが、本実験でもlevamisole投与群は、control群に比して、反応の上昇は起していない。しかし、LPSのB細胞刺激作用は、B細胞の20~30%のみが反応しているとの報告⁹⁸⁾もあり、このことだけでlevamisoleにB細胞賦活効果が全くないと断定することは危険であろう。

V. ま と め

T-cell stimulatorであるPHA, 異なるT-cell subsetを刺激するといわれるConcanavalin A(Con A), T-cell stimulatorであるが1部B cellを刺激するといわれるPoke weed mitogen (PWM), 動物ではB-cellを刺激するといわれるLipopolysacchride (LPS)を使い、免疫賦活剤であるLevamisoleを投与した癌患者末梢血リンパ球の術前、術後の幼若化反応の変化とLevamisoleの細胞性免疫賦活効果を検索し、併せ術後の $\frac{\text{Con A}}{\text{PHA}}$, $\frac{\text{PWM}}{\text{PHA}}$ の反応値の変化が癌病態の指標となり得るかを調べた。その結果

1. PHA, Con A, PWM幼若化反応は共に平行して変動し、癌の進行に従がい低下する。
2. LPS幼若化反応は、上記3種のmitogenの変動とは異なるがやはり癌の進行に従がい低下する。
3. 治癒切除例では、PHA>Con A>PWM>LPSの順であるが、非切除例では、Con A>PWM>PHA>LPSの順であり、 $\frac{\text{Con A}}{\text{PHA}} > 1$, $\frac{\text{PWM}}{\text{PHA}} > 1$ なる症例は予後が悪い。
4. Levamisole投与例は、非投与例に比して手術侵襲による術後の細胞性免疫能の低下を防止する。
5. 各種mitogenは互いにoverlapしないリンパ球のsubsetと反応している可能性がある。

文 献

1. 折田薫三：担癌生体の細胞性免疫，医学のあゆみ，91，406，1974.
2. 菊地浩吉，金谷 隆，山岡 博：人癌患者における細胞性免疫，医学のあゆみ，91，394，1974.
3. Southan, C.M., Moore, A.E. and Rhoads, C.P.: Homotransplantation of human cell lines, *Science* 125, 158, 1956.
4. Fuji, G. and Ishibashi, Y.: Studies on the skin homotransplantation in tumor bearing mice., *Jpn. J. Exp. Med.* 30, 119, 1956.
5. 石橋幸雄，関口守正，芦川和高：ガンの免疫，診断と治療，51，1619，1963.
6. Herberman, R.B.: Delayed hypersensitivity skin reaction to antigen on human tumors, *Cancer* 34,

- 1469, 1974.
7. 神原武志：担癌生体における遅延型アレルギーの研究—第一編，癌患者のツベルクリンアレルギーと，その passive transfer について，岡山医学会雑誌，79, 425, 1967.
 8. Hughes, L. and Lytton, B.: Antigenic properties of human tumors; Delayed cutaneous hypersensitivity reaction., *Br. Med J.* 1, 209, 1964.
 9. 三輪恕昭，折田薫三，田中早苗：癌進行度とリンパ球幼若化率との相関—消化器癌を中心に，医学のあゆみ，80, 634, 1972.
 10. David, B., Gavrioch, R.A. and Richard, A.: Lymphocyte response to PHA in patient with non-lymphoid tumors. *Lancet* 618, 1970.
 11. Whittaker, M.G., Rees, K. and Clark, C.G.: Reduced lymphocyte transformation in breast cancer, *Lancet* 1, 892, 1971.
 12. Bone, G. and Lander, I.: Peripheral blood lymphocyte count and pathological staging of tumors in the gastrointestinal tract., *Br. J. cancer* 30, 215, 1974.
 13. Hiroaki, Miwa and Kunzo Orita: Preoperative blastformation rate in gastrointestinal cancer patients, *Acta Med. Okayama* 31, 257, 1977.
 14. 服部孝雄，新本 稔，大屋正章：胃癌の免疫化学療法，2, 407, 1975.
 15. Good, R.A.: Relations between immunity and malignancy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 69, 1026, 1962.
 16. Hoover, R.S. and Fraumeri, J.F.Jr.: Risk of cancer in renal transplant recipients *Lancet* 2, 55, 1973.
 17. Starzi, T.E., Porter, K.A. and Anderson, G.: Long-term survival after renal transplantation in humans, *Am. Surg.* 172, 437, 1970.
 18. 湯村正仁，折田薫三：活性測定法—担癌生体リンパ球の MIF 活性の測定法を中心として—臨床免疫，5, 643, 1973.
 19. 折田薫三：マクロファージ遊走阻止試験，癌と化学療法，2, 699, 1975.
 20. Savel, H.: Effects of autologous tumor extracts on cultured human peripheral blood lymphocytes, *Cancer* 24, 56, 1969.
 21. Hellström, I.: A colony inhibition (C.I) technique for demonstration of tumor cell destruction by lymphoid cells *in vitro*. *Int. J. Cancer* 2, 65, 1967.
 22. Takasugi, M. and Klein, E.: A microassay for cell-mediated immunity. *Transplantation* 9, 219, 1970.
 23. Rosenan, W. and Moon, H.D.: Lysis of homologous cells by sensitized lymphocytes in tissue culture., *J. Natl. Cancer Inst.* 27, 471, 1961.
 24. 折田薫三：Reduction of immunological surveillance level in cancer patients. *Gann Monogr. Cancer Res.* 16, 53, 1974.
 25. 三輪恕昭，福田範三，折田薫三：リンパ球幼若化率，ツベルクリン反応，DNCB 反応による癌進行度の判定，外科，36, 477, 1974.
 26. Haruo Mugitani, Toshikazu Shinbo, and Jun-ichi Yata: Changes of T cells in the course of the treatment of malignant tumors of the digestive organs, *J. Jpn. Soc. Cancer Ther.* 13, 12, 1978.
 27. 矢田純一：ロゼット形成リンパ球の検出法とその評価，臨床免疫，6, 665, 1974.
 28. 渡辺信一郎：CEA (Carcino-Embryonic Antigen) —その特異性と診断的意義，臨床免疫，6, 891, 1974.
 29. 相模成一郎：臨床検査法としての DNCB 貼布試験，免疫実験操作法II, 521, 1972.
 30. 渡辺正一：胃癌患者の遅延型過敏反応，癌と化学療法，3, 139, 1976.
 31. 西戸孝昭，宮坂信之，奥田正治：PHA-induced Skin Reaction Factor (SRF) の研究—PHA 皮内反応の相関性とその意義—アレルギー，26, 60, 1977.
 32. Azuma, I.: Biologically active components from myobacterial cell walls I, Isolation and composition

- of cell wall skelton and component P₃, *J. Natl. Cancer Inst.* **52**, 95, 1974.
33. 折田薫三, 癌免疫治療ワクチン “BCG-CWS” について, *医学のあゆみ*, **103**, 211, 1977.
34. Kimura, I.: Immunotherapy in human lung cancer using the streptococcal agent OK-432, *Cancer* **37**, 2201, 1976.
35. 中野陽典, 田口鉄男: 抗腫瘍蛋白多糖体 PS-K を使用した癌の免疫化学療法, *癌と化学療法*, **2**, 13, 1975.
36. J. Swierenge, Dr Hc. Gooszen and Dr. R.G. Varderchveren: Immunopotential with Levamisole in Resectable Bronchogenic Carcinoma: A double blind controlled trial. *Br. Med. J.* **3**, 461, 1975.
37. Hiroaki Miwa, Kungo Orita and Sanae Tanaka: Blastformation rate of peripheral blood lymphocytes before and after recurrence of cancer, *Acta Med. Okayama* **30**, 379, 1976.
38. 三輪恕昭, 折田薫三, 田中早苗: 消化器癌再発前後における幼若化率の動態, *医学のあゆみ*, **98**, 840, 1976.
39. Blomgren, H. and Svedmyr, E.: Evidence for thymic dependence of PHA-reactive cells in spleen and lymphonodes and independence in bone marrow. *J. Immunol.* **106**, 835, 1971.
40. Greaves, M. and Janossy, G.: Elicitation of selective T and B lymphocyte responses by cell surface binding ligands. *Transplant Rev.* **11**, 87, 1972.
41. David, A. Lawrence and Ronald F. Schell: Differential effects of concanavalin A and phytohaemagglutinin on Murine Immunity. *Cell. Immunol.* **31**, 155, 1977.
42. John D. Stobo and William E. Paul: Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. *J. Immunol.* **110**, 362, 1973.
43. Mitchell, G.F. and Miller, J.F.: Cell to cell interaction in immune response II The source of hemolysim-fovming cells in irradiated mice given bone marrow and thymus or thoracic duct lymphocytes. *J. Exp. Med.* **128**, 821, 1968.
44. Katz, D.H. and Benacerraf, B.: The regulatory influence of activated T cells or B cells responses to antigen. *Adv. Immunol.* **15**, 1, 1972.
45. Gery, I., Krügar, J. and Spiesel, S.Z.: Stimulation of B-lymphocytes by evdotoxin. Reactions of Thymus-derived mice and karyotype analysis of dividing cell in mice bearing T₆T₆ thymus grafts. *J. Immunol.* **108**, 1088, 1972.
46. A.F. Rojas, E. Mickiewicz, and J.N. Feiarstein: Levamisole in advanced human breast cancer. *Lancet* **I**, 211, 1976.
47. 三輪恕昭, 折田薫三, 田中早苗: Levamisole による癌患者細胞性免疫能の賦活, *医学のあゆみ*, **100**, 749, 1977.
48. 佐丸義夫, 関口守正, 小石敏興: 末梢リンパ球収集法について—特に Angisconvay-Ficoll と Angioconvay Dextran による遠心分離法・移植 **7**, 118, 1972.
49. Nowell, P.C.: Phytohemagglutinin, an initiator of mitosis in cultures of normal leukocyte. *Cancer Res.* **20**, 462, 1962.
50. Paermain, G., Lycette, R.R. and Fitzgarld, P.H.: Tuberculin induced mitosis in peripheral leukocyte, *Lancet* **I**, 637, 1963.
51. Greaves, M.F., Roitt, I.M. and Rosa, M.E.: Effect of busectomy and thymectomy on the response of chicken peripheral blood lymphocytes to PHA. *Nature* **220**, 293, 1968.
52. Sumner, J.B.: The globulins of the Jack bean, *Concavalia ensiformis*. *J. Biol. Chem.* **37**, 137, 1919.
53. Weckslar, M., Levy, A. and Jaffe, W.G.: Action mitogenica de extractors de canavaria ensiformis concanavalin A. *Acta Cient. Venezolana* **19**, 154, 1968.
54. Powell, A.E. and Leon, M.A.: Reversible interaction of human lymphocytes with the mitogen cont. *Exp. Cell Res.* **62**, 315, 1970.
55. Toivaren, P. and Toivaren, A.: Selective activation of chicken T-lymphocytes by Con A. *J. Immunol.*

- 111, 1602, 1973.
56. Farnes, P., Barker, B.E. and Bronhill, L.E.: Mitogenic activity in *Phytolacca americana* (Poke weed), *Lancet* I, 1100, 1964.
57. Gveaves, M.F. and Bauminger, S.: Activation of T and B-lymphocytes by insoluble phytomitogens. *New Biology* 235, 67, 1972.
58. Douglas, S.D.: Electron microscopic and functional aspects of human lymphocyte response to mitogen. *Transplant Rev.* 11, 39, 1972.
59. Mellstedt, H., Jondal, M. and Holm, G.: In vitro studies of lymphocytes from patients with plasma cell myeloma. II. characterization by cell surface markers. *Clin. Exp. Immunol.* 15, 321, 1973.
60. Waxdal, M.J.: Isolation, characterization, and biological activity of five mitogens from pokeweed. *Biochemistry* 13, 3671, 1974.
61. Janossay, G., Gomez de la choncha, E., Luquatti, A. et al.: T cell regulation of immunoglobulin synthesis and proliferation in pokeweed (Pa-1)-stimulated human lymphocyte cultures. *Scand. J. Immunol.* 6, 109, 1977.
62. 笠原 忠, 伊藤喜久, 河合 忠: 扁桃および末梢血から高度に精製された T・B リンパ球の各種 mitogen に対する反応性, 臨床免疫, 10, 68, 1978.
63. 行山 康: LPS と補体, 臨床免疫, 9, 362, 1977.
64. Ling, N.R. and Kay, J.E.: Lymphocyte stimulation, 114, 1975.
65. Anderson, J., Möller, G. and Sjöberg, O.: Selective induction of DNA synthesis in T and B lymphocytes. *Cell Immunol.* 4, 381, 1972.
66. Peavy, D.L., Adler, W.H. and Smith, R.T.: The mitogenic effects of endotoxin and staphylococcal endotoxin B on mouse spleen cells and human peripheral lymphocytes. *J. Immunol.* 105, 1453, 1970.
67. Gveaves, M., Janossy, G. and Doenhof, M.: Selective triggering of human T and B lymphocytes in vitro by polyclonal mitogens. *J. Exp. Med.* 140, 1, 1974.
68. 中川俊郎, 新保敏和, 矢田純一: 細菌リポ多糖体 (LPS) のヒトリンパ球に対する刺激作用, 臨床免疫, 9, 377, 1977.
69. Stobo, J.D., and Paul, W.E.: Functional heterogeneity of murine lymphoid cells, III Differential responsiveness of T cells to phytohemagglutinin and concanavalin A as probe for T cell subsets. *J. Immunol.* 110, 362, 1973.
70. Stobo, J.D.: PHA and Con A, Probe for murine "T" cell activation and differentiation., *Transplant. Rev.* 11, 60, 1972.
71. Diamond, B., Knight, S.C. and Lano, E.M.: Since observation on the *in vitro* reactivity of lymphoid subpopulations, *Cell Immunol.* 11, 239, 1974.
72. Shibu, H., Kisielow, P. and Bean, M.A.: Expression of T-cell differentiation antigens on effector cells in cell mediated cytotoxicity in vitro. Evidence for functional heterogeneity related to the surface phenotype of T cell. *J. Exp. Med.* 141, 227, 1975.
73. Kisielow, P., Shiku, H. and Benerlay, P.C. C.: Ly antigens as markers for functionally distinct subpopulations of thymus-derived lymphocytes of the mouse. *Nature* 253, 219, 1975.
74. Cantor, H. and Boyse, E.A.: Functional subclasses of T lymphocytes bearing different Ly antigens. II. Cooperation between subclasses of Ly⁺ cell in the generation of killer cells. *J. Exp. Med.* 141, 1390, 1975.
75. Nirmul, G., Sereric, C. and Taub, R.N.: In vitro effect of concanavalin A, Immunosuppressive effect. *Transplantation* 14, 91, 1972.
76. Hubert, C., Delespesse, G. and Govaerts, A.: Concanavalin A-activated suppressor cells in normal human peripheral blood lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 26, 95, 1976.

77. Thomas, F., Lec, H.M. and Wolf, J.S.: Monitoring and modulation of immune reactivity in human transplant recipients. *Surgery* **79**, 408, 1976.
78. Sampson, D., Grotelueschen, C. and Kauffman Jr. H.M.: The human splenic suppressor cell. *Transplantation* **20**, 362, 1975.
79. Stout, R.D. and Herzenberg, L.A.: The Fc receptor on thymus-derived lymphocytes. II. Mitogen responsiveness of T lymphocytes bearing the Fc receptor. *J. Exp. Med.* **142**, 1041, 1975.
80. 新保敏和, 矢田純一: 悪性固型腫瘍患者における Ig G-Fc リセプター陽性細胞の意義について. 臨床免疫, **9**, 487, 1977.
81. 新保敏和, 矢田純一: ヒト Ig G-Fc receptor 陽性Tリンパ球の検出法と各種疾患における変動. 臨床免疫, **9**, 141, 1977.
82. Chirigo, M.A., Fuhman, F. and Pvyor, J.: Prolongation of chemotherapeutically induced remission syngeneic murine leukemia by L-2, 3, 5, 6, -tetrahydro-6-phenylimidazo [2, 1-b] thiazole Hydrochloride: *Cancer Res.* **35**, 927, 1975.
83. Raeymaekers, A.M., Allewun, F.T.N. and Vanderberk, J. Nohel Broad-spectrum anthelmintics: Tetramisole and related derivatives of 6-arylimidazo [2, 1-6] thiazol, *J. Med. Chem.* **9**, 545, 1966.
84. Thierpont, D., Vamparus, O.F.J. and Raeymaekers, A.H.M.: Tetramisole (R 8299), A new potent broad spectrum anthelmintic. *Nature* **209**, 1048, 1966.
85. Renoux, G. and Renoux, M.: Effect immunostimulant dun imdothiazole dans Immunisation des souris contre l' injection par Brucella abortus., *C.R. Acad. Sci.* **274**, 756, 1972.
86. Renoux, G. and Renoux, M.: Levamisole inhibits and cures a solid malignant tumor and it's pulmonary metastasis in mice, *Nature New Biol.* **240**, 217, 1972.
87. Feirstein: Levamisole in advanced human breast cancer: *Lancet* **1**, 211, 1976.
88. Hadden, J.W., Coffey, R.G. and Hadden, E.M.: Effects of levamisole and imidazole on lymphocyte proliferation and cyclic nucleotide levels. *Cell Immunol.* **20**, 98, 1975.
89. Hokawa, Y.: Effect of levamisole and c-reactive protein on mitogen stimulated lymphocytes in vitro and on the c-reactive protein response *in vivo*. *Fed. Proc.* **33**, 650, 1974.
90. Lichtenfeld, J.L., Denser, M.R. and Wiernik, P.H.: Modulating effects of Levamisole (NSC-177023) on human lymphocyte response *In vitro*. *Cancer Treat. Res.* **60**, 571, 1976.
91. 三輪恕昭, 河合知則, 折田薫三: Levamisole による消化器癌免疫療法, 癌と化学療法, **5**, 51, 1978.
92. Sampson, D. Lui A.: The effect of levamisole on cell-mediated immunity and suppressor cell function. *Cancer Res.* **36**, 952, 1976.
93. Riddle, P.R. and Berenbaum, M.C.: Postoperative depression of the lymphocyte response to phytohaemagglutinin. *Lancet* **I**, 746, 1967.
94. 三輪恕昭, 折田薫三: リンパ球幼若化率による消化器癌患者術後病態の長期検索, 臨床外科, **32**, 891, 1977.
95. 三輪恕昭, 中原東亜, 折田薫三: Levamisole による癌患者細胞性免疫能の賦活効果, 日本消化器外科雑誌, **10**, 436, 1977.
96. 三輪恕昭, 折田薫三, 田中早苗: Levamisole による癌免疫療法, 日本臨床外科医学会雑誌, **39**, 103, 1978.
97. Merluzzi, V.J., Badger, A.M. and Kaiser, C.W.: *In vitro* stimulation of murine lymphoid cell cultures by levamisole, *Clin. Exp. Immunol.* **22**, 486, 1975.
98. Janossy, G., Greaves, M.F. and Doenhoff, M.J.: Lymphocyte activation. V. Quantitation of the proliferative response to mitogens using defined T and B cell populations. *Clin. Exp. Immunol.* **14**, 581, 1973.

Blastogenesis of peripheral lymphocytes against various mitogens in cancer patients

Tomonori KAWAI

First Department of Surgery, Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. K. Orita)

Phytohemagglutinin (PHA), T-cell stimulator, concanavalin A (ConA), stimulator upon various T-cell subjects, Pokeweed mitogen (PWM), T-cell stimulator and partial B-cell stimulator, and lypopolysaccharide (LPS), B-cell stimulator in animals, were applied to patients with cancer of advanced stage. The changes in blastogenesis of peripheral blood lymphocytes before and after operation or administration of levamisole (immunostimulator) and effectiveness of levamisole were studied. The postoperative changes in relative values of $\frac{\text{ConA}}{\text{PHA}}$, $\frac{\text{PWM}}{\text{PHA}}$, were also examined. The results were as follows: 1. Blastogenesis of peripheral lymphocytes against PHA, ConA and PWM decreased, paralleling progress of cancer. 2. LPS-blastogenesis was different from the above mentioned 3 kinds of mitogen but it also decreased with progress of cancer. 3. In curative resection, the order of the value in blastogenesis was $\text{PHA} > \text{ConA} > \text{PWM} > \text{LPS}$. In non-resected cases, it was $\text{ConA} > \text{PWM} > \text{PHA} > \text{LPS}$. When the value of $\frac{\text{ConA}}{\text{PHA}}$, or $\frac{\text{PWM}}{\text{PHA}}$ was greater than 1, the prognosis were worse. 4. In cases who received levamisole, the decrease in blastogenesis of lymphocytes against each mitogen did not in blastogenesis of lymphocytes against each mitogen did not occur. 5. Each mitogen was thought to react upon various subjects of lymphocytes which did not overlap with each other.