

溶連菌剤の腫瘍免疫学的研究

第 3 編

溶連菌製剤 OK-432と BCG の宿主に 及ぼす影響と抗腫瘍効果の比較検討

岡山大学医学部 第2内科（指導：木村郁郎教授）

研究生 安 原 尚 藏

（昭和51年 8 月27日受稿）

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験方法

第3章 実験成績

第1節 肝に及ぼす影響

第2節 末梢白血球の変動

第3節 腹腔内細胞の変動

第4節 腹腔内投与の効果

第5節 腫瘍内直接投与の効果

第4章 総括並びに考案

第5章 結 論

第1章 緒 言

溶血性連鎖球菌製剤（OK-432）については既に前編にて本薬剤が宿主を介する抗腫瘍作用を有すること、その主なる作用機序はマクロファージを主体とする非特異的な腫瘍細胞の破壊であること、また本剤の未知の作用機序として腫瘍特異免疫過程へも関与している可能性があることを明らかにして報告した。一方、BCGについては Mathe¹⁾らが臨床的に急性リンパ性白血病患者に投与して有意の寛解日数の延長を認めて以来、人癌免疫療法剤としてのBCGの作用が注目され始め諸外国で癌患者へのBCG投与が活発に開始され出している。基礎的には Zbar²⁾らの実験報告にある如く BCGの作用機序としては BCGが直接に腫瘍細胞に対して増殖阻止的ないし細胞破壊的に働くのではなく、すべて宿主の反応を媒介として作用すると結論されている。我国では

徳永^{4) 5)}らが同様の報告をしている。即ち BCGの抗腫瘍作用の機構として 1) 局所における BCG特異炎症反応による腫瘍細胞の巻き込み破壊。2) アジュバント作用による腫瘍抗原の特異的認識の増強。3) 全身的、非特異的な免疫監視機能の増強。以上の3点をあげている。このような BCGの抗腫瘍作用の機序は著者がこれまでに報告して来た OK-432の抗腫瘍作用と似ている様に思われ、また木村らは OK-432による人癌の免疫化学療法⁶⁾を試みている。著者は今回 OK-432と BCGの宿主に及ぼす影響と抗腫瘍効果をマウスを用いて比較検討したのでその成績を報告する。

第2章 実験方法

実験動物としては先ず肝に及ぼす影響を見るために ICR 雄性 6 週令マウスを使用し OK-432 0.5 KE (Klinische Einheit), BCG 2.5 mg を腹腔内に 1 回投与し、50日後に屠殺して肝、脾、肺の病変の有無を検索した。次に末梢白血球、腹腔細胞の変動を見る目的で OK-432 0.5 KE (A 群溶血性連鎖球菌 Su 株、菌数、約 5×10^7 個)、BCG 0.02 mg (弱毒牛型結核菌、菌数、約 4×10^5 個) を 1 週間腹腔内投与し投与前、投与開始 1 週後、2 週後、3 週後、4 週後と経時的に尾静脈より採血し、白血球数の算定及び分類を行ない、また同じ投与量、投与法にて ICR マウスの腹腔内遊出細胞についても経時的に算定及び分類をマイ・ギムザ染色にて行ない、両者の宿主に及ぼす影響を検討した。

抗腫瘍効果の比較実験では動物は C₃H 雄性 6 週令

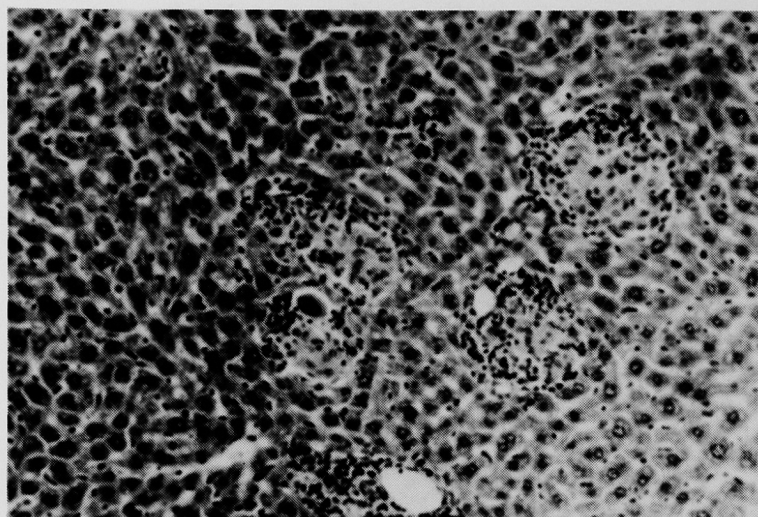


写真1 BCG 腹腔内投与マウスの肝組織像 (BCG 2.5mg1回投与) ヘマトキシリンエオジン染色
弱拡大 10×10

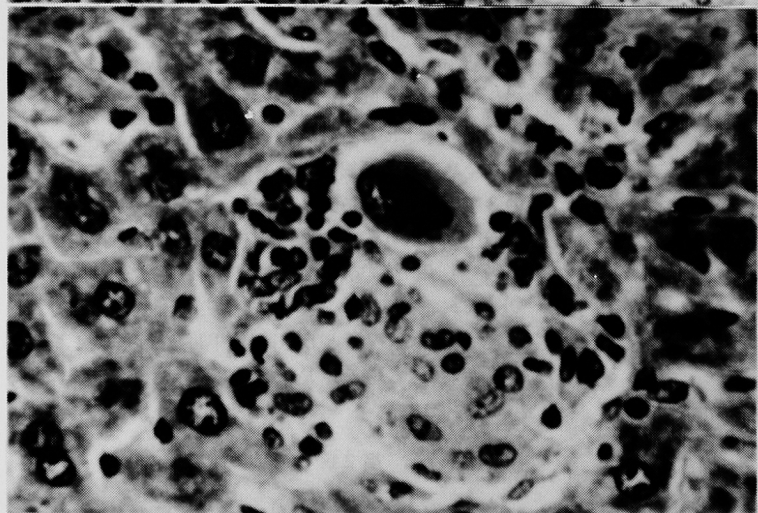


写真2 BCG 腹腔内投与マウスの肝組織像 (BCG 2.5mg1回投与) ヘマトキシリンエオジン染色
強拡大 10×40

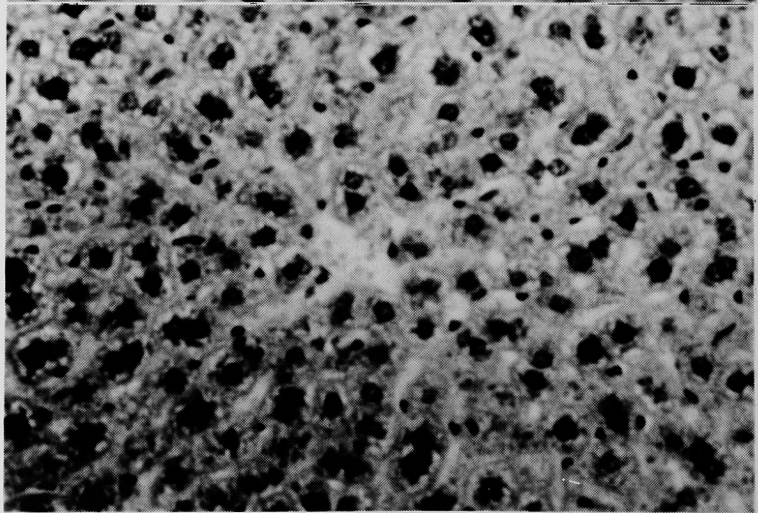


写真3 OK-432 腹腔内投与マウスの肝組織像 (OK-432 0.5KE1回投与) ヘマトキシリンエオジン染色
強拡大 10×40

マウスを使用し、腫瘍は Methylcholanthrene (MC) 100mg を 20 ml のコーンオイルに溶解し、その 0.2 ml を C₃H マウスの背部に皮下注射後 50 日目に発生した MC induced sarcoma を継代して使用した。投与方法としては 10^7 個の腫瘍細胞を腹腔内に移植し、その移植の前或は後に 1 週間 OK-432 0.5KE, BCG 0.02 mg を腹腔内投与する方法と、 10^5 個の腫瘍細胞を皮下移植後、腫瘍径が 0.5cm 前後に発育した時点より OK-432 1KE, BCG 0.1mg を週 1 回計 3 回腫瘍内に局注する方法を試み、各々生存率或は腫瘍径を測定することにより効果を比較した。

BCG は日本 BCG 製造株式会社製の凍結乾燥菌体を使用の都度生食水に溶解して使用し、MC induced sarcoma は移植に際し細切後フィルターにて物理的に遊離細胞とし Phosphate Buffer Saline にて洗滌後、算定して移植した。個々の実験の詳細は成績の項で述べる。

第 3 章 実験成績

第 1 節 肝に及ぼす影響

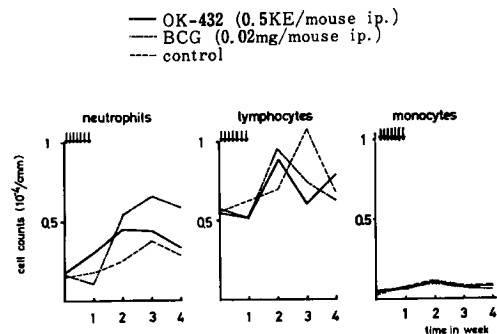
先ず OK-432 或は BCG を投与することによって宿主の肝、脾、肺は如何なる影響を受けるかについて検討した。即ち OK-432 0.5KE (菌数、約 5×10^7 個)、BCG 2.5mg (菌数、約 5×10^7 個) を ICR 雄性 6 週令マウスの腹腔内に 1 回投与し 50 日後に屠殺して肝、脾、肺の病変の有無を組織学的に検索した (各群 5 匹)。結果は写真 1, 2, 3 に示される如く BCG 投与群に高率に (5 匹中 4 匹, 80%) 肝に巨細胞を含む多数の小結節病変を認めたが、OK-432 投与群ではこのような異常を全く認めなかった。脾、肺については両者とも特別な変化を認めなかった。

第 2 節 末梢白血球の変動

ICR 雄性 6 週令マウスに OK-432 0.5KE, BCG 0.02 mg を 1 週間腹腔内投与し、投与前、投与開始 1 週後、2 週後、3 週後、4 週後と経時的に尾静脈より採血し、白血球の算定及び、その分類をマイ・ギムザ染色にて行なった。対照群として無処置のマウスについても同様に検索した (各群 10 匹)。結果は図 1 に示される如く白血球分類で好中球については BCG 投与群に OK-432 投与群より強い増加傾向が認められたが、リンパ球については両投与群の間に差は認められず、投与 2 週後では対照群より増加したが、3 週後ではむしろ減少傾向を認めた。単球については両者とも対照群と全く差が認められなかった。

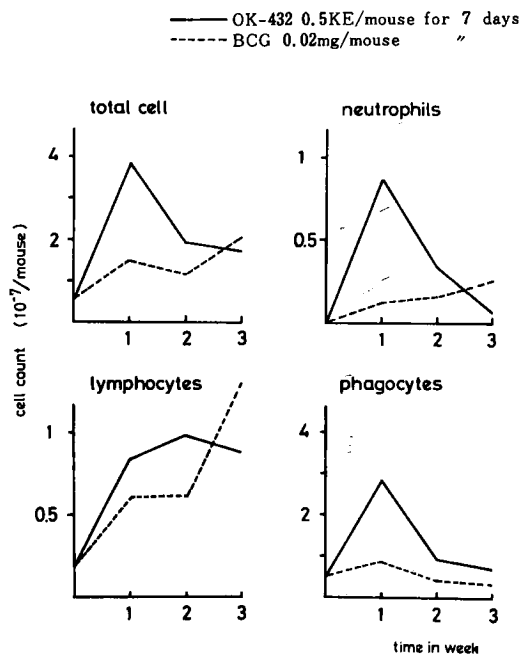
第 3 節 腹腔内細胞の変動

図 1 OK-432, BCG 投与による末梢白血球の変動



次に OK-432 或は BCG の腹腔内投与により宿主が影響を最も受けるのは局所である腹腔内の細胞の変化であろうと考え、腹腔内遊出細胞について比較検討した。即ち ICR 雄性 6 週令マウスに OK-432 0.5KE, BCG 0.02 mg を 1 週間腹腔内投与し、投与前、投与開始 1 週後、2 週後、3 週後の腹腔内遊出細胞の変動を経時的に検索した。1 回の検索に各々 4 匹ずつ使用し、腹腔内細胞の検索は cervical dislocation により屠殺後速やかに腹腔内に 5 ml の冷蔵菌生食水を注入して、よく腹部を振盪後開腹により採取した腹腔内液中の細胞数を算定し、マイ・ギム

図 2 OK-432, BCG ip. 投与による腹腔内細胞の変動



ザ染色によりその構成細胞を分類した。結果は図2に示される如く腹腔内遊出細胞についてはOK-432投与群では短時間で著明な腹腔内細胞の遊出増加を認め、その構成細胞では特にマクロファージ（貪食細胞）がOK-432の投与と平行して著明に増加することが判明した。好中球やリンパ球もOK-432の投与と平行して増加するが、それらの数はマクロファージに比較すると著しく以下であった。OK-432投与中止により好中球、マクロファージは速やかに減少傾向を示すが、リンパ球はOK-432の投与を中止しても1週間まではその数が次第に増加していく傾向が認められた。一方、BCG投与群ではOK-432投与群に比較して非常にゆるやかな腹腔内細胞の遊出増加を認め、特に投与中止2週後の腹腔内遊出細胞中にOK-432投与群より多いリンパ球増多が認められた。好中球については数も少なく、その遊出もOK-432投与群に比較して非常にゆるやかであり、マクロファージは余り変化が認められなかった。

第4節 腹腔内投与の効果

MC induced sarcomaの7代継代腫瘍 10^7 個をC₃Hマウスの腹腔内に移植し、その移植の前或は後に1週間OK-432 0.5 KE或はBCG 0.02mgを腹腔内投与した群を設けてその生存期間を腫瘍の移植のみで無処置の対照群と比較観察した（各群13匹）。結果は図3に示される如くOK-432投与群、BCG投与

図3 MC induced sarcoma ip. 移植に対するOK-432とBCGの効果

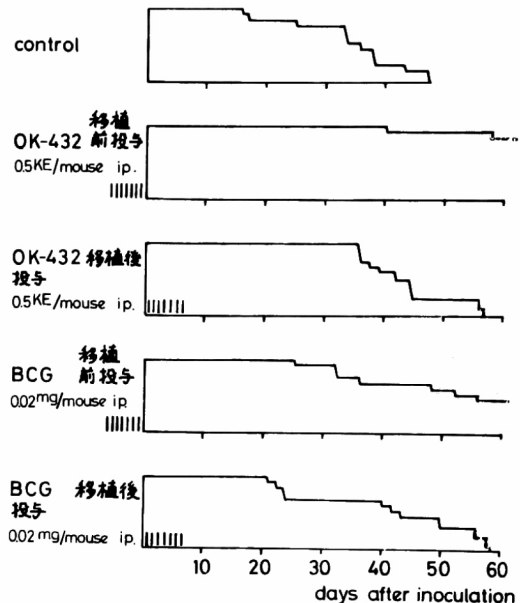
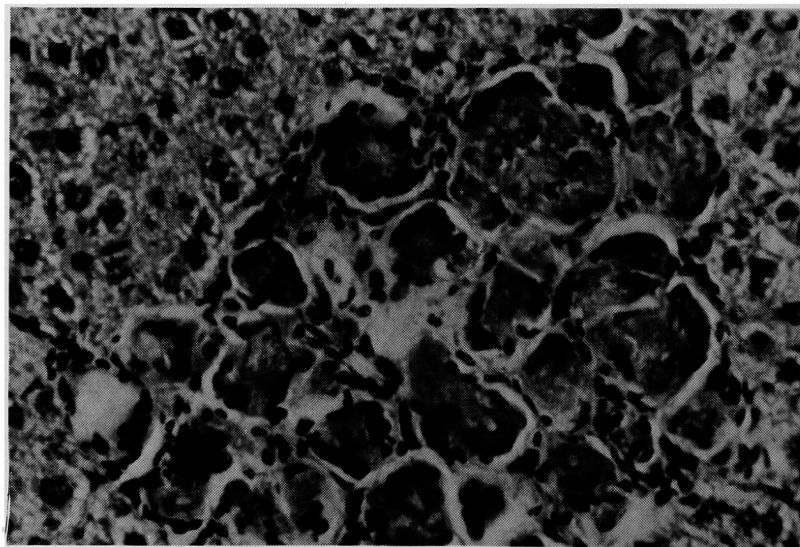


写真4 腫瘍移植後にBCG 0.02mgを1週間腹腔内投与し、腫瘍死したマウスの肝組織像
ヘマトキシリンエオジン染色
強拡大 10×40



群ともに移植後投与群より移植前投与群に明らかな生存期間の延長を認め、その50%生存期間は対照群の34日に比較して OK-432前投与群60日以上、OK-432後投与群43日、BCG前投与群58日、BCG後投与群42日であった。死亡例は全例腹腔内腫瘍形成による腫瘍死であったが、BCG後投与群の腫瘍死の1例に写真4に示す如く巨細胞を含む小結節病変を多数肝に認めた。移植後60日以上生存マウスは OK-432移植前投与群10匹、BCG移植前投与群5匹であり、それらはその後すべてを屠殺して病変の有無を検索した。その結果 OK-432移植前投与群の生存マウス10匹中1匹に胃噴門部にアズキ大の腫瘍を認め、BCG移植前投与群の生存マウス5匹中3匹に同様の腫瘍を認めた。しかし、肝、脾、肺には両者とも特に病変を認めなかった。

第5節 腫瘍内直接投与の効果

動物は C₃H 雄性 6 週令マウスを使用し、MC induced sarcoma の初代継代腫瘍 10⁶ 個をマウスの背部に皮下移植し、腫瘍径が 0.5 cm 前後に発育した時点より OK-432 1 KE, BCG 0.1 mg を週 1 回計 3 回腫瘍内に局注し、生食水 0.1 ml 局注の対照群と腫瘍の発育状況を腫瘍径を測定することにより比較検討した。OK-432 1 KE, BCG 0.1 mg は各々 0.1 ml の滅菌生食水に溶解して使用した (各群 10 匹)。結果は図4に示される如く両者とも対照群と差を認めず、本腫瘍に対する直接的な抗腫瘍作用は認められなかった。

第4章 総括並びに考案

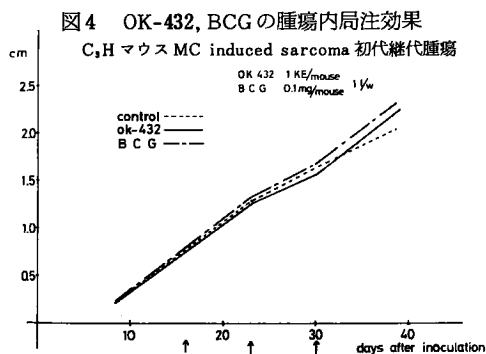
癌の治療としては外科的療法、内科的療法、放射線療法があるが、切除可能なものに対しては外科的療法が最もその予後が良いことは万人の認めるところ

であり、癌の早期発見、早期切除の努力がなされている。最近の早期発見を目的とした臨床検査設備のめざましい進歩もそれを裏づけるものであるが、なお発見が遅れて手術療法の適応がなかったり、放射線の感受性もなく全身的な内科的癌化学療法に頼らざるを得ない症例も多々ある。癌化学療法も新制癌剤の開発と平行してその進歩は著しいが、予後を更にあげるために外科的療法や放射線療法との併用も行なわれている。一方、各種の療法による寛解後に再発した患者にみられる如く、従来の療法に対抗して生体に潜んでいる少数の腫瘍細胞に対しては何ら治療はされておらず、経過観察のみの現状である。

近年の免疫学の著しい進歩により動物実験において腫瘍移植抗原の存在が明らかとなり、人癌においても免疫学的な考え方が導入され始め、先ずこのような寛解後の患者に対して宿主の有する免疫力を利用した療法の研究が開始され、ここに新しい癌の治療として免疫療法と称されるものが誕生した。現在各国でその分野の研究が盛んであり、それと平行して種々の免疫力賦活剤が開発されている。BCG,¹¹⁻¹⁵⁾ Levamisole,^{7, 8)} Lentinan,^{9, 10)} Corynebacterium,^{11, 12)}

PSK,^{13, 14)} OK-432^{15, 16)} 等が現在研究されているが、我国で開発された OK-432 にそのような作用を発見したのは木村らであり、現在臨床的に癌化学療法との併用⁹⁾が試みられている。

BCG を用いた人癌免疫療法の報告は多数^{11, 17, 18, 19)}存在するが、なかでも歴史的に有名なのはフランスの G. Mathe¹⁾ の小児急性リンパ芽球性白血病に対する BCG 療法の報告である。彼は平均年齢 6 歳の急性リンパ芽球性白血病患者の中より化学療法によって完全寛解となった 30 症例を選択し、うち 10 例を対照群としてその後無処置で観察し、残りの 20 例につき 8 例を BCG 生菌投与群、5 例をホルマリン或は放射線処理した同種白血病細胞ワクチン投与群、7 例を BCG 生菌と白血病細胞ワクチンの混液投与群に分け、各々の群の再発までの日数を観察した。その結果対照群の 10 例は再発までの日数が長いもので 130 日であり、それ迄に全例が再発したのに対し、BCG 生菌投与群では 3 例、白血病細胞ワクチン投与群では 2 例、BCG 生菌と白血病細胞ワクチンの混液投与群では 4 例が 130 日までに再発したのみであることより、何らかの免疫療法群に有意の寛解日数の延長が認められたと報告している。その後 Morton¹⁸⁾ Pinsky²⁰⁾ らのメラノーマに対する BCG の臨床効果が注目され、BCG の臨床応用が諸外国で活発に行



なわれつつある。²¹⁾

我国でも BCG 生菌の抗腫瘍作用に関する実験報告^{22) 23)}は存在し、BCG の抗腫瘍作用の機序もかなり明らかになってきている。徳永ら^{24) 25)}は BCG は直接腫瘍細胞を攻撃するのではなく、生体の網内系を刺激して全身的に抵抗性を高めるほか、特にそれが癌細胞と同一局所に存在する場合には BCG に特有な強い炎症によって癌細胞を非特異的に捲き込み破壊し、更にまた、その反応の場がもつ強いアジュバント効果によって癌特異抗原を増幅して生体に認識させる作用を有していると報告している。

著者は OK-432 の宿主を介する抗腫瘍作用について研究し、1, 2 編で報告してきたが、OK-432 の作用機序が BCG のそれと似ているように思われた。そこで今回、両者について宿主に及ぼす影響と抗腫瘍効果を比較検討した。

先ず宿主に及ぼす影響を観察するために両者の投与菌数を一定 (約 5×10^7 個) にしてマウスの腹腔内に投与し、50 日後に屠殺後、肝、脾、肺における病変の有無を検索した。その結果、肝については BCG 投与群に高率 (80%) に巨細胞を含む多数の小結節病変を認めたが、OK-432 投与群にはこの様な病変を全く認めなかった。この BCG を投与されたマウスの肝に認められた病変に組織学的に類似していると思われる肝病変についての報告は外国の文献に既にみられる。即ち Hunt²⁶⁾らは臨床的に BCG 免疫療法を施行中の患者 25 例中 3 例 (12%) に肝生検により non-caseating granuloma と称される病変を肝に認めたと報告している。また Sparks²⁷⁾らも同様の報告をしている。動物実験では Schauf²⁸⁾らがキヌザルに Sarcoma や Lymphoma を誘発する virus と共に 5×10^7 個の BCG 生菌を皮下注射や筋肉注射、腫瘍内投与した結果、BCG を投与した群はすべて 60 日以内に死亡し、virus のみで BCG を投与されていない群との生存率は全く同じであったと報告している。そして BCG 投与群に高率に granulomatous hepatitis, hepatic necrosis, nephrosis を認め、結核菌を肝、脾、肺より高率 (50% 以上) に分離同定している。しかし、障害された肝病変部よりの結核菌の同定はされなかったという報告もあり granulomatous hepatitis の起る機序はまだ明らかにされていない。現在我国では限られた少数の施設で BCG の臨床的応用がされているのみであり、このような granulomatous hepatitis の臨床的な報告はまだないし、動物実験での報告にも接することができない。

BCG の臨床的な使用法としては経皮多刺法、腫瘍内注入法、および癌細胞との混合接種法が用いられているが、BCG は弱毒牛型結核菌とはいえ著者の施行した実験結果からも宿主障害作用は明らかに存在し、生菌である BCG の臨床応用に際しては十分な注意が必要であると思われる。最近では BCG の副作用をなくして抗腫瘍作用のみを残すという試みから山村^{29) 30)}らは BCG 細胞壁より cell wall skeleton を精製し、その効果を報告しつつある。

次に OK-432, BCG をマウスに腹腔内投与した際の末梢白血球の変動、腹腔内細胞の変動を比較検討した。経時的な末梢白血球の変化については BCG 投与群に OK-432 投与群より強い好中球の増加を認めたに過ぎなかったが、BCG の方が OK-432 より宿主に対する全身への影響はこの投与量では幾分強いように思われた。しかし、局所である腹腔内の細胞の変動については OK-432 投与群の方が BCG 投与群より圧倒的に強い腹腔内細胞の変化を惹き起こすことがわかり、局所への影響は OK-432 の方が強いように思われた。即ち OK-432 投与群では著明な遊出細胞の増加を特に好中球、マクロファージに認めたが、BCG 投与群についてはゆるやかな腹腔内細胞の遊出増加を認めるのみで、好中球、マクロファージの増加も軽度であった。なおリンパ球について BCG 投与群に投与 3 週後で対照群より多い増加が認められたのは BCG による特異的な感染と関係のあるものかも知れない。

抗腫瘍効果の比較として先ず MC induced sarcoma は腹腔内移植として、移植の前或は後に 1 週間前記と同量の OK-432, BCG を腹腔内投与し、その生存期間を比較観察したところ OK-432 投与群、BCG 投与群とも移植前投与群に明らかな生存期間の延長が認められ、両者とも予めそれらの投与により宿主に惹起されていた反応が抗腫瘍的に作用した結果を得た。そして著者が施行したこの実験では OK-432 の方が BCG より宿主を介する抗腫瘍効果は強く認められた。BCG 投与群の中には巨細胞を含む小結節病変が多数肝臓に認められるものがあり、このマウスは腹腔内腫瘍形成による腫瘍死ではあったが、第 1 節の実験結果にも示す如く BCG の副作用としての肝障害の存在が本結果からもうかがわれた。一方、両者の腫瘍内直接投与の効果から見て両者とも全く本腫瘍に対する直接的な抗腫瘍効果は認められなかったことは興味深い。

第5章 結 論

作用機序の似ている抗腫瘍作用を有すと思われる OK-432 と BCG の宿主に及ぼす影響と抗腫瘍効果について比較検討を試み以下の諸点を明らかにした。

1) マウスに BCG の 1 回の腹腔内投与 (投与菌数約 5×10^7 個) にて 50 日後に 80% の高率に肝に巨細胞を含む多数の小結節病変が認められ、BCG による肝障害が明らかとなった。一方、同菌数の OK-432 投与群には全くそのような変化は認められなかった。

2) OK-432 0.5KE (菌数約 5×10^7 個), BCG 0.02mg (菌数約 4×10^8 個) の 1 週間の腹腔内投与にてマウスの末梢白血球の変動は BCG 投与群により強い好中球増多が認められ、宿主に与える全身的影響はこの投与量では BCG の方が OK-432 より幾分強いように思われた。

3) 上記の投与量、投与法による局所である腹腔内の細胞の変化は OK-432 投与群に短時間で著明な変化が特に遊出増加したマクロファージ、好中球に

認められ、宿主に与える局所的影響はこの投与量では OK-432 の方が BCG より強いように思われた。

4) 上記投与量をマウス腹腔内に MC induced sarcoma 移植前投与した場合に、OK-432, BCG と移植後投与した場合より明らかにその後の腹腔内移植腫瘍細胞に対し抑制的に作用し、両者の宿主を介する抗腫瘍作用の存在をうかがわせる結果を得たが、この投与量では OK-432 投与群に BCG 投与群より強い抗腫瘍効果が認められた。

5) 両者の MC induced sarcoma に対する腫瘍内直接投与ではどちらにも直接的抗腫瘍効果は認められなかった。

欄筆に臨み御指導、御校閲をいただいた恩師平木 潔名誉教授ならびに木村郁郎教授に深謝するとともに、終始懇切な御指導と助言をいただいた大榎泰亮講師に感謝の意を表する。

なお本論文の要旨は第34回癌学会総会 (昭和50年 大阪) において発表した。

参 考 文 献

- 1) G. Mathe, J. L. Amiel, L. Schwarzenberg, M. Schneider, A. Cattani, J. R. Schlumberger, M. Hayat, and F. de Vassal: Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukemia, THE LANCET 1, 697-699, 1969.
- 2) Berton Zbar, Irwin D. Bernstein, and Herbert J. Rapp: Suppression of Tumor Growth at the Site of Infection with Living Bacillus Calmette Guérin, J. Natl. Cancer Inst., 46: 831-839, 1971.
- 3) Gerald L. Bartlett, Berton Zbar, and Herbert J. Rapp: Suppression of Murine Tumor Growth by Immune Reaction to the Bacillus Calmette-Guérin Strain of Mycobacterium bovis, J. Natl. Cancer Inst., 48: 245-257, 1972.
- 4) Tohru Tokunaga, Tetsuro Kataoka, Reiko Nakamura, Saburo Yamamoto and Tomiko Tanaka: Tumor Immunity induced by BCG-Tumor cell mixtures in syngeneic mice. Japan J. Med. Sci. Biol., 26: 71-85, 1973.
- 5) 徳永徹, 片岡哲郎, 中村玲子, 山本三郎, 高橋令治: BCGの抗腫瘍作用の機序, 第3回日本免疫学会総会記録, 207-209, 1973.
- 6) 木村郁郎: 溶連菌剤 OK-432と癌の免疫化学療法の可能性, 癌と化学療法, 2: 21-33, 1975.
- 7) David Copeland, Thomas Stewart, and Jules Harris: Effect of Levamisole on In Vitro Human Lymphocyte Transformation Cancer Chemother Rep., 58: 167-170, 1974.
- 8) H. Verhaegen, J. De Cree, W. De Cock, and F. Verbruggen: Levamisole and the Immune Response, N. Engl. J. Med., 1289: 1148-1149, 1973.
- 9) Goro Chihara, Junji Hamuro, Yukiko Maeda, Yoshiko Arai, and Fumiko Hukuoka: Fractionation and Purification of the Polysaccharides with Marked Autitumor Activity, Especially

- Lentinan from *Lentinus edodes* (Berk) Sing. an Edible Mushroom, *Cancer Res.*, **30** : 2776-2781, 1970.
- 10) Yukiko Maeda and Goro Chihara : Periodical consideration on the establishment of antitumor action in host and activation of peritoneal exudate cells by lentinan, *GANN*, **64** : 351-357, 1973.
 - 11) Bernard Fisher, Norman Wolmark, Elizabeth Saffer, and Edwin R. Fisher : Inhibitory effect of prolonged *Corynebacterium parvum* and Cyclophosphamide administration on the growth of established tumors, *Cancer*, **35** : 134-143, 1975.
 - 12) Takao Hattori and Akira Mori : Autitumor activity of anaerobic corynebacterium isolated from the human bone marrow, *GANN*, **64** : 15-27, 1973.
 - 13) 塚越茂 : 多糖類の担癌動物に対する宿主効果, 特にカワラタケ由来蛋白糖 PS-K の作用について, 癌と化学療法, **1** : 251-257, 1974.
 - 14) 中野陽典, 田口鉄男, 前田利信, 荒川佳弘, 斎藤健一 : 担癌マウスの遅延型皮膚反応におよぼす蛋白多糖体 (PS-K) の影響, 癌と化学療法, **1** : 285-290, 1974.
 - 15) 木村郁郎, 大熨泰亮, 安原尚藏, 杉山元治, 占部康雄, 藤井昌史, 町田健一 : 担癌ハツカネズミの遅延型皮膚反応におよぼす溶連菌剤 OK-432 の影響, 医学と生物学, **91** : 91-93, 1975.
 - 16) 木村郁郎, 大熨泰亮, 安原尚藏, 杉山元治, 占部康雄, 藤井昌史, 町田健一 : 各種悪性腫瘍患者のツベルクリン反応, 特に癌化学療法と OK-432 併用症例における本反応の推移, 医学と生物学, **91** : 147-150, 1975.
 - 17) J. E. Sokal, C. W. Aungst : Response to BCG vaccination and Survival in Advanced Hodgkin's disease, *Cancer*, **24** : 128-134, 1969.
 - 18) J. E. Sokal, C. W. Aungst, and T. Han : Use of *Bacillus Calmette-Guérin* as adjuvant in human cell vaccines, *Cancer Res.*, **32** : 1584-1589, 1972.
 - 19) D. L. Morton, F. R. Eilber, R. A. Malmgren, and W. C. Wood : Immunological factors which influence response to immunotherapy in malignant melanoma, *Surgery*, **68** : 158-164, 1970.
 - 20) Carl Pinsky, Yashar Hirshaut, and Herbert Oettgen : Treatment of malignant melanoma by intratumoral injection of BCG, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **13** : p21, 1972.
 - 21) 徳永徹 : 人癌免疫療法の現状, 医事新報, **2609** : 43-49, 1974.
 - 22) 田中富子, 徳永徹, 片岡哲郎, 中村玲子 : 腫瘍細胞—BCG 混液の皮内接種によるマウスの腫瘍免疫, 腫瘍生着の抑制, 第30回癌学会総会記事, P 126, 1971.
 - 23) Tetsuro Kataoka, Reiko Nakamura, Saburo Yamamoto, Tohru Tokunaga, Toyoko Murohashi, and Tomiko Tanaka : Effect of BCG on carcinogen induced Tumor development in mice, *Japan J. Med. Sci. Biol.*, **25** : 377-382, 1972.
 - 24) 徳永徹 : BCG と腫瘍免疫, 医学のあゆみ, **84** : 603-611, 1973.
 - 25) 徳永徹, 片岡哲郎, 中村玲子, 山本三郎 : BCG による癌の免疫療法—実験腫瘍学からの示唆—, 臨床化学, **10** : 291-299, 1974.
 - 26) John S. Hunt, Melvin J. Silverstein, Frank C. Sparks, Charles M. Haskell, Yosef H. Dilch, and Donald L. Morton : Granulomatous hepatitis ; A complication of BCG immunotherapy, *LANCET*, **13** : 820-821, 1973.
 - 27) F. C. Sparks, M. J. Silverstein, J. S. Hunt, C. M. Haskell, Y. H. Dilch, and D. L. Morton : Complication of BCG immunotherapy in patients with cancer, *N. Engl. J. Med.*, **289** : 827-830, 1973.
 - 28) Victoria Schauf, William Landau and Larry Falk : SYSTEMIC BCG INFECTION IN MARM-OSETS, *Proceedings of AACR and ASCO.*, **16** : P 102, 1975.
 - 29) 東市郎, 山村雄一 : BCG 生菌と菌体成分による癌の免疫療法, 癌と化学療法, **1** : 167-178, 1974.
 - 30) 山村雄一, 吉崎和幸, 八倉隆保, 東市郎 : 悪性黒色腫の BCG 細胞壁成分による免疫療法, 第34回日本癌学会総会記事, P 61, 1975.

**Immunological studies of the streptococcal preparation, OK-432,
on neoplasm**

**Part III. Comparative studies on the effect for the host
and the antitumor action of the streptococcal preparation, OK-432,
and Bacillus Calmette Guérin**

by

Shozo YASUHARA

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Ikuro Kimura)

Effect for the host and the tumor of the streptococcal preparation, OK-432, and Bacillus Calmette Guérin (B.C.G.) were comparatively studied.

Its results are described below:

- 1) Granulomatous hepatitis with giant cells was observed in 4 of 5 mice (80%) receiving 5×10^7 B.C.G. organisms by i.p. injection. But there are no pathological findings in liver receiving the same bacterial counts of OK-432 as those of B.C.G..
- 2) Neutrophilia in mice receiving 4×10^5 B.C.G. organisms i.p. is more remarkable than in mice receiving i.p. OK-432 containing 5×10^7 streptococcal hemolyticus.
- 3) By administrating OK-432 or B.C.G. i.p. at the same quantity mentioned above, peritoneal cells, particularly macrophages and neutrophils, are exudated more markedly in mice receiving OK-432 than B.C.G..
- 4) At the same dosage, the survival rate of the C3H mice pretreated i.p. with OK-432 was more prolonged than the rate of the C3H mice pretreated i.p. inoculation of methylcholanthrene-induced sarcoma.

The results stated above lead to the conclusions that B.C.G. has a liver damage, i.e., granulomatous hepatitis as the side effect by administrating the massive dose in contrast to OK-432. B.C.G. is stronger than OK-432 as the general stimulant to the host, and OK-432 is stronger than B.C.G. as the local stimulant. And consequently the host-mediated antitumor action of OK-432 is more predominant than B.C.G. at the dose that the author investigated in this paper.