

ACNU, 頭部照射がマウスリンパ球機能に 与える影響の研究

新潟大学脳研究所脳神経外科学教室 (主任: 田中隆一教授)

山中 龍也

Effects of ACNU and Cranial Irradiation on the Immune System of Mice

Ryuya YAMANAKA

*Department of Neurosurgery, Brain Research Institute,
Niigata University
(Director: Prof. Ryuichi TANAKA)*

Effects of ACNU and cranial irradiation on the mouse immune system were studied. The mice were divided into three groups according to the treatments, that is, Group A; injection of ACNU (30mg/kg) intraperitoneally, Group B; single exposure of 10Gy on the head, Group C; both ACNU (30mg/kg) injection intraperitoneally and single exposure of 10Gy on the head. Peripheral white blood cell counts, spleen cell subsets, NK cell activity, lymphocyte blastogenesis and production of IFN- γ were analyzed serially once a week for 6 weeks after treatments.

Results were as follows, in the group A, NK cell activity decreased during the 4~5 weeks, con A blastogenesis during the 1~4 weeks, L3T4 Cells, Lyt2 Cells and production of IFN- γ during the 2~5 weeks respectively. However those returned to normal range at the 6 weeks. In the group B, each parameters excepts for L3T4 Cells and production of IFN- γ decreased for up to the 1 week, and returned to normal range thereafter. L3T4 Cells decreased at the 2 and during the 5~6 weeks. Production of IFN- γ increased at the 1 week, decreased during the 2~3 weeks and returned to normal range thereafter. In the group C, suppressive effects were severe and continued longer period than in group A and B. Con A blastogenesis, L3T4 Cells and production of IFN- γ were still suppressed at the 6 weeks. Therefore, intensive treatments of radiochemotherapy to the brain tumor may be considered to suppress patient's immuno-

Reprint requests to: Ryuya YAMANAKA,
Department of Neurosurgery, Brain Research
Institute, Niigata University, Asahimachi-dori
1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学脳研究所脳神経外科学教室
山中 龍也

logical function. We should take into account for patient's immunological function including lymphocytic function in the treatment for brain tumor.

Key words: ACNU, blastogenesis, IFN- γ , cranial irradiation, NK cell activity, subsets
ACNU, 幼若化反応, IFN- γ , 頭部照射, NK 活性, サブセット

はじめに

悪性脳腫瘍の治療は集学的治療が提唱され、手術によりできるだけ腫瘍を摘出後に、化学療法、放射線照射療法、免疫療法が組み合わされて行われ、寛解維持の目的で化学療法が継続的に行われている。しかしながら濃厚な治療が患者の負担となり、治療そのものにより逆に患者の状態悪化を招く事はまれならず遭遇され、こうした集学的治療が免疫抑制効果をもたらす危険性も考えられる。

脳腫瘍患者の免疫能に関する報告¹⁾⁻¹⁶⁾は多く見受けられるが、その多くは末梢血リンパ球 subset を中心としたもので、リンパ球機能を治療経過に伴い詳細に検討した報告は乏しい。

現在、我が国で悪性脳腫瘍の化学療法剤として広く使用されている ACNU および頭部照射が、患者の免疫系に及ぼす影響を検討する目的で、マウスモデルを用いリンパ球機能を中心に詳細な継時的検討を加えた。

即ち、手術により腫瘍が摘出された後の初期治療、維持治療のモデルとして本実験を行い、治療が免疫系に与える影響を検討した。

方 法

1. 実験動物および治療法

6週齢の C57BL/6 マウス（日本チャールズリバー社より購入）を使用した。治療は (A) 群：1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)-methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea (ACNU：三共) 30 mg/kg 腹腔内投与、(B) 群：Lineac 10 Gy 頭部照射、(C) 群：ACNU 30 mg/kg 腹腔内投与 + Lineac 10 Gy 頭部照射とし、治療後1週毎6週後まで以下の事柄につき検討した。尚、各群1週毎に n=5 にて解析した。マウス実験脳腫瘍に対する治療量は ACNU 10~40 mg/kg¹⁷⁾、頭部照射 10~15 Gy¹⁸⁾ と報告されており、LD50 値 (ACNU 60 mg/kg、頭部照射 20 Gy) の50%を今回の治療量と決めた。尚、いずれもクリーンケージラック内で飼育し、飼料、水は常時与えた。

2. 末梢血白血球数、脾細胞数の検討

白血球数はヘパリン加、心臓採血を行い、Bürker-Türk の計算盤にて測定した。脾細胞は屠殺したマウスから藤原ら¹⁹⁾の方法に従い脾臓を取り出し、脾細胞浮遊液をトリリス NH₄Cl buffer にて溶血後、牛胎児血清10%添加 RPMI 1640 (RPMI 1640-10% FBS) (Nissui, Tokyo, Japan) にて 1×10^6 個/50 μ l に調整した。

3. 脾細胞 Subsets の検討

脾細胞浮遊液 (1×10^6 /50 μ l) に 10 μ l の各モノクローナル抗体 (抗 Lyt2-FITC, L3T4-PE (Becton Dickinson, Mountain View, CA), Mac 1-FITC (Caltag, South San Francisco, CA), LR-1 (Serotec, Bicester, England)) を加え30分間反応後、PBS-2% FBS にて3回洗浄した。B cell を調べる場合には、Rabbit anti-rat IgM-FITC (Serotec, Bicester, England) をさらに30分間反応させ、3回洗浄をくりかえした。最後に FITC 及び PE 陽性細胞の割合を FACScan (Becton Dickinson, Mountain View, CA) を用いて検討した。

4. NK 活性の検討

NK 活性は、YAC-1 細胞に対する細胞障害活性で検討した。標的細胞 (1×10^6 /0.4 ml) に Na₂⁵¹CrO₄ (New England Nuclear, Boston, MA) 100 μ Ci 加え、37°C、5%炭酸ガス培養器内で60分間培養を行い、PBS にて3回遠沈洗浄後、RPMI 1640-10% FBS にて 1×10^5 /ml の濃度で浮遊させた。脾細胞浮遊液 (5×10^6 /ml, 2.5×10^6 /ml, 1.25×10^6 /ml) 0.1 ml と標的細胞浮遊液 0.1 ml を96穴マイクロタイタープレート (Corning, New York, NY) に分注し、Effector/Target 比は 50/1, 25/1, 12.5/1 とするにした。プレートを37°C、5%炭酸ガス培養器内で6時間反応させた後、400 g 5分間遠沈し、上清 0.1 ml の放射活性を γ 線カウンターで測定した。自然解離は培養液 0.1 ml 加えたものから測定し、最大解離は 0.1% TritonX-100 を 0.1 ml 加えたものから測定し、次式から NK 活性を算出した。

$$100 \times \frac{\text{experimental release} - \text{spontaneous release}}{\text{maximum release} - \text{spontaneous release}} (\%)$$

尚、各検査につき triplicate でを行い、E/T 比 50/1

の結果を検討した。

5. Blastogenesis の検討

脾細胞 1×10^5 個を RPMI 1640-10% FBS 0.2 ml に浮遊させ96穴マイクロプレート (Falcon 3072, Becton Dickinson, Lincoln Park, NJ) に分注し, Concanavalin A (Pharmacia, Piscataway, NJ) $0.5 \mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ 或いは, Lipopolysaccharide (Difco Lab, Detroit, MI) $10 \mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ を各 well に加えた。Non-stimulated well には mitogen を加えなかった。プレートを 37°C , 5% 炭酸ガス培養器内で72時間培養し培養を終える20時間前に $0.5 \mu\text{Ci}/50 \mu\text{l}$ の ^3H -thymidine deoxyribose (^3H -Tdr) (Amersham, Tokyo, Japan) を加え, 反応終了後自動細胞 Harvester で細胞を集め, Aloka Liquid Scintillation System を用いて細胞内放射線活性を triplicate で測定した。

6. $\text{IFN}\gamma$ 産生能の検討

脾細胞 1×10^6 個を RPMI 1640-10% FBS 1 ml に浮遊させ, Con A $0.5 \mu\text{g}$ を加えた後, 24穴プレート (Corning, New York, NY) にて 37°C , 5% CO_2 培養器で24時間培養し, その上清中 $\text{IFN}\gamma$ の値を Inter Test- γ Mouse $\text{IFN}\gamma$ ELISA (Genzyme, Boston, MA) を用いて測定した。

結 果

1. 末梢血白血球数, 脾細胞数 (表 1)

末梢血白血球数は, A群で3週, B群で1週, C群で4週まで低値 ($p < 0.05$) だったが, 各々以後回復した。脾細胞数はA群で2週, B群で1週, C群で3週まで低値 ($p < 0.05$) だったが各々以後回復した。

2. 脾細胞 Subsets (図 1)

マクロファージはA群とC群では1週で増加 ($p < 0.05$)

したが, 以後元に戻り, B群では正常範囲だった。L3T4細胞はA群で2~4週で低下し ($p < 0.05$), 以後回復し, B群で2週と5~6週で低下し ($p < 0.01$), C群で2~6週で低下 ($p < 0.05$) した。Lyt2細胞はA群とC群では2~5週で低下し ($p < 0.05$), 6週で回復し, B群で2週で低下し ($p < 0.05$), 以後回復した。B細胞はA群とC群ではB群より2週以後には高値の傾向があった。

3. NK 活性 (図 2)

NK 活性はA群で4~5週に低下する傾向があった。B群で1週で低下し ($p < 0.05$), 以後回復した。C群で1週で低下し ($p < 0.01$), 2週で回復, 3~5週で低下する傾向であった。

4. 幼若化反応 (表 2)

無刺激のものでは3群間に差はなかった。Con A 反応はA群で1~4週で低下し ($p < 0.01$), 以後回復し, B群で1週で低下し ($p < 0.05$), 以後回復し, C群で1~6週で低値 ($p < 0.05$) であった。LPS 反応はA群で1~2週で低下し ($p < 0.05$), B群で2~3週で低下し ($p < 0.05$), C群で1~3週で低下 ($p < 0.05$) したが, いずれも以後回復した。

5. $\text{IFN}\gamma$ 産生能 (表 3)

$\text{IFN}\gamma$ 産生能はA群で1週で増加し ($p < 0.01$), 2~5週で低下し ($p < 0.01$), 6週で回復した。B群では1週で増加し ($p < 0.05$), 2週で低下し ($p < 0.01$) 以後回復した。C群では1週で増加し ($p < 0.01$), 以後低下 ($p < 0.01$) した。

6. 各パラメーターの関係

末梢血白血球数, 脾細胞数と幼若化反応は比較的同様のパターンを示し, L3T4細胞, Lyt2細胞と $\text{IFN}\gamma$ 産生能も比較的同様のパターンを示した。NK 活性は特異

表 1 末梢血白血球数 (WBC), 脾細胞数 (SPC) の変動。平均値 \pm 標準偏差 ($n = 5$) で表し, 白血球数は $\times 10^3/\text{mm}^3$, 脾細胞数は $\times 10^6/\text{mm}^3$ で表示した。尚, 正常値は白血球数 5.4 ± 2.5 , 脾細胞数 73.6 ± 12.3 である。
* : $p < 0.01$, ** : $p < 0.05$.

week	ACNU30mg/kg		Radiation10Gy		ACNU30mg/kg + Radiation10Gy	
	WBC	SPC	WBC	SPC	WBC	SPC
1	$1.3 \pm 0.5^*$	$13.0 \pm 6.8^*$	$2.3 \pm 1.0^{**}$	$44.2 \pm 14.3^{**}$	$0.5 \pm 0.4^*$	$11.9 \pm 7.2^*$
2	$1.9 \pm 0.9^*$	$38.1 \pm 13.5^{**}$	5.8 ± 2.4	62.6 ± 15.7	$1.9 \pm 1.0^*$	$24.0 \pm 11.0^*$
3	$3.3 \pm 1.1^{**}$	66.5 ± 13.6	4.5 ± 1.4	66.7 ± 11.3	$2.8 \pm 1.0^{**}$	$44.7 \pm 13.6^*$
4	4.2 ± 2.0	80.8 ± 16.7	5.7 ± 3.0	68.7 ± 28.5	$2.4 \pm 0.6^{**}$	63.2 ± 10.9
5	5.3 ± 2.0	96.8 ± 19.0	5.2 ± 2.0	85.8 ± 30.9	5.4 ± 2.0	92.0 ± 15.4
6	5.0 ± 3.0	86.0 ± 19.8	6.3 ± 2.2	66.2 ± 30.1	5.7 ± 2.2	70.4 ± 12.7

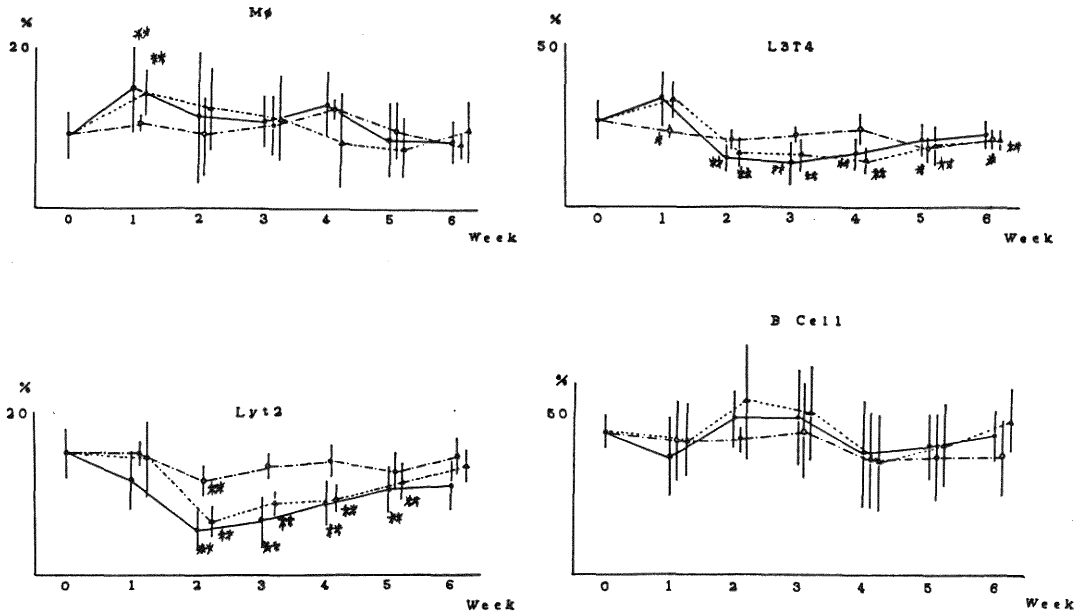


図1 サブセットの変動. A: マクロファージ(Mφ), B: L3T4, C: Lyt2, D: B cell

●—●: ACNU 30mg/kg, ○---○: Radiation 10Gy.

△---△: ACNU 30mg/kg+Radiation 10Gy.

*: $p < 0.01$, **: $p < 0.05$.

A	B
C	D

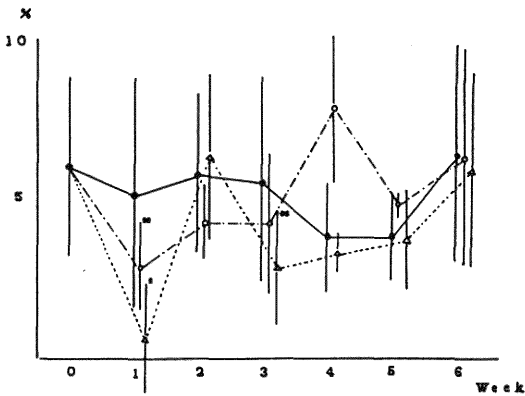


図2 NK活性の変動

●—●: ACNU 30mg/kg,

○---○: Radiation 10Gy,

△---△: ACNU 30mg/kg+Radiation 10Gy.

*: $p < 0.01$, **: $p < 0.05$.

なパターンを示した。

考 察

脳腫瘍患者の免疫能に関する報告¹⁾⁻¹⁶⁾は多く見られる。寺林ら⁹⁾は悪性神経膠腫、転移性脳腫瘍患者の末梢血リンパ球の幼若化反応は低下しており、腫瘍の臨床的悪性度と負の相関をみるとし、又化学療法中に反応は低下すると述べている。吉田ら¹⁴⁾⁻¹⁶⁾は末梢血の Leu3a/Leu2a 比の異常と悪性神経膠腫患者の Karnofsky performance 値が相関し、末梢血リンパ球の con A 反応が Leu3a/Leu2a 比と相関する事も述べている。松久ら⁶⁾は悪性脳腫瘍患者の末梢血リンパ球の中で活性化 T cell の比が上昇しており、これは T suppressor/cytotoxic cell によるものとしている。沼ら⁷⁾は末梢血リンパ球サブセットの治療経過にともなう変動につき報告しており、IFN を併用する事により helper T cell が増加し、suppressor T cell が減少するとしている。河本ら⁴⁾は悪性神経膠腫患者の長期維持療法において

表2 幼若化反応の変動. 平均値±標準偏差 (n=5) で表し, 単位は cpm で示した. 尚, 正常値は無刺激群で 489±256, Con A 反応 21385±7617, LPS 反応 20710±9759 である. * : p<0.01, ** : p<0.05.

week	ACNU30mg/kg	Radiation10Gy	ACNU30mg/kg+ Radiation10Gy
Non-stimulated			
1	585±555	545±671	384±93
2	966±472	390±305	414±234
3	820±560	251±34	434±239
4	1053±742	312±100	469±136
5	500±151	864±525	451±297
6	480±452	531±211	572±311
Con A response			
1	6116±3754*	14711±10452**	3867±3925*
2	5009±3415*	17993±6429	4220±3974*
3	8687±5933*	19068±2005	4388±2681*
4	10771±4491*	16932±5669	9199±7709*
5	15155±10063**	18406±2246	8898±4586*
6	20455±8735	19336±2146	11459±5946*
LPS response			
1	2253±1002*	18354±9751	1912±1750*
2	4287±3509*	15160±8223**	4844±4277*
3	18714±8004	14872±6031**	13108±12814**
4	25140±2993	22004±8541	24822±5111
5	17347±2359	20931±4862	19713±5291
6	19748±3863	19583±2015	19078±5538

表3 IFN γ 産生能の変動. 平均値±標準偏差 (n=5) で表し, 単位は pg/ml で示した. 尚, 正常値は 300±52である. * : p<0.01, ** : p<0.05.

week	ACNU 30mg/kg	Radiation 10Gy	ACNU30mg/kg +Radiation10Gy
1	483±35*	386±55**	745±80*
2	156±7*	159±9*	148±5*
3	164±6*	258±56	152±8*
4	162±10*	276±67	100±12*
5	223±25*	285±58	160±16*
6	326±11	350±44	180±25*

Leu3a/Leu2a 比の変動を免疫療法を行う指針としている.

阿部ら¹⁾は悪性神経膠腫患者の NK 活性は低下して

いるが, OK-432 を用いた養子免疫療法を行う事により NK 活性は上昇する事を述べている. 清水ら⁸⁾は悪性神経膠腫患者の末梢血リンパ球の IFN γ 産生能が障害されている事を報告している.

以上の様な報告は全て retrospective study で, 患者の年齢, 腫瘍の種類, 腫瘍の悪性度, 患者の臨床状態, 治療法, 治療量などの背景因子に関する検討は不十分であり脳腫瘍患者の免疫不全状態が治療そのものによるか, 或は腫瘍の進展その他の因子によりもたらされたか知る事はできない.

一方, ACNU, 頭部照射が免疫系に与える影響に関する報告は乏しい. 北村ら²⁰⁾は ACNU により, 体液性免疫が抑制され, 細胞性免疫が賦活される事をラットの実験系で報告している. Saijo ら²¹⁾は, ACNU 30 mg/kg を投与されたマウスは脾細胞の腫瘍細胞に対する細

胞障害活性が抑制され、B-16 melanoma cell を移植した場合、肺転移が増強される事をのべている。更に、小井戸ら⁵⁾は脳腫瘍患者の照射単独療法後に末梢血リンパ球数とNK活性が低下するが、細胞障害性T細胞数と遅延性過敏反応が上昇する事を報告している位で、ACNU、頭部照射が免疫系に与える影響について、さらに詳細な報告はみられない。

我々はACNU、頭部照射が免疫系に与える影響をマウスモデルを用いて詳細に検討し、各パラメーターの変動について3つのtypeがある事を見いだした。Type 1は治療後早期に低下するがしだいに回復する。Type 2は早期に上昇するが、一時低下後しだいに回復する。Type 3は早期は正常範囲だが、後期に低下する。末梢血白血球数、脾細胞数、照射群のNK活性、幼若化反応はType 1の変動、IFN γ 産生能、L3T4細胞、Lyt2細胞はType 2の変動、ACNU投与群のNK活性はType 3の変動を示した。即ち、末梢血白血球数、脾細胞数はT細胞、B細胞のDNA合成能とはほぼ同様の変動を示した。又、IFN γ 産生能がマクロファージ、L3T4細胞、Lyt2細胞の変動と関わる事は、IFN γ がこれらの細胞から産生される事を示唆する。一方、各治療群の比較ではACNUと照射併用群では免疫抑制効果が強くしかも遷延した。とりわけ、T細胞の幼若化反応、L3T4細胞、IFN γ 産生能は強い影響を受けた。以上の結果からも、脳腫瘍患者の免疫能の障害が脳腫瘍ばかりでなく濃厚な治療によってもたらされ得る事が示唆された。

近年、末梢血白血球数、末梢血リンパ球 subsets が容易に調べられる事から、それらが脳腫瘍患者の免疫学的パラメーターとして頻用されている。しかしながら、我々は脳腫瘍患者の免疫能を考える際にリンパ球の機能も含めた総合的な検討をすべきである。原発性免疫不全症候群、AIDS、腎移植後に免疫抑制剤の投与を受けた続発性免疫不全症候群の患者に悪性腫瘍の合併が多い事はよく知られている。脳腫瘍患者の初期治療および維持治療に際し、患者の免疫抑制効果をもたらすような治療を行う事は腫瘍の増悪、進展を招く可能性が考えられ、患者の免疫能を考慮した治療体系の確立が望まれよう。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました恩師田中隆一教授に感謝の意を表します。

本研究は以下の方々の協力のもとに行われました。ここに感謝の意を表します。脳神経外科学教室 吉田誠一先生、小野晃嗣先生、森 宏先生、武田憲夫

先生、佐藤光弥先生、関川和代先生、移植検査室 木村美奈子先生。

参 考 文 献

- 1) 阿部雅光, 池崎清信, 廣津辰美, 中島 進, 田淵和雄: グリオーマ患者における細胞性免疫能: 末梢血リンパ球サブセットによる検討. 第49回日本脳神経外科学会総会抄録集, 1: 118, 1990.
- 2) Books, W.H., Latta, R.B., Maharey, M.S., Roszman, T.L., Dudka, L. and Skaggs, C.: Immunobiology of primary intracranial tumors. Part 5: Correlation of lymphocyte index and clinical status. J Neurosurg, 54: 331~337, 1981.
- 3) 井上 達, 吉田 純, 加藤恭三, 若林俊彦, 小林達也, 景山直樹: 悪性脳腫瘍患者の免疫能: 病態変化に伴うTリンパ球サブセットの変動. Neurol Med Chir, 25: 168~176, 1985.
- 4) 河本圭司, 沼 義博, 坂井信幸, 今堀 巧, 河本悌夫, 村松 浩: 悪性グリオーマに対する長期免疫維持療法. 第49回日本脳神経外科学会総会抄録集, 1: 119, 1990.
- 5) 小井戸 隆, 近藤達也, 篠浦伸禎, 藤堂具紀, 山川健太, 吉岡真澄, 御厨修一: 脳腫瘍患者の単独放射線療法に於ける免疫学的観察. 第49回日本脳神経外科学会総会抄録集, 3: 105, 1990.
- 6) 松久 卓, 国塩勝三, 前城朝英, 重松秀明, 津野和幸, 三島宜哉, 松本健五, 古田知久, 西本 詮, 糸島浩一: 悪性脳腫瘍患者の末梢血における活性化Tリンパ球の検索: Two color analysis を用いて. 神経免疫研究, 3: 97~101, 1990.
- 7) 沼 義博, 河本圭司, 今堀 巧, 坂井信幸, 久保田千晴, 松村 浩: 悪性 glioma に対する IFN を併用した集学的療法による患者リンパ球の two-color analysis. 神経免疫研究, 3: 102~106, 1990.
- 8) 清水恵司, 宮尾泰慶, 岡本 裕, 松井 豊, 若山 暁, 南條正秀, 石田名香雄, 最上平太郎: グリオーマ患者における γ -interferon 産生障害. Neurol Med Chir, 26: 216~218, 1986.
- 9) 寺林 征, 関川和代, 谷村憲一, 植木幸明: 脳腫瘍患者の Blastogenesis. 脳外, 1: 37~42, 1973.
- 10) Thomas, D.G.T., Lannigan, C.B. and Behan, P.O.: Impaired cell-mediated immunity in human brain tumors. Lancet, 1: 1389~1390, 1975.
- 11) 田中隆一, 祖父江八紀: 脳腫瘍の免疫: 脳の免疫

- 学的特異性を中心に. 脳神経, 35: 451~459, 1983.
- 12) **Woosley, R.E., Mahaley, M.S., Jr, Mahaley, J.L., Miller, G.M. and Brooks, W.H.:** Immunobiology of primary intracranial tumors. Part 3: Microcytotoxicity assays of specific immune responses of brain tumor patients. *J Neurosurg*, 47: 871~885, 1977.
- 13) **Young, H.F, Sakalas, R. and Kaplan, A.M.:** Inhibition of cell-mediated immunity in patients with brain tumors. *Surg Neurol*, 5: 19~23, 1976.
- 14) 吉田誠一: 悪性脳腫瘍患者における免疫抑制機構の研究. 脳神経, 37: 1137~1143, 1985.
- 15) **Yoshida, S., Tanaka, R., Ono, K. and Takai, N.:** Analysis of T cell subsets in patients with malignant brain tumors. *Neurol Med Chir*, 28: 970~973, 1988.
- 16) 吉田誠一, 小野見嗣, 高井信行, 田中隆一: 悪性グリオーマ患者末梢血リンパ球の two color 分析. 臨床免疫, 21: 456~462, 1989.
- 17) 鈴木康夫, 村上直人, 田中隆一: 実験脳腫瘍に対する ACNU の抗腫瘍効果. 第2回脳腫瘍談話会: 87~94, 1981.
- 18) **Henderson, S.D., Kimler, B.F. and Morantz, R.A.:** Radiation therapy of 9L rat brain tumors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*, 7: 497~502, 1981.
- 19) 矢田純一, 藤原道夫, 編: 新リンパ球機能検索法. 中外医学社, 東京, 291~300, 1990.
- 20) 北村公一: 抗腫瘍薬 ACNU の細胞性免疫応答増強作用. *Prog. Med*, 3: 1668~1672, 1983.
- 21) **Saijo, N., Ozaki, A., Sakurai, M., Ishihara, J., Takahashi, H., Sasaki, Y., Hoshi, A. and Hamburger, A.W.:** Reduction of pulmonary metastases of B16 melanoma by human recombinant interleukin 2 and lymphokine-activated killer cells in immunosuppressed C57BL/6 mice receiving anticancer agent. *Jan. J. Cancer Res*, 77: 487~493, 1986.

(平成3年10月21日受付)