

## 腫瘍切除手術とレンチナンの併用時期に関する実験的研究

## 第1報 Sarcoma-180 腫瘍系

椎 尾 剛

味の素株式会社中央研究所・生物科学研究所\*

(昭和 62 年 12 月 1 日受付)

レンチナンは sarcoma-180 の固型癌には著効を示すが、腹水癌には無効である。しかしながら、あらかじめ固型癌担癌としておいたマウスの腹腔に腫瘍を再移植した場合にはレンチナンは著しい延命効果を示す。

レンチナンは sarcoma-180 固型癌による随伴免疫の誘導および固型癌切除後に残存する随伴免疫の増強に効果が認められた。

この sarcoma-180 実験系ではレンチナンは手術前の投与でも手術後の投与でも腫瘍再発の抑制に有効であった。

**Key words:** Lentinan, Lentinan with surgery, Lentinan with surgery on sarcoma-180

手術後に残存する転移腫瘍を考慮すると、癌の外科的療法は単なる腫瘍主病巣の摘出という事実にとどまらず、宿主免疫に変化をもたらすものとして論議されてきている<sup>1)</sup>。特に、宿主が担癌状態であるがために有している腫瘍転移や再移植に対する抵抗力である随伴免疫に対する影響が大きく、腫瘍摘出手術によって転移増殖が促進するという報告も多い<sup>2,3)</sup>。VAAGE<sup>4,5)</sup>は腫瘍摘出手術の時期がその後の随伴免疫の推移に影響することを報告している。

腫瘍摘出手術によって腫瘍細胞数を可及的に減少させることは免疫療法を可能とするために極めて重要なことであるが、一方において、外科的療法にとって宿主免疫を改善し、残存する腫瘍細胞による転移再発を抑えることは強く望まれる課題である。

まず、sarcoma-180 の実験系で検討した。レンチナンは sarcoma-180 の固型癌には著しい抗腫瘍効果を示すが、腹水癌には全く効かない<sup>6)</sup>。そこで、sarcoma-180 固型癌摘出手術直後に腫瘍をマウス腹腔に再移植する系で実験した。

## I. 材料と方法

1) 供試動物: ICR/CRJ マウス 5 週齢雌を日本チャールス・リバー社から購入し SPF レベルに飼育した。

2) 供試腫瘍: 腹水癌継代維持している sarcoma-180 腫瘍細胞を用い、固型癌にする場合には腫瘍細胞  $3 \times 10^6$  個をマウス左後足趾皮下に移植し担癌とした。腹水

癌にするには  $1 \times 10^6$  個をマウス腹腔内に移植した。

3) レンチナン: 味の素株式会社調製品を用い、生理食塩水で希釈し腹腔内または筋肉注射した。

4) 腫瘍抗原に対する宿主免疫応答: THOMAS らの方法<sup>7)</sup>に従い腫瘍抗原を調製し、この抗原液 0.03 ml (腫瘍細胞  $10^8$  相当量) を当該マウスの右後足趾皮下に注射し、24 時間後の遅延型反応<sup>8)</sup>を dial thickness gauge で測定した。

## II. 結 果

## 1) 固型癌担癌状態における再移植腹水癌に対する効果

Table 1 に示したようにレンチナンは腹水癌に対し延命効果を示さない (Exp. No. 1, 2 の比較)。しかし、あらかじめ固型癌担癌としておいたマウスの腹腔に腫瘍を再移植した場合には、担癌 1 日目からレンチナン投与した群 (Exp. No. 4) では全例が長期生存し、著しい延命効果がみられた (Exp. No. 3, 4 の比較)。腫瘍を腹腔に再移植した翌日からのレンチナン投与では効果がみられず (Exp. No. 5)、3 日間の投与遅延がマウスの腫瘍死に結びついたと考えられる。担癌 3 日目に固型癌を摘出手術した場合には、逆に、レンチナンを手術後から投与した試験群に延命傾向が認められた (Exp. No. 6, 7, 8 の比較)。

## 2) 固型癌摘出手術後の再移植腹水癌に対する効果

Table 2 に結果を示したように担癌 4 日目に固型癌を

Table 1. Anti-tumor effect of lentinan on second transplanted sarcoma-180 ascites tumor in ICR/CRJ mice (I)

Exp. No.	Treatment	Survival ratio at day 60*
1	S-180 $1 \times 10^6$ , i.p.	0/7
2	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p.	0/7
3	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p.	0/7
4	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p.	7/7
5	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p.	0/7
6	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p. Tumor resection	1/7
7	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p. Tumor resection	0/7
8	S-180 $3 \times 10^6$ foot pad s.c. Lentinan 2mg/kg/day, i.p. Tumor resection	3/7

\* No. of survivors at day 60/no. of tested mice.

摘出手術した場合にはレンチナンを手術前から投与した群 (Exp. No. 8) も手術後から投与した群 (Exp. No. 2) でも 10 匹中 3 匹が長期生存し、変らぬ結果となった。固型癌摘出手術を担癌 1~2 週で行なった場合 (Exp. No. 3~7) にはその後の再移植腫瘍に対するレンチナンの効果が著しく、固型癌担癌による随伴免疫が十分に確立されていることをうかがわせた。固型癌摘出後 3 週目に腫瘍再移植した場合 (Exp. No. 7) にもレンチナンの効果が得られたことは、一度成立した随伴免疫が長期間持続することを示していると考えられた。

### 3) 術前投与と術後投与の比較

固型癌担癌 14 日目に腫瘍再移植し腹水癌とする実験系では、レンチナン無投与の対照群では平均生存日数 20.1 日であり、正常マウスを腹水担癌とした場合に比

べて大差ない結果であった。レンチナン投与群では対照群に比べて明らかに延命し、レンチナン投与を腫瘍再移植の前に投与した場合にも後に投与した場合にも同じく長期生存したマウスが 7 匹中 2 匹であった。固型癌摘出手術を担癌 14 日目に投与した場合にはレンチナン投与により更に延命し、手術前投与でも後投与でも効果が認められたが、両者を比較すれば術後投与の方がよく、10 匹中 9 匹が長期生存した。手術前後を通じて投与した試験群では試験したマウス全例が完全治癒した (Table 3)。

### 4) 腫瘍抗原に対する宿主免疫応答

Sarcoma-180 腫瘍細胞を皮下移植したマウスについて、sarcoma-180 腫瘍抗原に対する遅延型足蹠反応を試験した。



Table 3. Effect of timing of lentinan administration on second transplanted sarcoma-180 ascites tumor in ICR/CRJ mice

Lentinan		Resection of primary solid tumor	Average no. of survival days	Survival ratio at day 60*
Pre-administration	Post-administration			
-	-	-	20.1 ± 5.9	0/7
+	-	-	>29.2 ± 20.1	2/7
-	+	-	>33.2 ± 20.4	2/7
-	-	+	>36.7 ± 12.6	2/10
+	-	+	>42.7 ± 14.4	4/10
-	+	+	>56.7 ± 9.9	9/10
+	+	+	>60.0 ± 0.0	10/10

\* No. of survivors/no. of tested mice

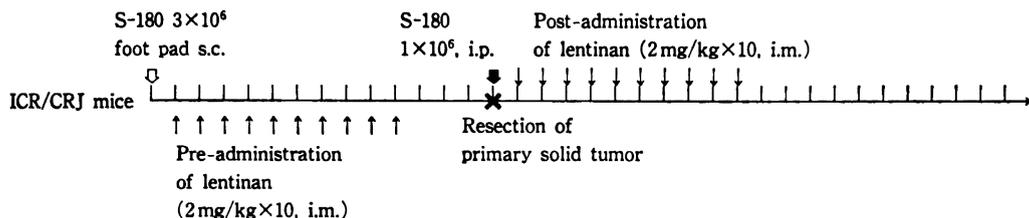


Table 4. Effect of lentinan on foot pad reaction against the tumor antigen in ICR/CR mice bearing sarcoma-180 solid tumor

Lentinan	Days after S-180 ( $3 \times 10^6$ ) s.c.	Foot pad reaction against S-180 tumor antigen <sup>a)</sup>
-	3	7.9 ± 2.0 ( $\times 10^{-2}$ cm)
-	7	15.0 ± 2.5****
-	14	17.5 ± 2.9****
-	21	11.3 ± 1.8**
Days 1-11		
Lentinan 1mg/kg $\times$ 10, i.p.	3	11.5 ± 2.4*
Lentinan 1mg/kg $\times$ 10, i.p.	7	23.0 ± 6.0****
Lentinan 1mg/kg $\times$ 10, i.p.	14	25.8 ± 2.6****
Lentinan 1mg/kg $\times$ 10, i.p.	21	25.0 ± 9.3****
Normal control		9.0 ± 1.2

a) Increase in foot pad thickness 24h after challenge of tumor antigen. (5 mice/group)

\*  $p < 0.10$ , \*\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*\*  $p < 0.005$ 

固型癌担癌 14 日目に腫瘍を再移植し腹水癌とした場合には、正常マウスを腹水癌とした場合に比べて若干の延命が認められている<sup>9)</sup>。しかし、今回の実験では長期生存例はみられていない。レンチナンを用いた場合には、腫瘍再移植の前投与でも後投与でも延命効果がみられた。

これらの現象は宿主が腫瘍を担っているが故に生ずる腫瘍転移、再移植に対する抵抗性である随伴免疫<sup>4,10)</sup>との関連によるものと考えられる。随伴免疫自体は比較的弱い腫瘍抵抗力であり<sup>11)</sup>、今回の実験結果でも随伴免疫

のみで  $1 \times 10^6$  個の腫瘍の腹腔内再移植を拒絶することはできていない。しかしながら、これにレンチナンが存在すると、レンチナン単独では効果を示し得ない腹水癌に著効を示した。レンチナンが随伴免疫の誘導、賦活面で作用することによって再移植腫瘍を拒絶したものと考えられる。

固型癌を摘出手術した直後に腫瘍をマウス腹腔内に再移植し腹水癌とした場合にもレンチナン投与効果は明らかである。今回の実験結果から sarcoma-180 固型癌担癌マウスでは随伴免疫が担癌 3 日目では極めて弱く、担

瘍 7~14 日目で完成するものと考えられる。腫瘍抗原に対する宿主免疫応答の結果も、これと良く一致している。レンチナン投与群では担癌3日目においてもかなりの宿主応答が認められており、レンチナンに随伴免疫増強作用があると考えられるが、この担癌初期は随伴免疫の誘導期<sup>10)</sup>と考えられ、この時期に腫瘍摘出手術を行なうことは慎重に行なう必要がある。一方、腫瘍摘出後のレンチナン投与は再移植腫瘍に対して常に効果的であり、手術後2~3週後においても効果がみられたことは、この腫瘍系の随伴免疫の持続性を示すものであるとともにレンチナンの術後投与効果を明確にしている。

レンチナンは、この sarcoma-180 腫瘍系では術前投与でも術後投与でも延命効果がみられたが、両者を比較すれば術後投与がよりよい結果を示した。

外科的療法とレンチナンの併用は随伴免疫の関連において、極めて意義深いものとする。

#### 文 献

- 1) 後藤田栄貴：外科療法と免疫，腫瘍免疫学（小林博，橋 武彦編），427~429 頁，朝倉書店，1974
- 2) CRILE, G Jr. and DEODHAR S D : Role of pre-operative irradiation in prolonging concomitant immunity and preventing metastasis in mice. *Cancer* 27 : 629~634, 1971
- 3) SCHATTEN, W E : An experimental study of postoperative tumor metastases. *Cancer* 11 : 455~459, 1958
- 4) VAAGE, J : Concomitant immunity and specific depression of immunity by residual or re-injected syngeneic tumor tissue. *Cancer Res* 31 : 1655~1662, 1971
- 5) VAAGE, J : Influence of tumor antigen on maintenance versus depression of tumor-specific immunity. *Cancer Res* 33 : 493~503, 1973
- 6) MAEDA, Y Y HAMURO J YAMADA Y ISHIMURA K and CHIHARA G : The nature of immunopotentiality by the antitumor polysaccharide lentinan and the significance of biogenic amine in its action. *Immunopotentiality*, Ciba Found. Symp. New Series 18 : 259~286, 1974
- 7) SMITH, J T BARAK A J and THOMAS L E : Cellular lipoproteins I. the insoluble lipoprotein of whole liver cells. *Exp Cell Res* 13 : 96~102, 1957
- 8) 桂 義元：蛋白質抗原によるマウスの遅延型過敏症の足跡試験，免疫実験操作法（日本免疫学会編）IV : 1201~1205, 1975
- 9) SHIIO, T and YUGARI Y : The antitumor effect of lentinan and tumor recognition in mice. *Manipulation of Host Defence Mechanisms*. Excerpta Medica, Int. Cong. Series 576 : 29~42, 1982
- 10) GERSHON, R K and KONDO K : Dependence of concomitant tumor immunity on continued antigenic stimulation. *J Natl Cancer Inst* 46 : 1169~1175, 1971
- 11) LAUSCH, R N and RAPP F : Concomitant immunity in hamsters bearing syngeneic transplants of tumors induced by para-adenovirus 7, simian adenovirus 7 or 9, 10-dimethylbenzanthracene. *Int J Cancer* 7 : 322~330, 1971

## COMBINATION AND TIMING OF LENTINAN WITH SURGICAL THERAPY ON MURINE TUMORS

### PART 1. SARCOMA-180 TUMOR SYSTEM

Tsuyoshi Shiio

Life Science Laboratories, Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc.  
214 Maedacho, Totsuka-ku, Yokohama 244, Japan

Lentinan showed marked anti-tumor effect against the solid tumor of sarcoma-180 but no life-prolonging effect in mice with ascites tumor of sarcoma-180.

When tumor cells were transplanted intraperitoneally in mice with the solid tumor, however, lentinan markedly prolonged life of these mice. Lentinan strengthened the induction of concomitant immunity caused by sarcoma-180 solid tumor and the action of concomitant immunity after resection of the solid tumor.

In this sarcoma-180 tumor system, lentinan suppressed tumor recurrence when administered before and also when given after surgical operation.