

組織培養による人癌の研究

—ヒト悪性腫瘍細胞とリンパ球相互作用に就て—

川崎医科大学 実験病理学教室

木 本 哲 夫

Studies on Human Cancer Cells by Tissue Culture :

Cell to Cell Interaction of Human Malignant Cells
and Lymphoblastoid Cells.

Tetsuo Kimoto,

Department of Experimental Pathology,
Kawasaki Medical School

細胞免疫に於て幼若化リンパ球が細胞傷害作用を有する事は周知であるが、この標的細胞に腫瘍細胞を仕立てて担癌生体のリンパ球が如何なる作用を有するか、ガンの免疫学的抑制効果として注目されている。著者はリンパ球の特異的免疫学的効果の検討と共にリンパ球の標的細胞への附着は両細胞の細胞膜分子構築の変化に帰着し、両細胞の接着、乃至結合がガン細胞の殺細胞作用に最も重要である事を明らかにした。即ち、結合は免疫学的特異性に依存する他、非特異的にも起る。そこで人癌の場合のアプローチとして人卵巣腫瘍由来の培養細胞を中心に、免疫学的に無関係と考えられるヒト培養リンパ芽球との非特異的結合を試み殺細胞作用の発現を検討した。この際、T細胞として MOLT-4 細胞（ヒトの急性リンパ球性白血病細胞）と B細胞（バーキットリンパ腫細胞）を用いた。この実験でコンカナバリン A、又は仙台ウイルス（HVJ）によって両細胞間の結合が起り前者の場合ガン細胞は著しい細胞融解におちいった。特に非上皮細胞由来の悪性腫瘍細胞で細胞膜に物質又は粒子の附着により潜在する貪食能が発現される腫瘍細胞はリンパ芽球を貪食し自らの著しい融解が起った。結論的にガン細胞—リンパ芽球の結合、附着には特異的免疫学的因子の関与と共に非特異的にも人工的に起す事が出来、殺細胞作用については物質代謝の障害によるものではないかと考えられる。以上の事実から免疫学的作動によるリンパ球の幼若化を必要としないヒトの培養リンパ芽球（細胞株として既に幼若化）を利用して標的細胞としてのガン細胞、特に細胞膜性状を検討してリンパ芽球の結合をはかる事により著しいガン細胞の殺細胞作用が起り、ヒト悪性腫瘍細胞の増殖阻止へのリンパ球の生物学的役割が明らかにされた。

On the basis of the previous study on the cell interaction between malignant tumor cells and other cells, especially with lymphocytes, the present study was carried out by investigating cell to cell interaction of human malignant tumor cells and human lymphoblastoid cells such as T-cell (MOLT-4 cell) and B-cell (Burkitt lymphoma cell).

As a result it has been revealed that live lymphoblastoid cells were not adhered on the cell surface of the tumor cells, nor is it ingested by tumor cells, but in the presence of HVJ (Sendai virus: 2,000 HA units) it adheres slightly on the cell surface of tumor cell but no cell fusion of tumor cells and lymphoblastoid cells is observable. On the other hand the tumor cell as well as T-cell and B-cell all have receptors to concanavalin A (Con. A) on their cell surfaces, and they show a marked cell binding such as tumor cell and T-cell, tumor cell and B-cell, and there can be observed a marked phagocytosis of lymphoblastoid cells by tumor cells. Moreover, the tumor cells that have phagocytized lymphoblastoid cells undergo a marked cell destruction within 4 hours of cell-binding and phagocytosis, which is especially prominent in the case of phagocytosis of E. B cell by tumor cell.

1. はじめに

細胞同志がお互にくっついたり融合したりする現象は細胞生物学の領域に新しい研究分野のいとぐちをつくった。例えば Moscona¹⁾等による同種細胞同志のより集り、更に岡田²⁾による HVJ による細胞融合に端を発した Harris³⁾, Steplewski, Koprowski³⁾ 等の癌ウイルスによる腫瘍細胞のゲノムよりこの技法によるウイルス粒子の誘導等は発癌ウイルス説を裏付ける最も重要な発見となった。更に勝田⁶⁾によるラット肝癌と正常肝細胞との混合培養で肝癌よりの放出物質による正常肝細胞の消化消失現象もまた細胞間の重要な相互関係を明示したものである。更に間接的ではあるがマクロファージ存在下に於ける抗原認識後の cell mediated factor によるリンパ球幼若化現象等もマクロファージ-リンパ球の結合、接着により遂行されるものと考えられ、細胞免疫は勿論液性免疫の仕組み、更に古くは Epstein⁷⁾ 等による線維芽細胞の単層培養上で試みられた Burkitt リンパ腫細胞株の樹立等細胞増殖因子として細胞より放出される condition factor の存在等、細胞はお互いに何らかのかかわりを有していることを立証しているものである。更に特異的な細胞同志の付着として、西岡⁸⁾⁹⁾, 橘¹⁰⁾ 等の一連の仕事に見られるようにガン細胞-赤血球間に於ける免疫学的な付着、更に

A 等) による赤血球同志の凝集、ガン細胞同志¹¹⁾ の集合等は細胞膜の分子構築の研究を助成し、マクロファージによる抗原認識更に貪食機構の現象を中心に細胞表面構造の免疫学的研究を進展させる動機となった。これらは多くの場合、細胞培養法による試験管内での解析であるが、今後生体内¹²⁾ に於いてもどの程度の細胞結合、又は細胞融合が行われているかは将来、細胞分化、免疫現象の諸問題を考える上に可成り重要な役割を演じて行くものと考えられる。又、細胞分化に伴い細胞膜の分子構築に変化を来すことは周知のことであるが、中でもガン細胞の細胞膜を中心とした他種細胞との関係は重要で、ガン細胞とリンパ球との関係が注目されているが、ガン細胞によるリンパ球貪食の現象に就ては未解決の問題が多い。生体内に於てリンパ球が細胞免疫及び液性免疫の鍵をにぎっている事は今日周知の事実であり、移植免疫の示すところである。そこでこの移植免疫の場合見られるリンパ球を利用して、ガン細胞の免疫学的抑制が出来ないかどうか、最近標的細胞 (target cell) をガン細胞とし、効果細胞 (effector cell) をリンパ球として、ガン細胞-リンパ球の関係が注目され、色々の報告がなされて来た。制癌剤はガン細胞に著効を奏するが、同時に個体の健康な細胞まで傷害する欠点がある。そこでガン細胞の特異抗原に対する特異抗体を利用し、その担い手であるリンパ球を利用して、ガン細胞に対する特異免疫学的な抑

制が起るか否か、制癌剤の欠点を補うものとして興味ある問題である。そこでガンの特異抗原の検討が発癌ウイルス、移植免疫を中心としてとりあげられ発癌ウイルスによるガン細胞に関しては specific tumor antigen, surface antigen 等の存在が認められたが、移植抗原のガン特異性に関しては尚、議論の余地が多い¹³⁾。これらは何れも小動物を用いた実験病理学の立場に立つものであるが、このような動物より得た知識に基づいて、ヒトのガンを中心に臨床面に応用出来ないかどうか今後の実験病理学の方角の一端と考えられる。その意味に於て Epstein⁷⁾ のリンパ球培養に端を発し Grace¹⁴⁾, Moore¹⁵⁾ 一門の開拓したヒトの末梢血からのリンパ球培養株の成功の意義は大きい。

2. 感作リンパ球と標的細胞破壊機構

ガン細胞を標的細胞に仕立ててリンパ球が接着すると標的細胞が破壊される機構について近年注目され、標的細胞を感作リンパ球が破壊する場合、赤血球溶血と異り補体がいらないとされている。この場合、標的細胞に感作リンパ球の接着するのは免疫学的特異性の結合であり感作リンパ球は Lymphotoxin と云う物質を放出する。この免疫特異的のリンパ球の殺細胞作用の発現には Zembala¹⁶⁾ をはじめ多くの学者が免疫リンパ球と共に正常マクロファージの共存の必要を強調し、Evans, Alexander¹⁷⁾¹⁸⁾ もマウスのリンパ腫細胞の増殖をマクロファージが阻止し、Granger, Weiser¹⁹⁾²⁰⁾ もつとに A/Jax マウスの肉腫細胞の増殖がマクロファージとの接触のみで阻止される事を報告し、その他 Bennett²¹⁾, Pearsall²²⁾ 等もマクロファージ-リンパ球の共同作用が生体の移植免疫に関する鍵を握るものである事を述べ、リンパ球と共にマクロファージ関与の必要性を裏付けている。David²³⁾ も又同様の実験を行いリンパ球の Lymphotoxin 発現には免疫特性に基づきマクロファージ-リンパ球共同作用によるもので何れか一つのみでは標的細胞に対する殺細胞効果はないとしている。扱て、試験管内で正常

マクロファージ存在下で標的細胞とリンパ球様細胞とを混合培養すると標的細胞への殺細胞能力が発現されるがその発現には最低3日間を要し、短時間では起らずマクロファージを介してのリンパ球毒の発現、換言すれば細胞免疫成立には少なくとも3日を必要とする事が知られている。これらの実験結果を考え併せて見ると何れにしてもガン細胞に対する細胞傷害の発現にはリンパ球を必要とするが、リンパ球はマクロファージの免疫学的に特異的な生物学的活性により芽球化の必要を物語っている。(Zembala, Ptak, an Hanczakowska²⁴⁾, 田中, 折田²⁵⁾ 等も腫瘍細胞に及ぼすリンパ球の免疫学的抑制に関して動物の腫瘍細胞について報告している)。このようにリンパ球による細胞殺傷効果には免疫学的背景に基づく報告が多いが、他方 Amos²⁶⁾, Sabbadini²⁷⁾ 等をはじめ非特異性の発現についての報告も多い。

3. ヒトのガン細胞と Lymphotoxin

動物実験での知見を要約するとリンパ球はマクロファージ存在下で cell mediated factor によりリンパ球の芽球化を起し、これにより標的細胞は著しい傷害におちいる事がわかるが、これと同様なことはヒトの末梢血リンパ球で特異的免疫機構のみでなく、試験管内では PHA (植物性血球凝集素) により、リンパ球の芽球化により分泌されることがわかり、Granger²³⁾ 等により純化され、この物質は分子量90,000~100,000, 弱荷電蛋白で電気泳動で β 又は α_2 グロブリンのような抗体様物質であることが知られている。そしてヒトの場合も、この Lymphotoxin の発現機序を免疫特異性に帰するものと非特異性の作用に帰するものがあり、前者の報告として Hellström²⁹⁾ 等の多数例の報告がある。即ち、ヒトの腫瘍細胞を標的細胞としてこれに対する細胞傷害作用やコロニー形成阻止の実験の結果、悪性黒色腫、結腸癌、乳癌、睪丸腫瘍、子宮内膜、及び卵巣癌をはじめ種々の肉腫には組織学的に同一腫瘍間には個体を異にしても共通抗原を有する事を報告し、ガン患者のリンパ球はそのガン細胞のみに傷害

を及ぼすが同一患者の正常細胞には無効であり、又、組織発生を異にする他の腫瘍細胞に対してはこの担癌生体のリンパ球は殆ど傷害効果を示さない事を報告している。このような事実にもとづき Hellström は、このガン細胞—リンパ球間の細胞傷害作用について特異免疫学的な思考をいただいているが、他方 Takasugi³⁰⁾等は標的ガン細胞を傷害する特異的な原因をガン患者から見出す具体的なものはなかったと反論している。高倉³¹⁾も各種悪性腫瘍の中でマクロファージによる腫瘍細胞の貪食の他に脳腫瘍細胞に対するリンパ球様細胞の殺細胞作用について報告している。他方前者のマクロファージによる腫瘍細胞の貪食現象に関しては森、井上³²⁾等のマウスのエールリッヒガン細胞とマクロファージの貪食についての報告がある。glioma 細胞に対して末梢血リンパ球が試験管内での観察で殺細胞作用を持つことは Ciembroniewicz³³⁾も報告しているが、高倉も手術で得られた oligodendroglioma の培養細胞に患者自身の末梢血白血球、又は骨髓細胞に PHA を加え混合培養を行うと4日後にリンパ球の免疫担当細胞は腫瘍細胞に対して殺細胞的に働くことを報告している。これらの知見を要約するとヒトの悪性腫瘍細胞に対するリンパ球は腫瘍細胞に対する傷害作用は多くの場合、特異的又は非特異的な幼若化を起した所謂リンパ芽球が重要な役割をつとめていることを示唆している。ヒトのガンの免疫、特にガン患者の移植免疫能、即ち細胞性免疫能の低下に関しては米国のスローケッターリングガン研究所の Southam 等の先馳的研究があり、動物実験からヒトの癌の免疫に到る思想と発展については北大、武田門下の菊池³⁴⁾の論説がある。

4. ガン細胞のリンパ球貪食

SV 40 により悪性変換した腫瘍細胞はガン化に伴い細胞膜の変化を起す事が知られているが、ガン細胞の貪食、換言すれば物質の取り込みについて SV 40 腫瘍細胞をしらべた結果、細胞膜の荷電状況はガン化に伴い負荷電化を来し、コンドロイチン硫酸鉄コロイド等の負荷

電粒子を貪食しにくい、塩基性蛋白等の正荷電粒子(ワサビの peroxidase 等)を著しく食し、又、負荷電粒子も塩基性蛋白(正荷電物質)であるヒストン(アルギニン—リッチ)処理により著明な貪食が行われる事を知った³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾、横村³⁹⁾等はマウスのエールリッヒガン細胞とマクロファージについて貪食過程を比較報告している。これらの実験モデルはマクロファージとガン細胞の細胞膜の構造を貪食現象から比較検索したもので、ガン細胞もマクロファージと同じく物質の貪食を行うが、その第一段階として細胞膜への物質の付着が必要で、ここで細胞内へ取り込む物質の選別が行われる。物質の細胞膜への付着には Mg^{++} 、 Ca^{++} 依存と共に、前述のように荷電状況に支配され、一般にガン細胞の膜では酸性多糖体などの負荷電粒子の局在のため、負荷電粒子の付着、取り込みは起りにくい事がわかった。そこで以上の物質の取り込みで得た知見を基礎として SV 40 腫瘍細胞と他種細胞との認識機構をしらべるために赤血球及びリンパ球を選んだ。これは赤血球膜は容易に分離出来、細胞膜の分子構築のモデルとして使用しやすい利点と共に、リンパ球は赤血球と同じく負荷電化が知られ、赤血球膜構造に類似点を求め得ること、ガン細胞との付着が起りにくい事を想定して如何なる場合、これらの細胞はガン細胞に付着するかをしらべた。その結果、ガン細胞は生細胞の赤血球の付着、貪食を行わないが、半飽和硫酸(処理により細胞膜は概ねヘリックス構造を保つ)、グルタルアルデヒド等で固定を行うと極めて著明なガン細胞への付着、貪食が見られリンパ球の場合も同じである。他方リンパ球の場合は、フレンドウイルス等を用いてリンパ球膜の緩和な分子構築の局所的な変化、又は融解を起したものは固定によるものと同じようにガン細胞への付着、更に著しい貪食が見られた。ガン細胞で感作された同種ハムスターから集めたリンパ球と同じく生細胞はガン細胞への付着、貪食は軽度か、ガン細胞による貪食は殆ど見られないが、細胞膜の一部に人工的な変化を与える事により著明な両細胞間の接着、結合と

共にガン細胞は著しいリンパ球の取り込みを行った。この場合、ガン細胞は赤血球貪食と異りリンパ球貪食を行うと短時間のうちに著明な細胞融解におちいった。特に脾細胞より分離したリンパ球に強い Lymphotoxin 作用を示した。吉田⁴⁰⁾等もマウスの腫瘍細胞と脾細胞との接触培養で標的細胞の著しい変性を観察している。

ガン細胞とその免疫担当リンパ球との混合培養によってガン細胞が傷害を受けるのは早くとも24時間以上を要し (⁵¹Cr での測定を除く)、細胞混合比はガン細胞の5倍以上のリンパ球数を必要とするが、ガン細胞がリンパ球の付着、貪食を行った場合は数時間以内に著明な融解におちいった。他方、ガン細胞と固定リンパ球等を別々に、Con. A であらかじめ処理した細胞を用いると両細胞の接着、更にガン細胞によるリンパ球貪食は抑制阻止される事からガン細胞は勿論、リンパ球もその細胞膜に Con. A に対するリセプター (Methyl- α -D-mannoside) を有し Con. A 前処理により結合部位のブロックが起るものと考えられる。江草⁴¹⁾も SV 40 腫瘍細胞の移植抗体を有するハムスターリンパ球と SV 40 腫瘍細胞とを Con. A により結合し殺細胞現象を報告している。

5. ヒトのガン細胞と培養リンパ芽球

ガン細胞がリンパ球を貪食したり、癌巣付近にリンパ球集積の著明な場合は癌細胞の増殖、

浸潤等も可成り緩和になるという事が今日まで漠然と観察されているが、具体的な報告は少なく、石橋、芦川、勝田、高岡⁴²⁾⁴³⁾等のマウス腹水乳癌 MM₂ 細胞と同系マウスのリンパ球培養でリンパ球が腫瘍細胞に貪食されている報告がみられる。そこで SV 40 腫瘍細胞のリンパ球貪食に関する知見に基づいてヒトのガン細胞のリンパ球貪食の機構を知るために色々の検索を行った。標的細胞としてのヒトのガン細胞株を得るためにガン性腹水からガン細胞株の樹立を試み多数例について行ったが、その試作中、卵巣癌由来のガン腹水より悪性腫瘍株⁴⁴⁾を得たので、これをモデルとして解析を試みた。組織学的に原発腫瘍は embryonic carcinoma であるが、培養細胞として得たものは embryonic carcinoma⁴⁵⁾ の分化方向の一端である非上皮細胞の腫瘍株である。そこで現在上皮細胞由来の所謂、ガン細胞に就ても研究を行っているが上記のヒトの悪性腫瘍細胞をモデルにヒトの培養リンパ芽球との細胞相互関係をしらべた。この場合、ヒトのリンパ球としては各種免疫疾患、健康人の末梢血リンパ球を用いたが、ここではヒトの淋巴球性白血病細胞の培養細胞等を主体として述べる。即ち細胞免疫の主役を演ずる T細胞の代表リンパ球として MOLT-4 リンパ芽球 (米国、ローズウェール、パーク、記念ガン研究所、蓑和田博士⁴⁶⁾より恵与。急性リンパ球性白血病の末梢血よりの分離株)、

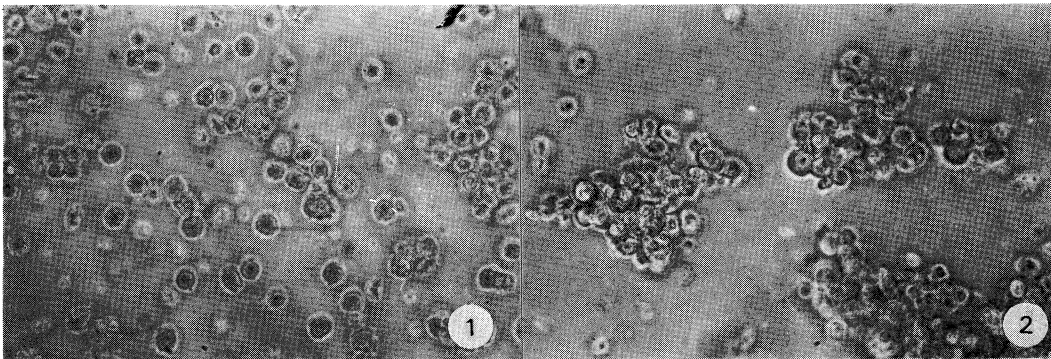
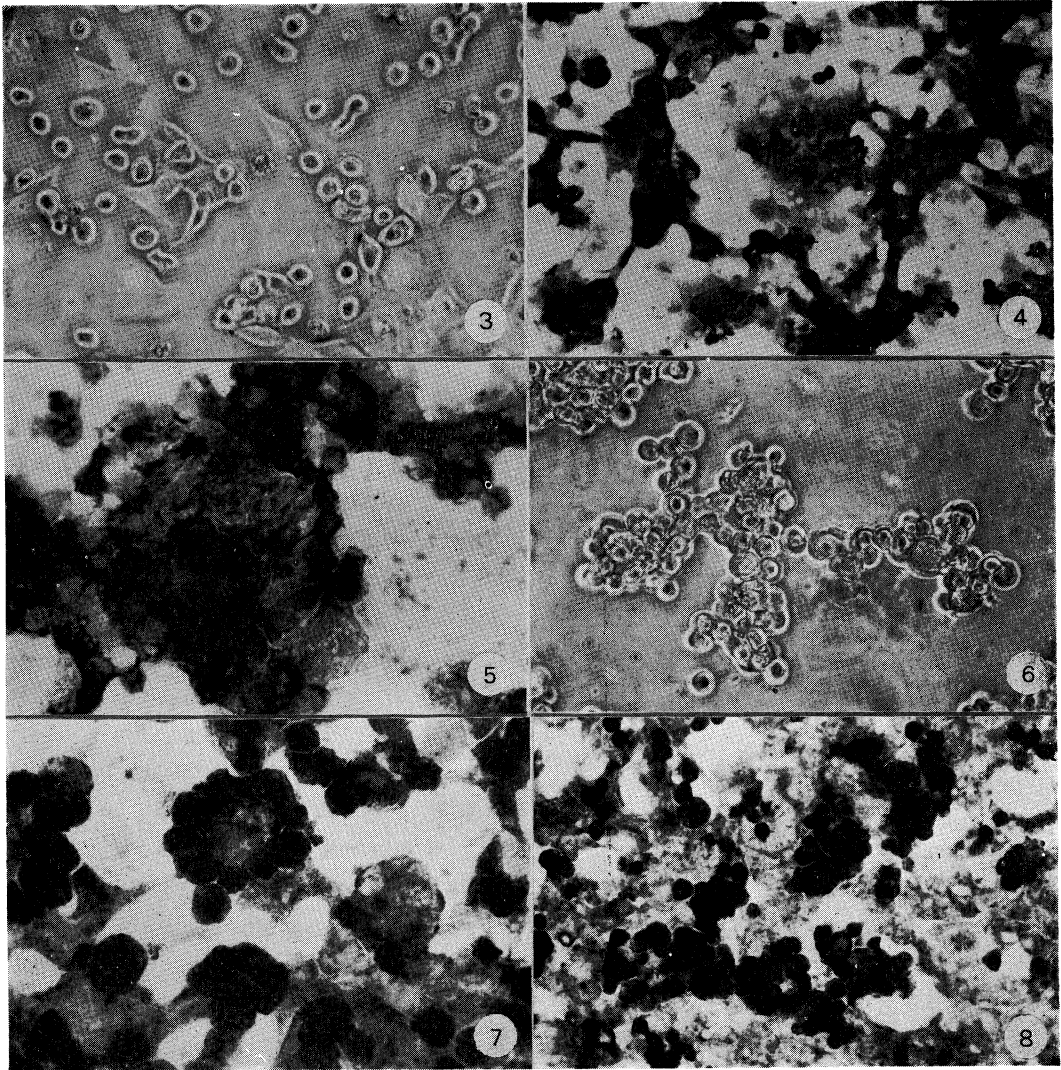


Fig. 1.: Human malignant tumor cells derived from human ovarian tumor cells, suspended in PBS by trypsinization. 10×20 ,

Fig. 2.: Cell aggregation of tumor cells with treatment of Con. A ($2.5 \gamma/ml$). 30 min, $37^\circ C$. 10×20 .



Figs. 3-5.: Tumor cells—Molt. 4 cell (T-cell) binding with treatment of Con. A (1 γ /ml PBS). 1 h. 37°C.

Fig. 3.: Attachment of live Molt-4 cells to the tumor cells. 10 \times 20.

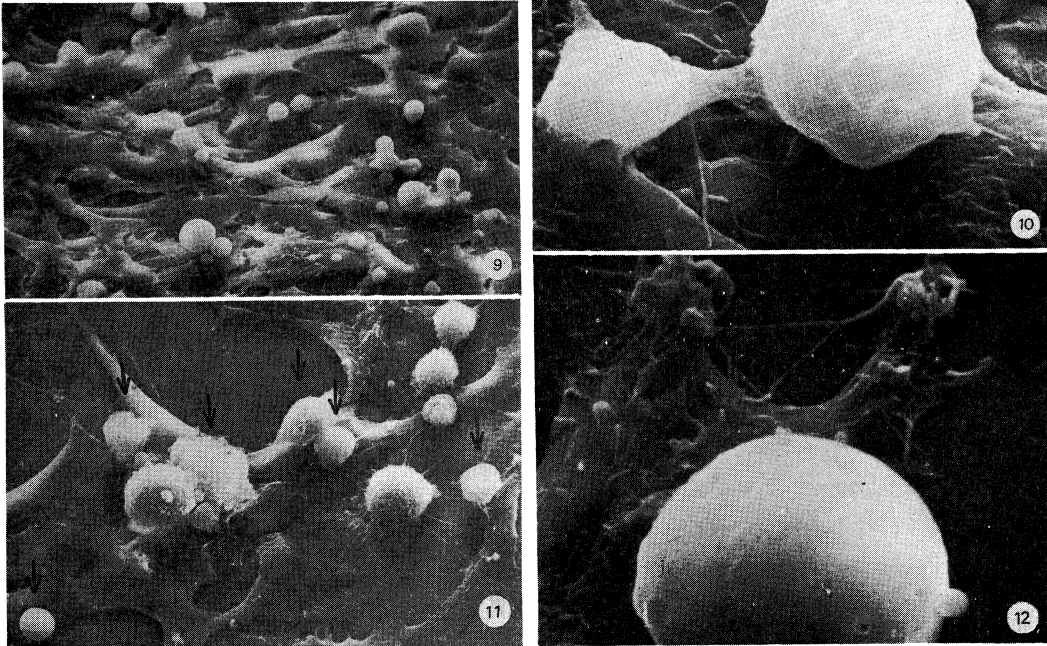
Figs. 4-5.: Cell destruction of tumor cells following by attachment and binding of live Molt-4 cells. Fig. 4. 10 \times 20. Fig. 5. 10 \times 40. Giemsa stain.

Figs. 6-8.: Tumor cells—E. B-3 cells (B-cell) binding with treatment of Con. A (1 γ /ml PBS).

Fig. 6.: Cell fusion-like cells. 2 hrs. 37°C. 10 \times 20.

Fig. 7.: Lymphoblastoid cells show rosette forming by attachment of tumor cell surfaces and were phagocytized by tumor cells. 10 \times 20. Giemsa stain.

Fig. 8.: Tumor cells show cytolysis and, destruction by attachment of lymphoblastoid cells and phagocytosis lymphoblastoid cells. 10 \times 10. Giemsa stain.



Figs. 9-12: Scanning electron microscopic findings of attachment of lymphoblastoid cells on the tumor cell surfaces.

Figs. 9-10: Attachment of human lymphocytic leukemia cells (B-cell) fixed with 2.5% glutaraldehyde on the tumor cell surfaces. These findings of cell attachment are similar with treatment with Con. Fig. 9, 1000 ×. Fig. 10, 5000 ×.

Figs. 11-12: Attachment of Molt-4 cells (T-cell) on the tumor cells (arrow). Fig. 11, 2000 ×. Fig. 12, 5000 ×.

液性免疫の担い手である B細胞として E.B.-3 リンパ芽球 (Burkitt リンパ腫細胞) を選んだ。卵巣癌由来細胞を両リンパ芽球と混合培養すると 24 時間以内の観察では両細胞は何れも付着、結合又はガン細胞によるリンパ芽球の貪食現象は見られない。そこでガン細胞と両種のリンパ芽球との直接的な結合による両細胞間の相互作用を見るため色々の方法を用いた。この場合、可及的に生細胞の状態を保持するために HVJ (阪大、微研、岡田博士³⁾ 恵与) で細胞融合を試みた。この場合、岡田も記述しているようにリンパ球同志の細胞融合は起らないが少数のリンパ芽球は T細胞、B細胞共にガン細胞表面に付着した。それに反して Con. A の使用では 1γ/ml (37°C) の濃度でガン細胞同志、MOLT-4 細胞同志、E-B 細胞同志、夫々お互

いに強い細胞凝集を形成し 1γ/ml 濃度の Con. A による細胞傷害は見られなかった (写真 1, 2)。このような事実からガン細胞と両種リンパ芽球は Con. A の共通リセプターを細胞表面に有する事を知ったので、ヒトのガン細胞の単層培養を行って低濃度 Con. A と共にリンパ芽球を加えるとリンパ芽球はガン細胞表面に極めて多数集積付着し 37°C, 2 時間 (PBS: Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ free で特に強い) おそらくとも 4 時間以内にはリンパ芽球はガン細胞内に取り込まれる。このガン細胞への T細胞、B細胞の付着は光学顕微鏡でも観察されるが特に走査電顕⁴⁾ により明確にとらえられる (写真 3~12)。この際、今迄述べてきた所謂免疫担当リンパ球とガン細胞との混合培養に於て標的細胞の傷害には少なくとも 3 日を要するのに反し、Con. A に

よりガン細胞—リンパ芽球の結合を行った場合は極めて短時間でガン細胞の細胞融解が起り、特に E-B 細胞の結合により著明であった⁴⁸⁾ (写真 6~8). PHA 刺激によってヒト末梢血リンパ球の γ -globulin 合成能の増す事は若林、塩川、高久⁴⁹⁾等の記述があるが、ガン細胞がリンパ芽球と直接結合、更にこれを貪食した場合は著しい細胞融解におちいる事は特記すべき現象でヒトの培養リンパ芽球を用いる場合、Lymphotoxin 効果はより激烈で、ガン細胞の著しい殺細胞効果が発現された。この事は健康人由来のリンパ芽球でも観察される(未発表)。

以上のモデル実験から示唆される事はヒトの培養リンパ芽球はそれ自身 blast 型であり、幼若化現象を誘発するマクロファージ等による cell mediated factor を必要とするステップを必要としないこと、換言すれば、これまでの文献考察からもうかがわれるように正常リンパ球の殺細胞効果は blast 化により発現するもので、このためにはマクロファージ介在による免疫条件を基盤とするが、培養リンパ芽球の利用はこの初期前段階の特異的刺激のステップを必要としなくてもよいことがわかる。次に問題になるのは、このようなリンパ芽球が如何にしてガン細胞表面に付着出来るかであり、これには今後尚、ガン細胞及びリンパ球の細胞膜の研究、特異的免疫機構の関与等の問題があるが、

Con. A を用いての両細胞間の結合は可成りガン細胞、幼若リンパ芽球の細胞膜リセプターに特異的であり、これに続くガン細胞のリンパ球貪食、ガン細胞の急激な細胞融解現象は、ヒトのガン細胞増殖の抑制に就て検討すべきであり⁵⁰⁾⁵¹⁾⁵²⁾⁵³⁾、ヒトの培養リンパ芽球の利用は重要な課題であると考えられる。

終りにここに用いたモデルとしてのガン細胞の表現は病理学的には肉腫細胞 (SV 40 腫瘍細胞、ヒトの細胞共に) に入るべきものであるが、或種の上皮細胞由来のガン細胞に就ても見られた。総括的に考察するとリンパ球の殺細胞効果の発現は標的細胞として肉腫 (間葉性細胞由来を含めて) 性の腫瘍細胞に多く、線維芽細胞、神経膠細胞、色素細胞等、少しでも潜在性貪食能を有する細胞由来の腫瘍に著しい。この事に就ても細胞膜の問題を中心に物質の取り込みの機構について種々のガン細胞を比較研究すべきものと考えられる。

本研究は昭和47年度文部省科学研究費補助金 (一般研究 D) 及び川崎医大、昭和48年度プロジェクト研究費によった。

謝辞： 組織培養に当っては、西谷耕二、大野都美子、横山不二子諸氏の協力を得た事を深謝する。走査電顕に関しては、本学組織、電顕センター上平賢二氏の援助を得た事を併せて感謝する。

文 献

1. Moscona, A. A.: Analysis of cell recombinations in experimental synthesis of tissues in vitro. *J. Cellular and Comparative Physiol. Supplement*, 1, 60: 65, 1962.
2. 岡田節人: 現代の生物学 (岩波講座) 4, p. 153. 構築; 細胞から組織へ, 1967.
3. 岡田善雄: 細胞融合. 朝倉書店, 昭 46.
4. Harris, H.: Cell fusion and the analysis of malignancy. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 48, 851—863, 1972.
5. Steplewski, Z., and Koprowski, H.: Development of SV 40 coat protein antigen in nonpermissive nuclei in heterokaryocytes. *Exptl. Cell Res.*, 57: 433—440, 1969.
6. Katsuta, H., Takaoka, F., and Nagi, T.: Interaction in culture between normal and tumor cells of rats. *Cancer cell in culture*: Ed. by Katsuta, H. Univ. of Tokyo Press, p. 157, 1968.
7. Epstein, M. A., and Barr, Y. M.: Cultivation in vitro of human lymphoblast from Burkitts malignant lymphoma. *Lancet*, 1; 252—253, 1964.
8. Nishioka, K.: *Advances in cancer research*, 14: 231, 1971.
9. Nishioka, K.: *Recent advances in human tumor virology and immunology*. Ed. by Nakahara,

- Univ. of Tokyo Press, 401—420, 1971.
10. Tachibana, T., and Klein, E.: Detection of cell surface antigens on monolayer cells I. The application of immune adherence on a micro scale *Immunology*, 19: 771—782, 1970.
 11. Inbar, M., and Sachs, L.: Interaction of the carbohydrate-binding protein concanavalin a with normal and transformed cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 63: 1418—1425, 1969.
 12. David, M., Bhan, R. D., and Rose, A. P.: In vivo human-hamster somatic cellfusion indicated by glucose-6-phosphate dehydrogenase and lactate dehydrogenase profiles. *Cancer Res.*, 31: 1148—1152, 1971.
 13. 青木, 橋本: 腫瘍免疫学. 新宿書房, 1972
 14. Grace, J. T.: Recent studies in human leukemia. *Carcinogenesis. A broad critique. A collection of papers presented at the twentieth annual symposium on fundamental cancer research.* The Williams and Willins Co., 1967.
 15. Moore, J. E.: The culture of human lymphocytoid cell lines. *Methods in cancer research*, Vol. V. chapt., X.
 16. Zembala, M., and Asherson, G. L.: Contact sensivity in the mouse. V. The role of macrophage cytophilic antibody in passive transfer and the effect of trypsin and anti-gamma globulin serum. *Cellular Immunol*, 1: 276, 1970.
 17. Evans, R. and Alexander, P.: Cooperation of immune lymphoid cells with macrophages in tumour immunity. *Nature*, 228: 620, 1970.
 18. Evans, R., and Alexander, P.: Rendering macrophages specifically cytotoxic by a factor released from immune lymphoid cells. *Transplantation*, 12: 227, 1971.
 19. Granger, G. A., and Weiser, R. S.: Homograft target cells; Contact destruction in vitro by immune macrophages. *Science*, 151: 97, 1966.
 20. Granger, G. A., and Kolb, W. P.: Lymphocyte in vitro cytotoxicity; Mechanism of immune and non-immune small lymphocyte mediated target L cell destruction. *J. Immunol*, 101: 111, 1968.
 21. Bennett, B.: Specific suppression of tumor growth by isolated peritoneal macrophages from immunized mice, *J. Immunol*, 95: 656, 1965,
 22. Pearsall, N. N., and Weiser, R. S.: The macrophage in allograft immunity; II, Passive transfer with immune macrophages. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 5: 121, 1968.
 23. David, J. R.: Mediators produced by sensitized lymphocytes.; *Fed. Proc.*, 30, 1720, 1971.
 24. Zembals, M., Ptak, W., and Hanczakowska, M.: The role of macrophages in the cytotoxic killing of tumour cells in vitro.; *Immunology*, 25: 631, 1973.
 25. 田中, 折田, 国米: 移植免疫学. 朝倉書店, 昭45年
 26. Amos, D. B.: The use of simplified systems as an aid to the interpretation of mechanism of graft rejection. *Prog. Allergy*, 6: 468, 1962.
 27. Sabbadini, E.: Studies on the mechanism of target cell lysis induced by immune cells. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 7: 551, 1970.
 28. Granger, G. A., Laserna, E. C., Kolb, W. P., and Chapman, F.: Human lymphotoxin purification and some properties. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 70: 27—30, 1973.
 29. Hellström, I., Hellström, K. E., Sjögren, H. O., and Warner, G. A.: Demonstration of cell-mediated immunity to human neoplasms of various histological types. *Int. J. Cancer*, 7: 1—16, 1971.
 30. Takasugi, M., Mickey, M. R., and Terasaki, P. I.: Reactivity of lymphocytes from normal persons on cultured tumor cells. *Cancer Research*, 33: 2898—2902, 1973.
 31. 高倉公明: 悪性腫瘍とリンパ球を中心とした免疫担当細胞の役割; リンパ球の基礎と臨床. 156—161.

- 中尾喜久編, 東京医学社, 昭47.
32. 森 将晏, 井上正康, 妹尾左知丸: コンカナバリンAによるエールリッヒ腹水ガン細胞の修飾とマクロファージの認識. 日本細胞生物学会シンポ, 23: 235, 1972.
 33. Cierniewicz, J., and Kolar, O. Tissue culture study of glioblastoma cells with addition of autologous lymphocytes. *Acta Cytol*, 13: 42—47, 1969.
 34. 菊池浩吉: ガンの免疫; —その思想と発展— 自然 10月号, 1973.
 35. Kimoto, T.: Cell recognition and phagocytosis of SV 40 transformed cell. *Acta. Path. Jap.*, 23 (2): 291—305, 1973.
 36. Kimoto, T., Yokomura, E., Shimizu, Y., Yamakawa, M., and Seno, S.: Malignant transformation of human cell in vitro by the SV 40 DNA and related alteration in biological activity of cell membranes. *Acta. Med. Okayama*, 25: 77—86, 1971.
 37. Kimoto, T., Yokomura, E., Moriwaki, K., and Yamakawa, M.: Malignant cell transformation by the SV 40 DNA and phagocytic activity related to alteration of cell membranes. *Acta. Med. Okayama*, 25: 1—12, 1970.
 38. 木本, 妹尾: 細胞膜系と物質移動 —ガン細胞膜の特性と関連して— ガンの細胞膜. 寺山宏編, 南江堂, p. 139—162, 昭44.
 39. Yokomura, E.: Induction of phagocytosis of iron colloid by Ehrlich ascites tumor cells with polycationic substances. *Gann*. 60: 439—447, 1969.
 40. 吉田孝人: リンパ球 (リンパ球様細胞) と腫瘍細胞反応; 日本細胞化学シンポ. 18: 165, 1967.
 41. 江草: 日本細胞生物学会 (昭48, 徳島) 抄録.
 42. 石橋, 芦川, 勝田, 高岡: 第28回日本癌学会総会. 抄録, p. 126, 金沢, 1969.
 43. 芦川, 石橋, 高岡, 勝田: 第29回日本癌学会総会, 抄録, p. 118, 大阪, 1970.
 44. Kimoto, T., Ueki, A., and Nishitani, K.: A human malignant cell line established from ascites of patient with embryonal carcinoma of ovarium. *Acta Path. Jap.* 25 (1): 89—98. 1975.
 45. 卵巣腫瘍: 組織発生と分類論考. 牛島宿著, 文光堂刊, 1973.
 46. Minowada, J., Ohnuma, T., and Moore, G. E.: Rosette-forming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 49: 891—895, 1972.
 47. 木本, 植木, 西谷: ヒト悪性腫瘍細胞のリンパ球貪食—人癌細胞の免疫抑制へのアプローチ— 医学のあゆみ, 90巻, 3号, 473—474, 昭49.
 48. Kimoto, T., Ueki, A., and Nishitani, K.: Phagocytosis of lymphoblastoid cells and cell destruction of human malignant tumor cells. *Acta Path. Jap.* 25 (1): 99—114. 1975.
 49. 若林, 塩川, 高久: PHA 刺激ヒト末梢血リンパ球の γ -globulin 合成能とそれに及ぼす免疫抑制剤の影響. リンパ球の基礎と臨床; 中尾喜久編, 東藤医学社, p. 137, 昭47.
 50. Cohen, A. M., Ketcham, A. S., and Morton, D. L.: Tumor specific cellular cytotoxicity to human sarcomas; Evidence for a cell-mediated host immune response to a common sarcoma cell-surface antigen. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 50: 585—589, 1973.
 51. Mac Pherson, B. R., and Pilch, Y. H.: Cellular cytolysis in vitro.; Mechanism underlying a quantitative assay for cellular immunity. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 48: 1619—1627, 1972.
 52. Saksela, E., and Meyer, B.: Cell-mediated cytotoxicity against HeLa cell in patients with invasive or preinvasive cervical cancer. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 51: 1095—1102, 1973.
 53. Hessigner, D. A., Daynes, R. A., and Granger, C. A.: Binding of human lymphotoxin to target-cell membranes and its relation to cell-mediated cytodestruction. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 70: 3082—3086, 1973.