

脳腫瘍患者における LAK 細胞, CTL の誘導 およびその臨床応用の検討

高知医科大学脳神経外科学教室 (指導: 森惟明教授)

森 木 章 人

〔原稿受付: 昭和63年9月4日〕

Induction of LAK Cells and CTL of Patients with Brain Tumor and Research of Its Clinical Application

AKIHITO MORIKI

Department of Neurosurgery, Kochi Medical School
(Director: Prof. Dr. KOREAKI MORI)

Abstract

We studied whether lymphokine-activated killer (LAK) cells and cytotoxic T lymphocytes (CTL) were capable of being induced in vitro from peripheral blood lymphocytes of patients with brain tumor. The LAK cells were generated by culturing recombinant IL-2 with peripheral blood lymphocytes. The culture was continued for 72 hours; then cytotoxicity to Hela cell was examined by 4-hr ^{51}Cr release assay. LAK cells were induced from lymphocytes of patients with brain tumor, but the cytotoxicity was rather less than that of healthy subjects, and it was accompanied by clinical deterioration. CTL was generated by co-culture of patient's peripheral blood lymphocytes and autologous brain tumor cells with addition of rIL-2. The cytotoxicity to autologous and allogenic brain tumor cells was examined by 16-hr ^{51}Cr release assay. The cytotoxicity to autologous tumor was approximately 30~40%, and there was cross reaction to allogenic tumor cells. The adoptive transfer of CTL to four patients was performed. One patient improved clinically, and on CT scan, growth of the tumor appeared to have been reduced.

はじめに

従来から、血液-脳関門の存在およびリンパ組織の

欠如などより、脳は免疫学的に weaksite と考えられてきた。しかし、免疫学の進歩とともに、抗原提供能を有する細胞のマーカーとされている HLA-DR 抗原

Key words: LAK cell, CTL, Brain tumor, Glioma, Adoptive immunotherapy.

索引語: リンフォカイン活性化キラー細胞, 細胞障害性Tリンパ球, 脳腫瘍, 神経膠腫, 養子免疫療法.

Present address: Department of Neurosurgery, Kochi Medical School, Kohasu, Okoh-cho, Nankoku, Kochi 781-51, Japan.

などが脳実質内に証明されるようになり、脳疾患とくに脳腫瘍に対する免疫療法の有効性が論じられるようになった。さらに、1985年 Rosenberg²⁰⁾ が、転移癌に対する lymphokine-activated killer (LAK) 細胞の全身投与の有効性を報告して以来、有効な抗腫瘍 effector を投与することによって癌を治療する養子免疫療法が脚光を浴びるようになってきた。今回、脳腫瘍患者における免疫能を LAK 細胞誘導率から検討する一方、手術時に摘出した腫瘍細胞によって患者（宿主）の T lymphocyte を刺激培養して cytotoxic T lymphocyte (CTL) がどの程度誘導できるかの検討を行い、少数の症例ではあるが、CTL による immunotherapy を試みたので報告する。

I. Lymphokine-activated killer (LAK) 細胞の誘導

1. 対象と方法

臨床的に脳腫瘍と診断された各種脳腫瘍患者、glioma 10例、medulloblastoma 3例、germinoma 3例、meningioma 3例、metastatic tumor 3例の計22

例を対象とした (Table 1)。患者の末梢血約 10ml をヘパリン採血し、Ficoll-Conray 比重遠心法により分離した単核球を生食で洗浄後、10%非働化 Fetal Calf Serum (FCS) 含有 RPMI 1640 培養液 (白水製薬) 中で単核球を 2×10^6 個/ml に調整し、これにそれぞれ 1, 5, 10, 25 単位の recombinant IL-2 (武田薬品) を加えて 5%CO₂ 下に常温で 72 時間培養し、LAK 細胞の誘導をおこない以下の実験を行った (Fig. 1)。

⁵¹Cr で標識した natural killer (NK) 細胞非感受性の細胞株である Hela 細胞を標識細胞として用いた。RPMI 溶液で 5×10^4 /ml の標的細胞浮遊液と 2×10^6 /ml 又は 1×10^6 /ml の LAK 細胞浮遊液を作製し、それぞれ 100 μ l ずつを U 底の 96-well 培養プレートに各 well に播き、37°C, 5%CO₂ インキュベーター内で 4 時間培養し、各 well の上清に遊離してきた ⁵¹Cr の放射活性を γ -カウンターで測定した。その細胞障害度 (%Lysis) は下記の式にもとずき計算した。

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

Table 1 Patient's profile of the brain tumors

Case	Name	Age (years)	Sex	Histological diagnosis
(1)	J.S.	36	M	malignant astrocytoma
(2)	U.T.	41	M	astrocytoma
(3)	A.N.	34	F	glioblastoma multiforme
(4)	M.H.	67	M	glioblastoma multiforme
(5)	T.H.	33	M	pontine glioma
(6)	M.Y.	30	M	glioblastoma multiforme
(7)	K.K.	61	M	glioblastoma multiforme
(8)	H.W.	14	M	malignant astrocytoma
(9)	H.O.	49	F	oligodendroglioma
(10)	T.O.	55	M	malignant astrocytoma
(11)	S.H.	16	M	medulloblastoma
(12)	K.T.	6	F	medulloblastoma
(13)	M.Y.	10	F	medulloblastoma
(14)	K.H.	6	F	germinoma
(15)	M.S.	13	M	germinoma
(16)	H.T.	4	M	germinoma
(17)	A.T.	27	M	fibroblastic meningioma
(18)	M.U.	56	F	meningotheliomastous meningioma
(19)	F.K.	62	F	meningotheliomastous meningioma
(20)	T.K.	73	F	metastatic tumor (undifferentiated carcinoma)
(21)	S.A.	81	M	metastatic tumor (squamous cell carcinoma)
(22)	I.D.	74	M	metastatic tumor (small cell carcinoma)

- 1) Separation of peripheral blood lymphocyte
Ficoll-Conray gradient
- 2) Complete medium for LAK cells
RPMI 1640 containg 10% FCS
- 3) Induction of LAK cells
Incubation for 3 days in complete medium containing rIL-2: 2×10^6 cells/ml, rIL-2 1, 5, 10, 25 U/ml (day 0)
- 4) Measurement of cytotoxicity (day 3)
Target cell: Hela cell
E/T ratio: 20/1, 40/1
4 hrs ^{51}Cr release assay

Fig. 1 Induction of LAK cells and ^{51}Cr release assay

2. 結 果

培養液中の IL-2 濃度の健常者 LAK 活性に及ぼす変化は Fig. 2 に示すように、1 U/ml 以上の濃度の rIL-2 によって誘導され、また脳腫瘍患者においてもほぼ同様の相関関係をもとめた。今回は、IL-2 濃度 1 U/ml, Effector/Target(E/T)ratio 20 の条件下での LAK 細胞活性の比較検討をおこなった。その結果は Fig. 3 に示す如く、健常者 ($30.7 \pm 14.4\%$) と比べて glioma $27.4 \pm 25.5\%$, medulloblastoma $13.6 \pm 12.0\%$, metastasis $13.5 \pm 8.1\%$, germinoma $27.3 \pm 18.9\%$, meningioma $29.0 \pm 12.0\%$ と LAK 活性は低値を示すものの、いずれの脳腫瘍患者においても誘導され

Fig. 2 Dose response curve of LAK activity

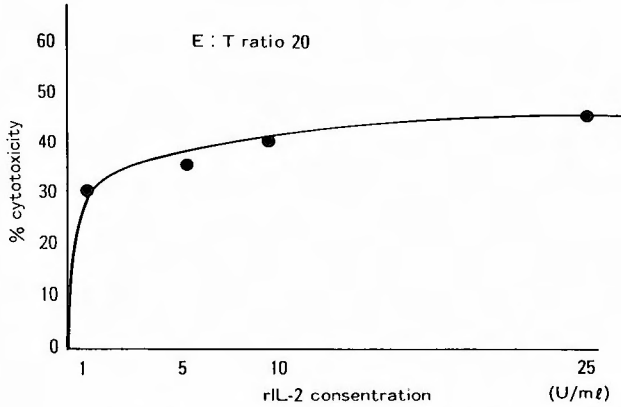


Fig. 2 Does response curve of LAK activity

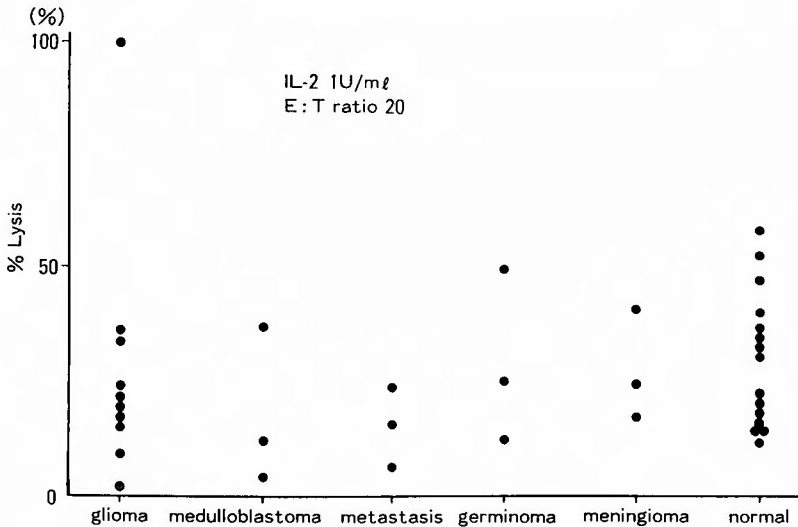


Fig. 3 Lymphokine activated killer (LAK) activity

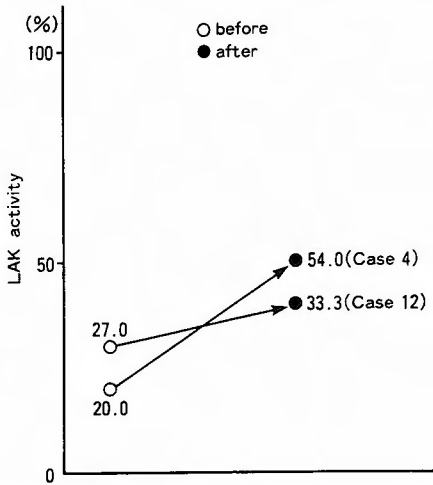


Fig. 4 LAK activity before and after administration of β -interferon

ることが明らかとなった。また、その値と臨床症状との関係を Karnofsky's performance status (PS) を用いて比較検討したところ、症状の悪化に伴って低下する傾向をみとめ、なかでも Case 5 (PS20%), Case 11 (PS60%) においては、LAK 活性がそれぞれ2.8%, 10.0%とほとんど誘導できないほどに低下していた。なお、Case 3 (PS40%) においては、全身状態がわるいにもかかわらず LAK 活性94.7%と非常に高値を示したが、この症例では長期にわたって OK-432 の投与がおこなわれており、それによる影響があるように思われた。同様に、Case 4(PS60%), Case 12(PS90%) では、入院後 β -interferon(IFN)300 \times 10⁴U/day を約6週間全身投与しているが、投与前後において Fig.4のごとく LAK 活性の上昇傾向をみとめた。

II. Cytotoxic T lymphocyte (CTL) の誘導

1. 対象と方法

悪性脳腫瘍4例で、その内訳は malignant meningo 1例, malignant astrocytoma 1例, glioblastoma multiforme 2例である。年齢は14~70才 (平均35才), 男女比は1:1である。そのうち3例には術後、頭皮下に Ommaya's reservoir を設置し、これを介して CTL の局所への投与をおこなった。すなわち、生食 2ml に suspend し、週1回の割合で CTL の投与をおこなった (Table. 2)。なお、Case 1には、CTL の静脈内投与のみをおこなっている。

CTL の誘導に関する実験ならびに治療は高知医科大学免疫学教室の浜里真二医師の指導のもとに当免疫学教室の方法に従って下記のごとくおこなった (Fig. 5)。

1) 標的細胞の作成

手術にて得られた腫瘍片を無菌的にハサミ、摂子を

- 1) Separation of peripheral blood lymphocytes by Ficoll-Conray gradient
- 2) Complete medium for CTL
D'MEM containing 5% heat-inactivated AB type serum
- 3) Induction of CTL cells (R/S=400~500)
Incubation for 7 days in complete medium containing rIL-2: 3 \times 10⁶ cells/ml, rIL-2 2U/ml (day 3) at 37 $^{\circ}$ C
- 4) Measurement of cytotoxicity (day 6)
Target cells: autologous, allogeneic
E/T ratio: 10/1, 20/1, 40/1, (80/1)
16-hr ⁵¹Cr release assay
- 5) CTL transfer (day 7)
Suspended in saline

Fig. 5 Schedule of CTL-therapy

Table 2 Adoptive transfer of CTL into brain tumor

Patient No	Age/Sex	Histological diagnosis	Previous therapy	CTL	Performance status	Tumor size
1	70/F	malignant meningioma	5,000R, ope	1.0 \times 10 ⁸ (iv)	unchanged	not increased
2	14/M	malignant astrocytoma	5,000R, ope, ACNU, IFN, MTX	1.3 \times 10 ⁸ (it)	improved	not increased
3	34/F	glioblastoma multiforme	3,200R, ope, MTX	2.0 \times 10 ⁷ (it)	unchanged	increased
4	32/M	glioblastoma multiforme	5,000R, ope, ACNU, OK-432, IFN	1.1 \times 10 ⁸ (it)	unchanged	not increased

INF: interferon, MTX: methotrexate, ope: operation
iv: intravenous injection, it: intratumoral injection (local injection)

用いて細切し, 25 cm² flask にて培養した. 腫瘍細胞の培養は 6% human serum (HS) 加の Dalbecco's modified MEM (GIBCO) 培地を用いた. 培養細胞の同定として, glioma の場合には免疫染色として B-SA (Biotin-Strept Avidin) 法を用いて GFAP, S-100 染色をおこなった. 一次抗体としては 500倍希釈したものをを用いた (Fig. 10).

2) CTL の誘導

当大学免疫学教室で確立した方法に従い, 患者末梢静脈血より CPD テルモトリプルバックを用いて約 200~300 ml 採血し, 2000 rpm 20分間遠心したのち, buffy coat の層のみを採取した. 次に, buffy coat から Ficoll-Conray 比重遠心法によりリンパ球を分離し, pH 7.2 の phosphate buffered saline (PBS) にて 1,500 rpm 5分間遠心を3回繰り返して十分に洗浄し, 末梢リンパ球を採取した. このリンパ球を, 5%の非働化したヒト AB 型血清にて 3×10⁶ 個/ml の培養浮遊液とし, これを responder 細胞とした.

単層に増殖した自己脳腫瘍細胞を 0.25%トリプシンで処理し, 細胞浮遊液としたのち培養液で 1ml に suspend し, Mitomycin C 200 μl を加え 37°C 下に 1時間処理し, PBS にて3回洗浄した後, stimulator 細胞とした. なお, responder/stimulator (R/S) 比は 400~500の間となるように設定した.

3) IL-2 の添加

ヒト recombinant IL-2 (武田薬品工業) は 2U/ml の濃度になるように, 培養 3日目に培地の中に滴下し

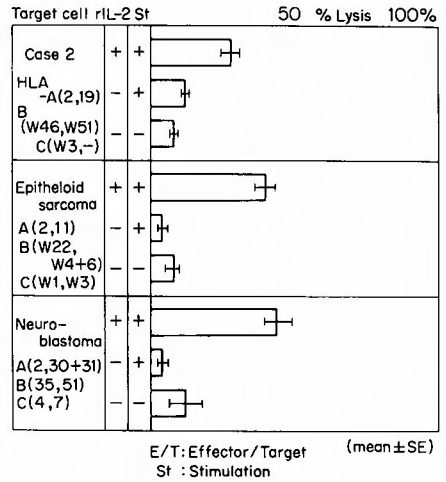


Fig. 7 In vitro cytotoxicity of CTL induced from case 2 against autologous and allogeneic tumor cells. E/T ratio=40:1

た.

4) killer 活性の測定 (16-hr ⁵¹Cr release assay)

CTL の killer 活性およびその特異性を標的細胞としての自己の脳腫瘍について検討する一方, allogeneic の腫瘍として epitheloid sarcoma, neuroblastoma を用い同様の ⁵¹Cr release assay 法にて検討した.

5) CTL-therapy

CTL の投与は, CTL 誘導後 7日目のものを用いて施行した. 生食水に浮遊させた CTL を主として Ommaya's reservoir より (一例には静注) 局所投与した. 投与は週 1回, 最大計 8回の投与をおこない, 総投与量は 2.0×10⁷~1.3×10⁸ 個に達した.

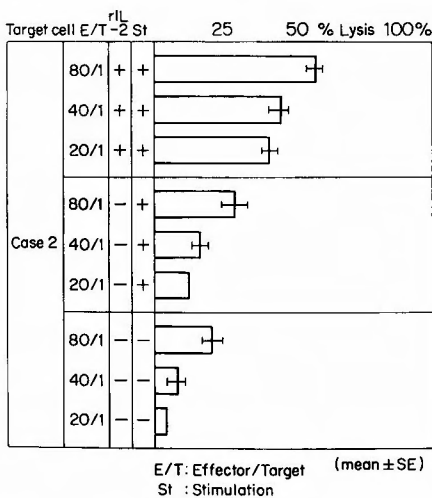


Fig. 6 In vitro cytotoxicity of CTL induced from case 2 against autologous glioma cell.

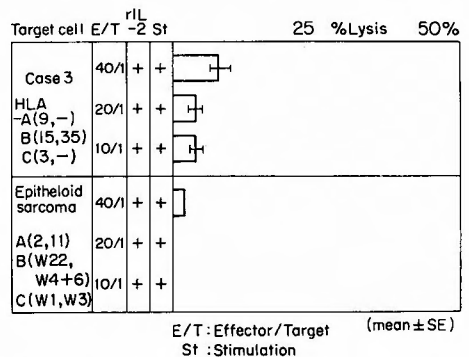
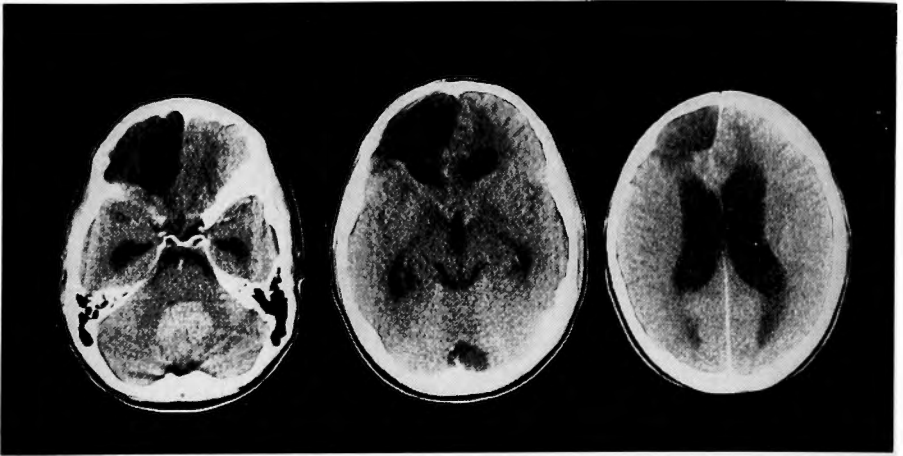
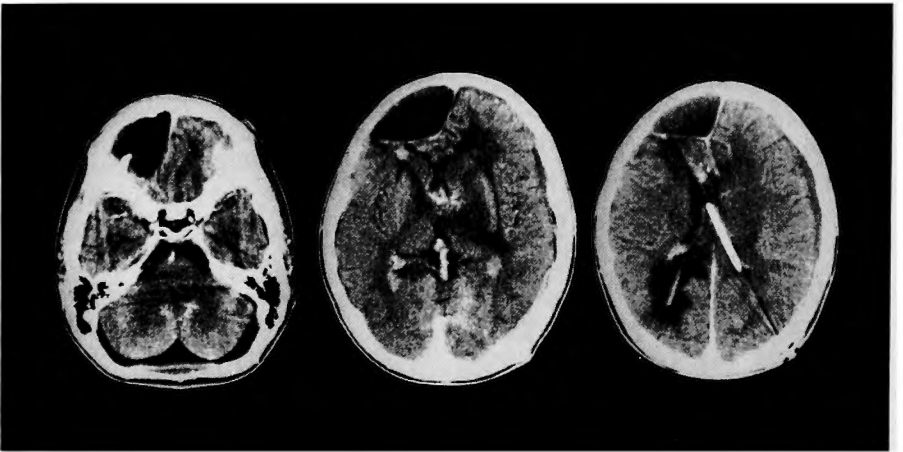


Fig. 8 In vitro cytotoxicity of CTL induced from case 3 against autologous and allogeneic tumor cell.

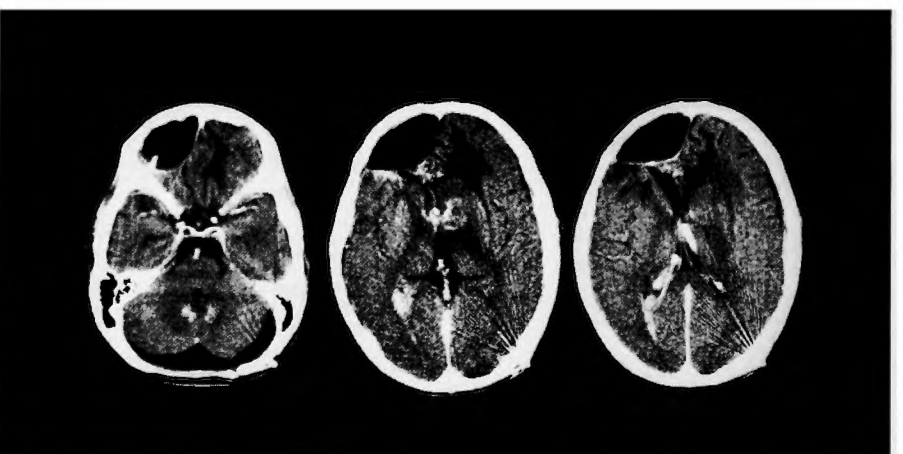
(A)



(B)



(C)



6) 効果判定

各種脳腫瘍に対する CTL の効果判定は plain および enhanced CT ならびに Karnofsky's performance status (PS) によって判定した。また、副作用の有無を検討するため、末梢血液検査、および免疫学的検索を行った。

2. 結 果

1) 自己脳腫瘍細胞に対する CTL 活性

今回誘導した CTL は自己腫瘍に対して 30~40% (E/T40) の killer 活性を有していた。しかし、Case 3 のみは 4~10% 程度の killer 活性しか得られなかった。多くの case では Fig. 6 の如く、IL-2 の投与や stimulation をおこなわなかった系においても数% の killer 活性が得られているが、stimulation および IL-2 を加えることにより、さらに killer 活性の増強がみられ、これは自己脳腫瘍に対する特異的反応と考えられた。また、E/T 比と killer 活性もほぼ dose dependent の傾向を示した。

2) allogeneic な腫瘍細胞に対する CTL 活性能

Fig. 7, Fig. 8 に示す如く、HLA 抗原の類似した腫瘍に対しては各腫瘍において同等の殺細胞能を示すが、全く異なった腫瘍に対してはほとんど killer 活性を示さなかった。また、allogeneic な腫瘍細胞の特徴として、Fig. 7 の如く、stimulation を加えたものよりもむしろ末梢リンパ球の方に高い killer 活性を示す傾向がみられた。

3) CTL-therapy

結果は Table 2 の如くであり、CT 上腫瘍の縮小化とまではいかなかったが、Case 3 を除き CT 上腫瘍の増大の抑制傾向がみられた。また、Case 2 においては治療前に存在した左片麻痺、意識障害の改善がみられた。Case 3 のみは治療経過中に CT 上 cyst の増大をみとめた。

副作用としては、4 例中 2 例において CTL 投与後一過性の発熱をみとめた程度であり、その他には重篤なものはみられなかった。末梢血液検査においても肝機能、腎機能をはじめ、その他の生化学的検査上にも明らかな異常をみとめなかった。

考 察

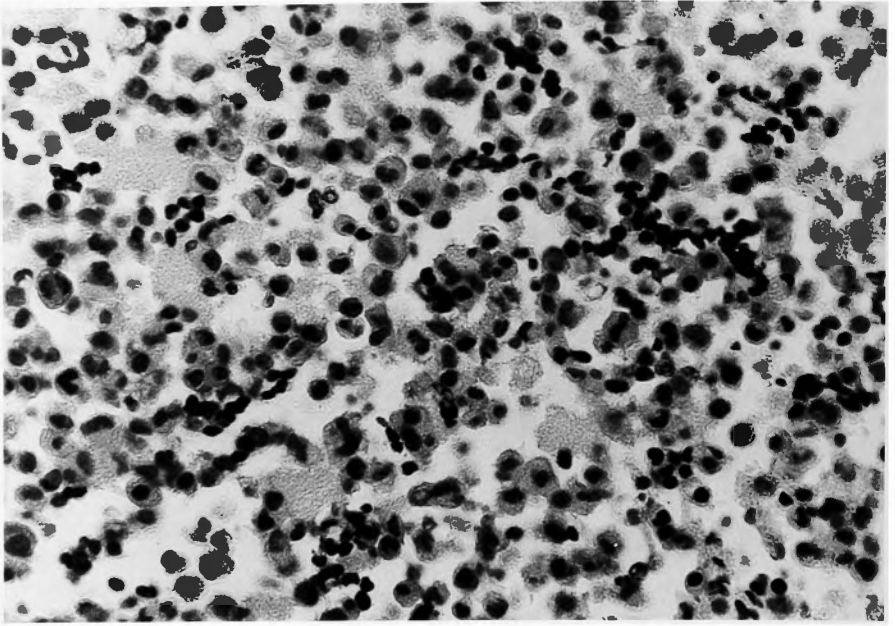
一般的に悪性脳腫瘍患者では Purified protein derivatives (PPD) の陰性化、Phytohemagglutinin(PHA) 幼若化反応低下、OKT₄/OKT₈ 比の低下などの非特異的免疫機能の低下が指摘されているが、この変動が示す免疫学的意義は不明である。一方、Bacillus Calmette-Guerin (BCG), OK-432, Levamisole, Tragacanth gum degradation sulfation(TGDS)¹³⁾, Interferon (IFN) などの非特異的免疫療法が行われてきたが、その効果もいまだ充分とはいえず、これらの免疫療法が脳腫瘍患者に対して真に有用なものであるか否か疑問視されつつある。1976年 IL-2 の発見以来、腫瘍免疫学の著しい進歩がなされ、さらに1985年 Rosenberg²⁰⁾ が転移癌に対する LAK 細胞の全身投与を報告して以来、有効な抗腫瘍 effector の投与をおこなう養子免疫療法が脚光を浴びようになって来た。脳神経外科領域においても、岡本ら¹⁷⁻¹⁹⁾ 清水ら^{22,23)} の LAK 細胞を用いた養子免疫療法、吉田ら²⁸⁾ の培養自己リンパ球局所移入による悪性 glioma 患者に対する治療が試みられるようになってきている。また、北原ら^{11,12)} の IL-2 依存性 CTL 株の樹立などの報告もみられる。

今回、脳腫瘍患者において LAK 細胞および CTL が実際に誘導できるかどうかの検討を行った結果、LAK 細胞は健常者と比べて低値ではあるが誘導可能であり、その誘導率は患者の全身状態にも影響をうけやすいという傾向がみられた。したがって、免疫療法を施行するに際しては、意識障害を含め全身状態を改善させてから、あるいは改善しつつおこなうべきである。また、その誘導率は INF, OK-432 などの免疫賦活剤により増強される傾向をみとめたので、今後はこのような effector との併用療法も考慮されるべきであろう。一方、LAK 細胞は IL-2 共存下に 3~4 日間培養で比較的容易に誘導でき、しかも 4 時間という短時間で細胞障害性を示すことなどから、局所投与の方法においては汎用性もある有用なエフェクター細胞であると考えられる。しかし、LAK 細胞には腫瘍特異性がなく、理想的には腫瘍細胞に対して特異的障害を

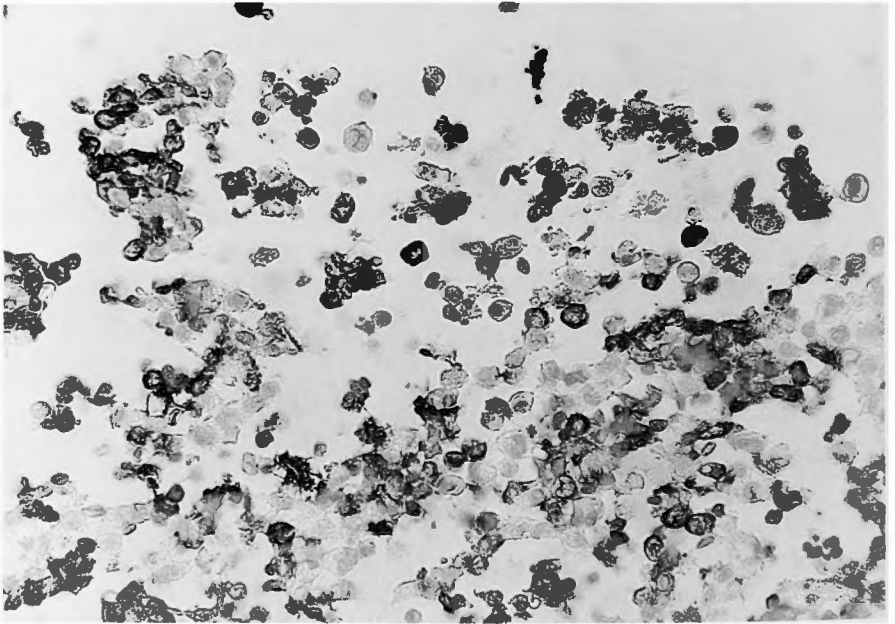
Fig. 9 CT scans with contrast enhancement in case 2.

- (A) Pre-operative scan showing the metastasis to the vermis. Right frontal lobectomy is done.
- (B) Pre-treatment scan showing enhancing area in the lateral ventricle. The guide tube is implanted in the right lateral ventricle and connected to subcutaneous Ommaya's reservoir.
- (C) Post-treatment scan after intratumoral injection of 1.3×10^8 CTL.

(A)



(B)



(C)

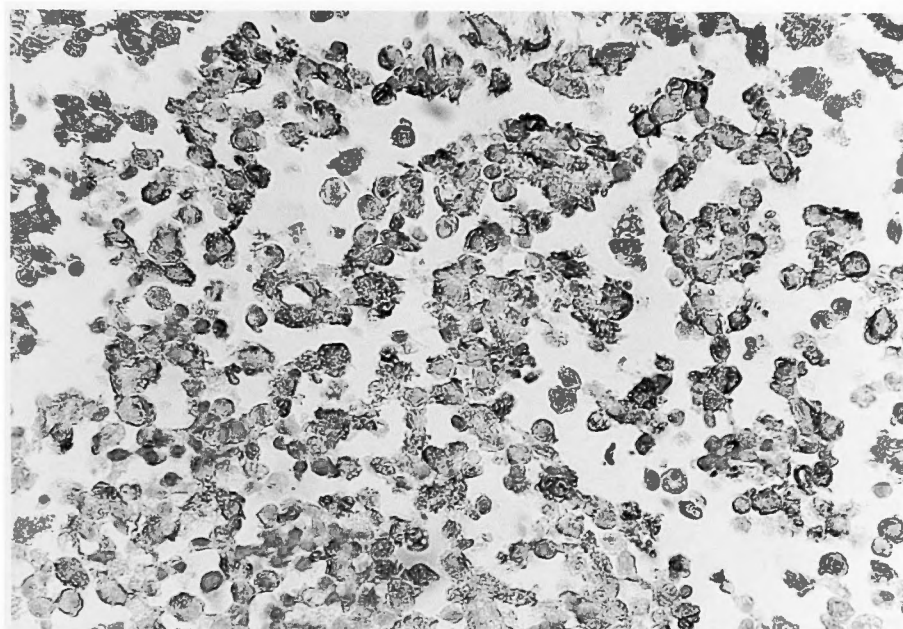


Fig. 10 Cultured glioma cells in case 2.

(A) stained by hematoxylin-eosin (HE) $\times 100$

(B) stained by glial fibrillary acidic protein (GFAP) $\times 100$

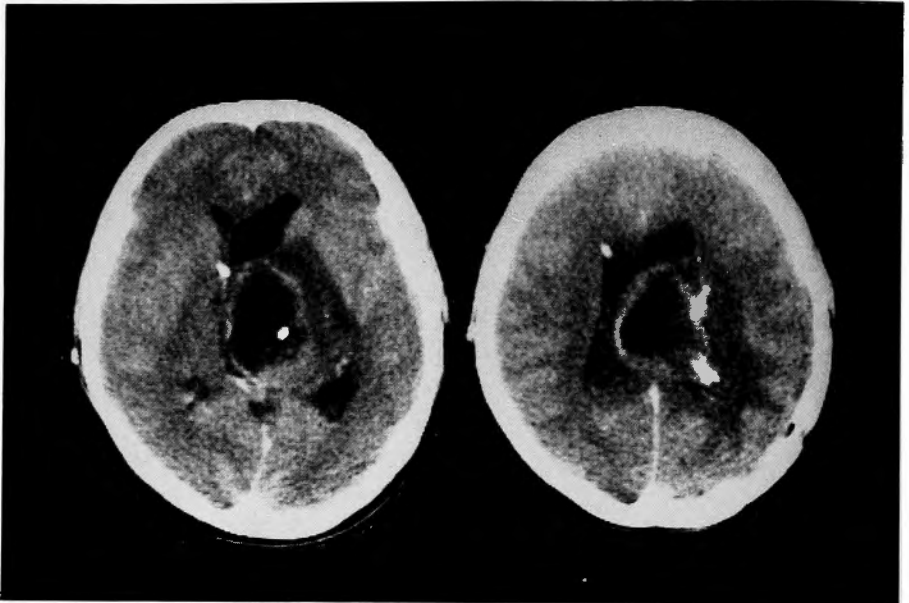
(C) stained by S-100 $\times 100$

示す CTL-therapy が望ましいといえる。事実、マウスの実験腫瘍にこれらの CTL 療法は極めて有効で、治癒率100%という報告もある^{1-5,14}。我々も手術時に得た腫瘍組織の培養が可能であった臨床症例につき、実際に CTL の誘導をおこない、CTL-therapy を試みた。この培養細胞の同定には glioma の場合、GFAP, S-100 に対する免疫染色をおこない検討したが、ともに陽性を示した (Fig. 10)。CTL 誘導の結果は、1例を除き、各自己脳腫瘍に対して 30~40% (E/T 40) の killer 活性を示す CTL を誘導することができた。また、その killer 活性には同種腫瘍間で交叉反応を示した。このことは、手術時に培養するのに十分な腫瘍組織が得られなかった症例については、非自己脳腫瘍細胞との混合培養で有効な CTL が誘導できる可能性を示唆しているものと考えられる。

CTL の誘導が human leukocyte antigen (HLA) のタイプと相関するか否かは多くの症例での検討が必要と思われるが、藤本⁶⁻¹⁰ はマウスの場合と同じく、ヒトでも腫瘍細胞で免疫することによって活性化されるが、この場合は腫瘍細胞が表現している種々の抗原系に対するポリクローナルなキラー T 細胞が活性化さ

れており、腫瘍細胞には同系腫瘍間あるいは異種腫瘍間で交叉反応性の抗原系が表現されていると述べている。今回 CTL-therapy を試みた 4 例は、いずれも CT 上腫瘍の縮小化を示す程の効果を得ることはできなかった。とくに Case 3 においては治療中も腫瘍内 cyst の増大傾向がみられた (Fig. 11)。この症例は左視床部膠芽腫であり、生検施行直後より 3,200 rads の術後照射をおこなったため、末梢白血球 11,000/ μ l 中リンパ球 3%と少なく、assay による killer 活性も 4~10%程度と低値なため、十分な effector 細胞の投与がおこなえなかったためと思われる。しかし、cyst 形成は強い免疫反応の結果とも考えられ、単に腫瘍の増大とのみ解釈すべきではなく、さらに今後の検討が必要である。Case 2 は右前頭葉原発の malignant astrocytoma の小脳虫部への転移例で、腫瘍全摘出後 CT 上に髄腔内播種の所見をみとめたため (Fig. 9)、脳室内に設置した Ommaya's reservoir を介して CTL を合計 1.3×10^8 個注入をおこなったところ、治療前に存在していた左片麻痺、意識障害の改善をみとめた。CT 上も腫瘍の増大傾向はみられなかった。今回 CTL-therapy を試みた 4 例の CTL の投与量は $2.0 \times 10^7 \sim$

(A)



(B)

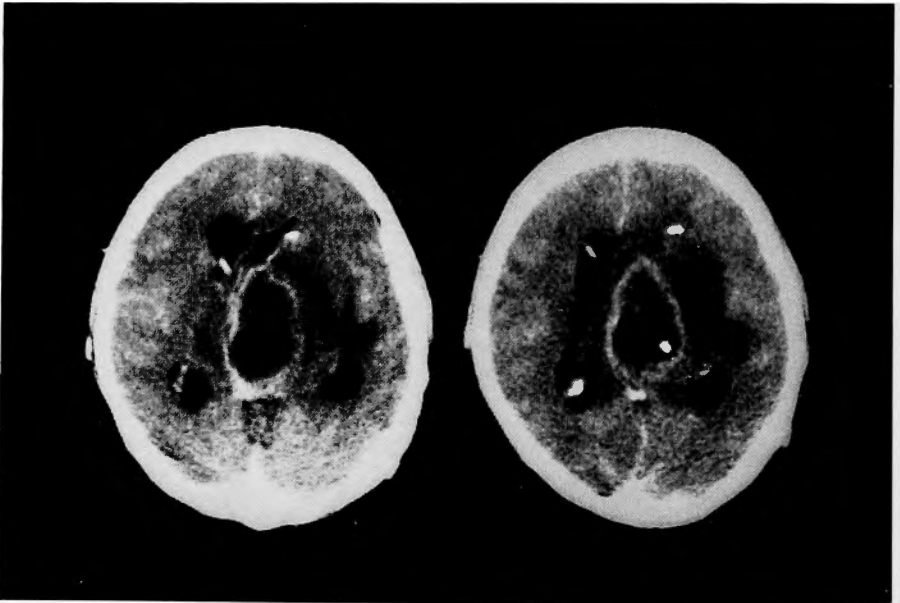


Fig. 11 CT scans with contrast enhancement in case 3.

- (A) Pre-treatment scan showing a cystic enhancing mass in the thalamus extended into the left lateral ventricle. The guide tube is implanted in the cyst and connected to subcutaneous Ommaya's reservoir.
- (B) Growth of the cyst was seen on CT scan during treatment.

1.3×10^8 個と全体的に少なく、治療効果を検討する上では充分量とはいえなかったが、今後さらに killer 活性の高い effector 細胞が大量に得られるようになれば、in vivo においてもその治療効果が十分に期待できるものと思われる。また、CTL-therapy には手術の行えないような症例や、腫瘍細胞が培養できない症例には使用できないという問題点があり、今後は交叉反応性を示す allogeneic な腫瘍による stimulation や、また cyclophosphamide などを用いてサプレッサー T 細胞を効率よく除去するなどの工夫が必要と思われる。

ま と め

1. 脳腫瘍患者22例において LAK 細胞活性の測定をおこない、健常者と比べて低下していることを明らかにした。

2. LAK 細胞の誘導率は腫瘍の悪性度とも一部相関するが、全身状態の悪化に左右されやすく、また免疫賦活剤の投与によりその誘導率を高め得た。

3. 脳原発悪性脳腫瘍患者4例に対して CTL の誘導、および CTL-therapy をおこなった。その結果、臨床症状の改善をみとめ、CT 上、腫瘍の増殖が抑制され、その有効性を確認した。今後 killer 活性の高い effector 細胞を大量に得る方法を開発し、治療効果の向上をはかりたい。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った脳神経外科森雅明教授、栗坂昌宏助教授、また論文の御校閲を賜った高知医科大学免疫学教室藤本重義教授に心から謝意を表します。

文 献

- 1) Cheever MA, Greenberg PD, Fefer A: Specific adoptive therapy of established leukemia with syngeneic lymphocytes sequentially immunized in vivo and in vitro and non-specifically expanded by culture with interleukin 2. *J Immunol* 126: 1318-1322, 1981.
- 2) Cheever MA, Greenberg PD, Fefer A: Augmentation of the anti-tumor therapeutic efficacy of long-term cultured T lymphocytes by in vivo administration of purified interleukin 2. *J Exp Med* 155: 968-980, 1982.
- 3) Donohue JH, Rosenstein M, Chang AE, et al: The systemic administration of interleukin 2 enhances the ability of sensitized murine lymphocytes to cure a disseminated syngeneic lymphoma. *J Immunol* 132: 2123-2128, 1984.
- 4) Eberlein TJ, Rosenstein M, Spiess P, Wesley R, Rosenberg SA: Adoptive chemimmunotherapy

of a syngeneic murine lymphoma with long-term lymphoid cell lines expanded in T cell growth factor. *Cancer Immunol Immunother* 13: 5-13, 1982.

- 5) Eberlein TJ, Rosenstein M, Rosenberg SA: Regression of a disseminated syngeneic solid tumor by systemic transfer of lymphoid cells expanded in interleukin 2. *J Exp Med* 156: 385-397, 1982.
- 6) 藤本重義: 癌免疫における免疫担当細胞, 臨床科学 15: 1452-1458, 1979.
- 7) 藤本重義: 癌免疫と癌免疫療法の展望, 西日本泌尿器科別冊: 349-358, 1987.
- 8) 藤本重義: 自己認識と癌, 実験科学 3(1): 36-41, 1985.
- 9) 藤本重義: 担癌生体における抑制性 T 細胞, 代謝臨時増刊号免疫 16: 1854-1861, 1979.
- 10) 藤本重義: T 細胞クローンの腫瘍化一同系腫瘍に対する細胞障害性 T 細胞腫一細胞工学 3: 906-914, 1984.
- 11) 北原聡樹: 活性化リンパ球を用いた脳腫瘍の治療—Interleukin 2 依存性腫瘍特異的キラー T 細胞を用いて—, 順天堂医学 32: 282-291, 1986.
- 12) Kitahara T, Watanabe O, Yamamura A, Makino H, Watanabe T, Suzuki G, Okumura K: Establishment of interleukin 2 dependent cytotoxic T lymphocyte cell line specific for autologous brain tumor and its intracranial administration for therapy of the tumor, *Neuro-Oncology* 4: 329-336, 1987.
- 13) Kurisaka M: Nonspecific immunotherapy of brain tumors by Tragacanth Gum Degradation Sulfation (TGDS). *Nihon Univ J Med* 17: 223-238, 1975.
- 14) Millis GB, Carlson G, Paetkau V: Generation of cytotoxic lymphocytes to syngeneic tumors by using co-stimular (interleukin 2); in vivo activity. *J Immunol* 125: 1904-1909, 1980.
- 15) Miyatake S, Handa H, Yamashita J, Yamasaki M, Ueda M, Namba Y, Hanaoka M: Induction of human glioma-specific cytotoxic T-lymphocyte lines by autologous tumor stimulation. *J Neuro-Oncology* 4: 55-64, 1986.
- 16) 中尾 哲, 難波裕二郎, 花岡正男, 他: グリオーマ移植マウスにおけるキラー T 細胞の動態, *Neurol Med Chir (Tokyo)* 18, Part 11: 393-400, 1978.
- 17) 岡本 裕, 清水恵司, 宮尾泰慶, 他: 悪性腫瘍の髄腔内播腫に対する ALK 細胞を用いた養子免疫療法, *臨床免疫*, 19: 687-694, 1987.
- 18) 岡本 裕, 清水恵司, 宮尾泰慶, 他: LAK 細胞を用いた養子免疫療法の臨床応用への試み, *脳神経* 38: 593-598, 1986.
- 19) 岡本 裕, 清水恵司, 宮尾泰慶, 他: ヒト recom-

- binant IL-2 により誘導された LAK 細胞の抗腫瘍効果について, 脳神経 38: 233-237, 1986.
- 20) Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al: Observations on the systemic administration of autologous lymphokine activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *New Engl J Med* 313: 1485-1492, 1985.
- 21) Steven KJ, Debra JW, Paul LK, et al: Interleukin-2 and autologous lymphokine activated killer cells in the treatment of malignant glioma, *J Neurosurg* 64: 743-749, 1986.
- 22) 清水恵司, 宮尾泰慶, 岡本 裕, 他: グリオーマ患者における LAK 活性と IFN- γ の産生能, *J. Jpn. Soc. Cancer ther* 21: 760-766, May, 1986.
- 23) 清水恵司, 宮尾泰慶, 岡本 裕, 他: グリオーマ患者における LAK 細胞の誘導能とその抗腫瘍効果 脳神経 38: 265-271, 1986.
- 24) 高井信行, 田中隆一, 吉田誠一, 他: ラット実験脳腫瘍に対する養子免疫療法—LAK 細胞の誘導およびその生物学的特性について—, 脳神経 39: 879-884, 1987.
- 25) 高井信行: 担脳腫瘍ラットを用いた養子免疫療法の研究, 脳神経 40: 689-695, 1988.
- 26) 佃 守, 持松いづみ, 中川千尋, 他: Recombinant IL-2 の全身投与と NK, LAK 活性, *医学のあゆみ* 137: 1027-1028, 1986.
- 27) 山下純宏, 山崎俊樹, 宮武伸一: 特異的キラーT細胞株を用いた悪性脳腫瘍に対する局所免疫療法, *病態生理* 5: 740-743, 1986.
- 28) 吉田誠一, 高井信行, 小野晃嗣, 他: 培養自己リンパ球局所移入による悪性 glioma 患者の治療, 脳神経 40: 119-125, 1988.