

薬学雑誌  
YAKUGAKU ZASSHI  
108(3) 171-186 (1988)

抗癌剤の現状と将来. 特に生薬薬理の観点から

千原呉郎

国立がんセンター研究所, 〒104 中央区築地 5-1

Current Status and Possible Future of Antitumor Drugs. With Special Reference to Pharmacology of Oriental Medicine

GORO CHIHARA

National Cancer Center Research Institute,  
Tsukiji 5-1, Chuo-ku, Tokyo, 104, Japan

The most important problem in cancer research is to increase comfortably the survival time and to prevent completely recurrence after surgical resection in cancer patients. Cytocidal anticancer chemotherapeutics have detrimental side effects and destroy host defence mechanisms, and are not useful for cancer patients. On the other hand, there is several evidence suggesting the existence of intrinsic resistance to cancer. The examples are an equilibrium state with proliferation and regression in a small amount of cancer cells and spontaneous regression of cancer. An increase in this resistance may be one of the most important problem to find new anticancer drugs.

In Oriental medicine practiced in Asian countries from olden times, the fundamental principle is to regulate homeostasis of the whole body and to bring the diseased person to a normal state, rather than to attack the focus directly. On the basis of such a concept, the antitumor activity of numerous folk remedies has been reexamined and isolated a polysaccharide with marked antitumor activity and named as lentinan.

Lentinan is a strictly purified  $\beta$ -1,6: $\beta$ -1,3-D-glucan, and exerts prominent antitumor activities in murine allogeneic, syngeneic and autochthonous hosts, prevents chemical and viral oncogeneses, and suppresses tumor metastasis in several clinical models.

The antitumor action of lentinan is host-mediated. Comparing with other well-known immunostimulants, such as BCG, *C. parvum* and LPS, lentinan appears to represent a unique class of immunopotentiator, a T-cell oriented adjuvant in which macrophages play some parts. First, lentinan triggers the increased production of various kinds of bioactive serum factors associated with immunity and inflammation, such as CSF, IL-1, IL-3, vascular dilatation hemorrhage inducer and acute-phase protein inducer, by direct impact of macrophages or indirectly *via* lentinan-stimulated T-cells, which results in the induction of many immunobiological changes in the host. Augmented IL-1 production amplifies the maturation of immature effector cells to mature cells capable of responding to IL-2 and other cytokines, but lentinan do not augment production of IL-2. This is the most important characteristics of lentinan, because this suggests a contact point between new immunology and Oriental medicine. Lentinan augments differentiation of various kinds of important cells in the host defence. These results clearly explain the requirement of intact macrophages and T-cell compartments for antitumor activity of lentinan.

Lentinan has only a little toxic side effect in *in vivo* application to animals and human. An excellent result was obtained in 4 year's follow-up of the randomized control study of lentinan in Phase III on the patients with advanced and recurrent stomach, colo-rectal, breast cancer and malignant lymphoma. These results suggest that lentinan might be more effective for micrometastasis after surgery. Lentinan is a hopeful drug for cancer patients.

**Keywords**—lentinan; antitumor activity; metastasis-inhibitory activity; tumor

本総説は昭和62年度日本薬学会年会特別講演者に薬誌編集委員会より執筆を依頼したものである。

recurrence prevention; oncogenesis prevention; T-cell adjuvant; lymphokine; lymphokine responsibility; cell differentiation; Oriental medicine

### はじめに

癌の研究で最も重要なことは、いうまでもなく癌患者をできるだけ“楽に”長生きさせ、できれば癌を完全に治してしまうことである。本稿では抗癌剤の現状と、どうすれば上記のような薬を創ることができるか、また古くから用いられている漢方薬、民間薬などの薬理が現代の免疫学、生物学の進歩の中でどのように考えられるべきか、などについて言及したい。

### 癌化学療法剤の現状

現在までに開発され臨床にも用いられている癌化学療法剤のリストを Table I に示した。これにはアルキル化剤、代謝拮抗物質、抗生物質、植物成分その他が含まれる。しかしこれらは一般に副作用が極めて強く、また生体防御に重要な役割を演じているリンパ細胞、骨髄細胞などを癌細胞よりもはるかによく破壊し、生体を癌ばかりでなく感染症などに対しても無抵抗にしてしまう。そのため癌だけではなく原因不明の肺炎や緑膿菌による敗血症、腎障害による尿毒症などの余病で死んでゆく患者も多い。人癌治療における癌化学療法剤の役割は一般に白血病など一部の腫瘍を除きごくわずかであり、我々となじみ深い胃癌、肺癌、肝癌などの進行癌を抑制したり、外科手術後の再発を防止したりして、患者の生命を延ばすことにほとんど役立っていない。

既に 20 年以上も前、筆者の恩師である故中原和郎先生は“癌細胞に直接作用する制癌剤は行きつくところまで来てしまった。だから新しい考え方で取り組まねば癌の薬の進歩はない”と常日頃からいわれていた。事実以後 20 年、選択毒性の理論に基づく細胞毒制癌剤の開発に本質的な進歩はほとんどない。

### 癌に対する宿主の抵抗

癌の薬を考える上で最も重要なことは癌-宿主相関関係、すなわち癌と宿主との闘いがどのように行われているかということである。ここで癌が勝れば患者は死に、宿主が勝れば癌は治る。一般に癌細胞の自然治癒と増殖

TABLE I. Cytocidal Anticancer Agents in Clinical Use

(I) Alkylating agents
a) Nitrogen mustards:
Nitrogen mustard, nitrogen mustard N-oxide, melphalan, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, estramustine
b) Methanesulphonates:
Busulfan
c) Ethylenimines:
Carbazilquinone (CQ), thio-TEPA
d) Nitrosoureas:
BCNU, CCNU, ACNU
(II) Antimetabolites
a) Folic acid antagonists:
Methotrexate, aminopterin, leucovorin
b) Pyrimidine antagonists:
5-Fluorouracil (5FU), 5-fluoro-2'-deoxyuridine, tegafur, tegafur-uracil (UFT)
c) Cytosine arabinosides:
Cytosine arabinoside (Ara-C), cyclocytidine
d) Purine antagonists:
6-Mercaptopurine (6-MP), thioinosine
(III) Antibiotics
Adriamycin, daunomycin, acracinomycin A, bleomycin peplomycin, mitomycin C (MMC), actinomycin D, C, chromomycin A3, neocarcinostatin
(IV) Plant products
Vincristine, vinblastine, vindesine, podophyllotoxin, etoposide
(V) Others
L-Asparaginase, cisplatin, carboplatin

とは平衡関係にあり、免疫されたマウスの場合でその平衡は癌細胞の数が  $10^7$  個といわれている (Fig. 1).<sup>1)</sup> 宿主の抵抗を強化してこの平衡を  $10^9$  個,  $10^{10}$  個以上に高めることができれば患者にとって有益であることはいうまでもない。極めて困難と考えられる選択毒性で癌細胞を直接攻撃しなくても、環境が悪くなれば癌細胞は勝手に死んでゆくのである。

実際に癌に対して宿主が抵抗していることを示唆する多くの現象が臨床的にも観察されている。外科手術予後の良否や稀にみられる癌の自然治癒、長年にわたる癌の増殖、進行の抑制<sup>2)</sup> (Table II) などこれを反映しているといえよう。癌が恐れられているのは転移するからであるが、実際に転移するのは血流中やリンパ中に存在する癌細胞のごく一部であって大多数の癌細胞は生体自身によって処理されてしまう。また宿主は細胞性免疫反応によって自家癌さえも特異的に攻撃破壊することも実験的に証明されている。<sup>3)</sup> このような癌に対する生体固有の抵抗機構をあきらかにし、これを増強する物質又は方法を開拓することはこれからの抗癌研究の重要な方向の1つであろう。

**抗癌剤と東洋医学**

そこで筆者らは日本及びアジアで古くから癌に対して効果ありとされてきた民間伝承薬と漢方薬に注目した。古くから胃癌、食道癌などは膈噎(かくいづ)又は膈の病(かくのやまい)などによれば、利隔湯(茯苓、半夏、橘皮、甘草、白朮、乾姜、呉茱萸、牡蠣、生姜、山梔子)、乾姜甘草湯(乾姜、甘草、半夏、附子、山梔子)、翻胃湯(茯苓、陳皮、厚朴、白朮、人參、呉茱萸)、安胃湯(半夏、茴香、陳皮、白朮、乾姜、甘草、生姜)やサルノコシカケ、アカメガンワの新芽などが有効と記載されている文献があるが、癌は多くの古文書の中でさまざまな名前であ

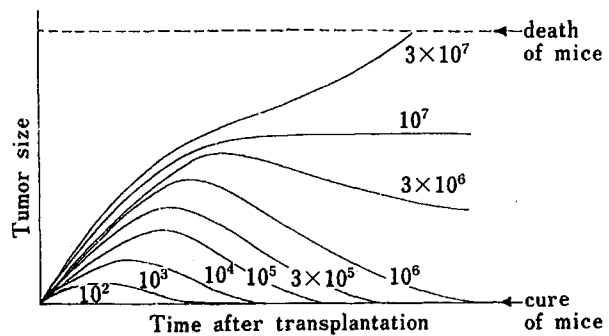


Fig. 1. Relationship between Spontaneous Regression and Proliferation of Cancer Cells in Immunized Mice<sup>1)</sup>

Table II. (A) Collected Cases of Spontaneous Regression of Cancer (B) Collective Cases of Recurrence of Metastases During 10—50 Years after Curative Operation

(A) Hypernephroma	31	(B) Breast	46
Neuroblastoma	29	Malignant melanoma	26
Malignant melanoma	19	Hypernephroma	23
Choriocarcinoma	19	Ovary	15
Bladder	13	Sarcoma of bone	3
Soft-Tissue sarcoma	11	Uterus	2
Sarcoma of bone	8	Testis	2
Colon and rectum	7	Total	117
Ovary	7		
Testis	7		
Breast	6		
Primary unknown	4		
Uterus	4		
Stomach	4		
Liver	2		
Larynx	1		
Lung	1		
Pancreas	1		
Thyroid	1		
Tongue	1		
Total	176		

Edited from Everson, Cole.<sup>2)</sup>

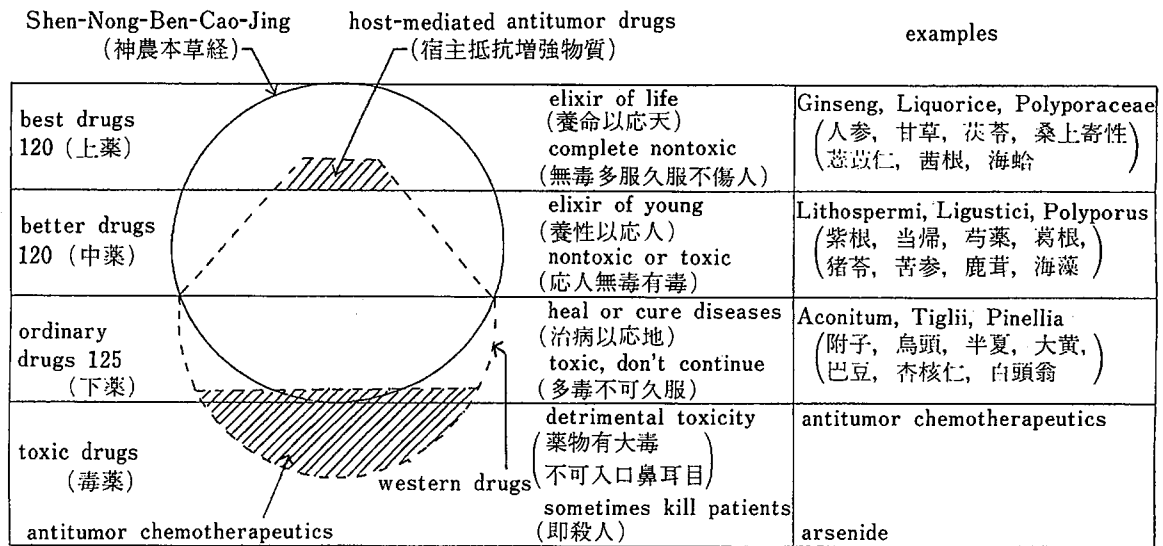


Fig. 2. Shen Nong's Herbal and Antitumor Chemotherapeutics

ばれ、それに対してさまざまな草根木皮や動物生薬の名前があげられている。

東洋医学の根本思想は病原を直接攻撃するよりも患者の状態を異常から正常に戻すことに重点がおかれている。本来、人間は免疫、ホルモン、神経系及び栄養などと、これらが相互に関連して成りたつ生体のホメオスタシスを維持することによって生命を保っているのである。これに対し、癌はこのような生体自身の統御から逸脱し、勝手に転移したり増殖したりする“はぐれ細胞”が引き起こす一連の病気と考えられないこともない。このような場合には、生体のホメオスタシスを整えて患者を回復させ、生命を延長し、できれば癌を治してゆくことが重要なのである。この考えは外科手術後の転移再発の抑制や発癌予防などに関して充分可能なことであろう。先に述べたように少数癌細胞の増殖と退縮とは平衡関係にあると考えられるからである。

Fig. 2には東洋医学と西洋医学の関係として神農本草經による上薬、中薬、下薬と西洋医薬品、特に制癌剤との関係を示した。西洋医薬品のほとんどは下薬というべきであり、特に癌化学療法剤はそれからほみ出した非薬又は毒薬というべきものが多い。これは西洋医学における分析薬理学的実験方法と東洋医学における総合薬理学的実験の差から生じたものである。いかえれば抗癌剤に限らず多くの生理活性物質はその薬理実験の方法が問題であって新しい薬を見出すには新しい実験方法が必要なのである。その点で現代免疫学と内分泌、神経生理学の新しい展開は東洋と西洋の両者を一体とする新しい道を見出しつつあるように見える。以下、筆者らの研究、特にレンチナンなどの研究を通じて、このことにも言及しつつ筆を進めたい。

#### レンチナンと抗腫瘍多糖の研究

1) サルノコシカケ科担子菌類と食用菌類の抗腫瘍性 以上の考え方に基き筆者らは癌に対して有効とされている多数の民間薬を再検討した結果、コフキサルノコシカケ、キコブタケ、メシマコブ(桑寄生)、カワラタケ、アラゲカワラタケなどの熱水抽出エキスが Swiss マウス皮下に移植した sarcoma 180 の固形腫瘍の成長を強く抑制することを見出した<sup>4,5)</sup> (Table III)。しかし野生で特定の担子菌類を大量に採取するには困難が伴う。そこで比較的入手しやすい各種食用菌類の熱水抽出エキスについてサルノコシカケ類と同一の実験を行ったところ、これらもまた sarcoma 180 の成長を強く抑制しシイタケでは 10 匹中 6 匹、ヒラタケでは 10 匹中 5 匹のマウスに腫瘍の完全消失が認められ、マツタケ、ナメコ、エノキタケなど多くの食用菌類の熱水抽出エキスにも同様な活性が認められた。<sup>6)</sup> これらの有効成分はそれぞれについて多少異なっているが多くの場合  $\beta$ -グルカン類である。筆者らはその中からシイタケを選びその有効成分の化学的生物学の性質を詳しく検討した。シイタケからは 6 種類の高糖が分離精製され、そのうち最も強い抗腫瘍活性、免疫増強活性をもつものにはシイタケの学名 *Lentinus edodes* にちなみレンチナンと名付けられた。<sup>7,8)</sup>

2) レンチナンと抗腫瘍多糖の化学 他の多くの免疫増強物質に比してレンチナンの最も優れた点は、この

TABLE III. Antitumor Activity of the Extract from Various Basidiomycetes and Edible Mushrooms against Sarcoma 180

Basidiomycetes or edible mushrooms	Complete regression	Tumor inhibition ratio (%)
コフキササルノコシカケ <i>Ganoderma applanatum</i>	5/10	64.9
カワラタケ <i>Coriolus versicolor</i>	4/ 8	77.5
アラゲカワラタケ <i>Coriolus hirsutus</i>	2/10	65.0
オオチリメンタケ <i>Trametes gibbosa</i>	1/10	49.2
カイガラタケ <i>Lenzites betulina</i>	0/ 8	23.9
チャカイガラタケ <i>Daedaleopsis tricolor</i>	4/ 7	70.2
ペッコウタケ <i>Fomitopsis semilaccata</i>	3/10	44.2
オオシロタケ <i>Rigidoporus geotropus</i>	0/ 7	44.8
ウスバシハイタケ <i>Hirschioporus fusco-violaceus</i>	1/10	45.5
メシマコブ <i>Phelinus linteus</i>	7/ 8	96.7
シイタケ <i>Lentinus edodes</i>	6/10	80.7
エノキタケ <i>Flammulia vertipes</i>	3/10	81.1
ヒラタケ <i>Pleurotus ostreatus</i>	5/10	75.3
カンタケ <i>Amanita rubescens</i>	0/ 8	72.3
ナメコ <i>Pholiota nameko</i>	3/10	86.5
マツタケ <i>Tricholoma matsutake</i>	5/ 9	91.8
キクラゲ <i>Auricularia mesenterica</i>	0/ 9	42.6

Sarcoma 180 ( $8 \times 10^6$  cells) were inoculated s.c. in Swiss albino mice. Hot water extract of the basidiomycetes or edible mushrooms was injected i.p. daily from 1 d after the transplantation for 10 d. Tumor inhibition ratios were determined at 5 weeks after tumor transplantation.

物質が何よりもよく精製純化され、物理的・化学的に厳しく特徴づけられていることで、その生理活性には完全な再現性がある。

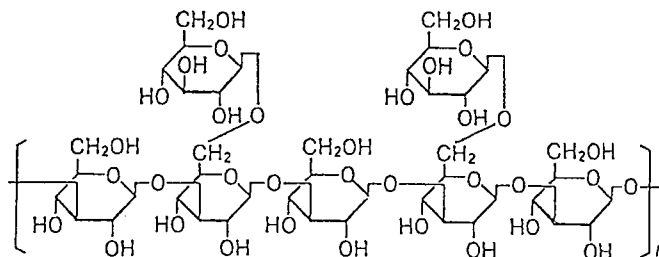
分子量約 40 万—80 万、直鎖の  $\beta$ -1,3-グルコース残基 5 に対し 2 個の  $\beta$ -1,6-グルコース側鎖を持つ構造を基本単位とした  $\beta$ -1,3-D-グルカンであって X 線構造解析によれば右巻き三重らせん構造を持つと報告されている<sup>9,10)</sup> (Fig. 3)。

多糖の生理活性においては多糖の高次構造又はミセル形成が重要で、レンチナンと類似構造を持つ茯苓の多糖パヒマンや海藻の多糖ラミナランは抗腫瘍性を持たない。しかしパヒマンの  $\beta$ -1,6-側鎖を切断して得たパヒマラン<sup>11)</sup>やパヒマンを尿素と熱して得られた U-パヒマン<sup>12)</sup>などはレンチナン同様強い抗腫瘍性を持ち、これらはいずれも三重らせん構造を持っている。このような多糖における構造-活性相関は、多糖の立体構造を認識する何らかの生物系が生体内に存在していることを示唆するものである。

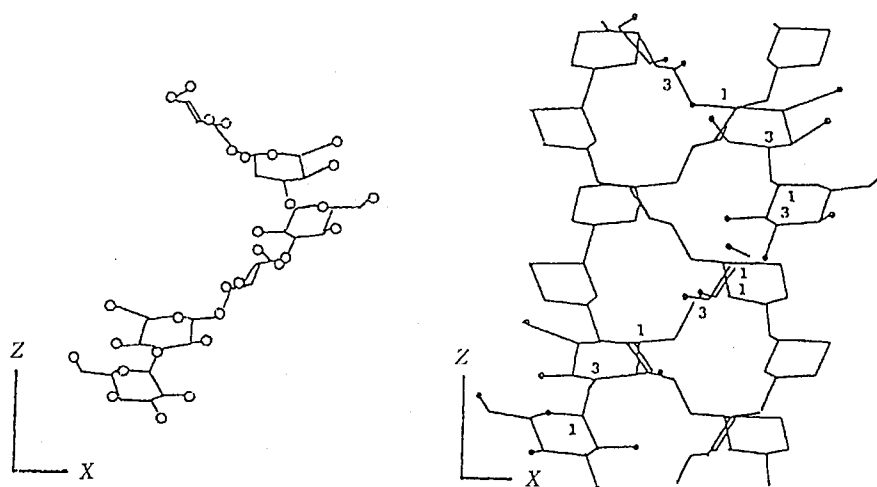
3) レンチナンの抗腫瘍性 レンチナンには sarcoma 180 などの同種移植癌だけでなく同系癌、原発自家癌に対してもその成長を強く抑制し、化学発癌、ウイルス発癌を予防する効果がある (Table IV)。レンチナンは微量の腹腔内投与で sarcoma 180 を完全に退縮させることから初めてその活性が認められたが、それだけでこの物質が抗腫瘍性を持つとはいえない。腫瘍としての外来移植片を拒絶しているのであって、癌そのものを特異的に抑えている証拠は何もないからである。それには同系癌、自家癌に対しても抗癌性を示さなくてはならない。

しかし、レンチナンの腫瘍成長を抑制する作用には幾つの特徴がある。第一に腫瘍細胞に対して直接細胞毒性を示さず、その作用が宿主仲介性であること、第二に一般の細胞毒制癌剤と異なり興味ある最適投与量が存在することなどである。多量の投与ではかえって抗腫瘍性や免疫増強活性を低下させてしまう。第三にはその抗腫瘍性がマウスの系統によって著しい差のあることである。A/J, DBA/2, CD-1 などのマウスはレンチナンに対して強い感受性を持ち、腫瘍の完全退縮が認められるが、C3H/He, C57BL/6 では退縮しない。BALB/C, CBA マウスはその中間である。筆者らは A/J, DBA/2 など高感受性の動物にメチルコランズレン (MC) を接種してそれぞれに A/J, MC, S-1 及び DBA/2, MC, CS-1 繊維肉腫の系を確立した。これをそれぞれ A/J 及び DBA/2 の近交系マウスに移植して、1 mg/kg のレンチナンを 10 回投与すると、ほとんど全腫瘍が消失することが認められた。

1. Primary structure:  
 $\beta$ -1,6: $\beta$ -1,3-D-glucan



2. Higher structure:  
 Right-handed triple helical structure (by X-ray analysis)  
 Lattice constant: hexagonal,  $a=b=15\text{\AA}$ ,  $c=6\text{\AA}$



A: Single helical:  
 (Antitumor negative)  
 laminaran, pachyman

B: Triple helical:  
 (Antitumor positive)  
 lentinan, schizophyllan  
 pachymaran, curdlan

3. Molecular formula (by elementary analysis)  
 $(C_6H_{10}O_5)_n$ : Calcd C, 44.44%; H, 6.22%  
 Found C, 44.16%; H, 6.27%  
 N, P and S: negative
4. Sugar component:  
 Glucose only (by gas chromatography)
5. Molecular weight:  
 Distribution in a range between  $4 \times 10^5$ — $8 \times 10^5$  daltons  
 (by gel permeation chromatography and Laser Raman light scattering)
6. Physical constants:  
 $[\alpha]_D^{20}$ : 13.5—14.5° (in 2% NaOH), 19.5—21.5° (in 10% NaOH)  
 UV spectra: no peak  
 IR spectra:  $890\text{ cm}^{-1}$  ( $\beta$ -glucose)  
 Ultracentrifugation: one peak  
 High voltage electrophoresis: one spot  
 Solubility: slight soluble in water (0.1%)

Fig. 3. The Structure and Physico-chemical Properties of Lentinan

TABLE IV. The Antitumor and Metastasis-Inhibitory Effects of Lentinan

Tumors	Hosts	Dose of lentinan (1 mg/kg × d)	Route	Timing of lentinan injection	Tumor inhibition ratio (%)	Complete regression of tumor
<b>Allogeneic:</b>						
Sarcoma 180	CD-1/ICR	1 × 10	i.p.	1 to 10	100	10/10
	A/J	5 × 4	i.p.	1 to 4	96.5	9/10
	DBA/2N	5 × 4	i.p.	1 to 4	100	10/10
	SWM/Ms	1 × 10	i.p.	1 to 10	100	10/10
Ehrlich carcinoma	CD-1/ICR	1 × 10	i.p.	1 to 10	54.7	0/5
	CCM adenocarcinoma	SWM/Ms	1 × 10	i.p.	1 to 10	65.3
<b>Syngeneic:</b>						
A/Ph. MC. S1 fibrosarcoma	A/J	1 × 10	i.p.	1 to 10	100	18/18
DBA/2. MC. CS-1 fibrosarcoma	DBA/2N	1 × 10	i.p.	1 to 10	76.5	2/7
P-815 mastocytoma	DBA/2N	5 × 4	i.v.	8, 10, 15, 17	89.0	2/8
L-5178Y lymphoma	DBA/2N	10 × 3	i.v.	7, 14, 21	84.0	3/9
MM-46 carcinoma	C3H/HeN	5 × 2	i.v.	13, 15	100	9/9
Madison-109 carcinoma	BALB/c	25 × 2	i.p.	15, 18		8/22
<b>Autochthonous:</b>						
MC-induced primary tumor	DBA/2N	1 × 10	i.p.	1 to 10	80.5	2/5
<b>Inhibition of Metastasis:</b>						
DBA/2. MC. CS-1 fibrosarcoma	DBA/2N (iv)	1 × 10	i.p.	-11 to -1	94.2 (colony inhibition)	
MH-134 hepatoma	C3H/HeN	1 × 14	i.p.	21 to 40	100 (survival after surgery)	
Madison-109 carcinoma	BALB/c	25 × 2	i.p.	15, 18		10/14
<b>Prevention of Oncogenesis</b>						
Methylcholanthrene-induced	SWM/Ms	1 × 10	i.p.	21 to 31	83 → 33%	} decrease
Methylcholanthrene-induced	DBA/2N	1 × 10	i.p.	14 to 24	78 → 37%	
Adenovirus type 12-induced	C3H/HeN	10 × 3	i.p.	14, 16, 18	79 → 40%	

All tumors were solid form implanted s.c. Tumors were implanted on day-0. Tumor grown to 5 mm diameter was day-0 in autochthonous hosts. Tumor inhibition ratio =  $(C - T) / C \times 100$ . (C = average tumor weight of control mice; T = that of lentinan treated mice).

Fig. 4に A/J. MC. CS-1. 繊維肉腫の場合を示す。<sup>13)</sup> レンチナンはその他多く同系腫瘍に対しても有効で原発自家癌に対しても強い抗腫瘍性を示す。DBA/2マウスに MC で発癌した腫瘍が直径約 5 mm に達したときから 1 mg/kg のレンチナンを 1 日 1 回、10 日間連続投与すると腫瘍の成長は著しく阻害され、腫瘍の退縮も認められる。<sup>14)</sup> このような原発自家癌にたいしても強い抗癌性をしめす物質は他に類例がない (Table V)。MC 接種してから 15 週目までの早期に発癌した腫瘍ほど有効であるのはその抗原性が強いからだろうか。

レンチナンは化学発癌も強く抑制する<sup>14)</sup> (Fig. 5)。通常 MC を背部皮下に接種すると 8 週後頃より癌が発生し始め 35 週後にはほとんどのマウスが発癌する。しかし 1 mg/kg のレンチナンを MC 接種 2—3 週後より 10 日間、腹腔内に投与した場合の発癌率は約 30% にまで低下する。これは MC 投与によって発生した少数の癌細胞がレンチナン投与による免

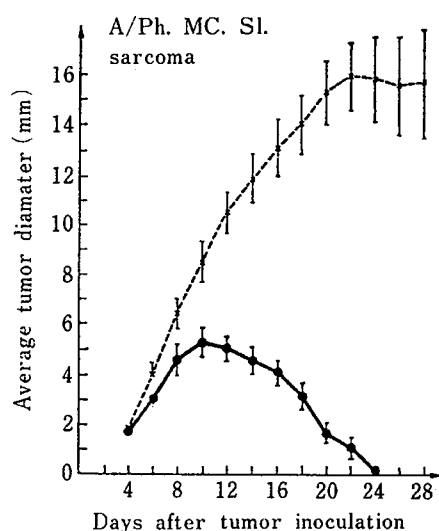


Fig. 4. Complete Regression of 3-Methylcholanthrene-Induced A/Ph. MC. S1-Fibrosarcoma by Lentinan Treatment (1 mg/kg × 10 d, i.p.) in Syngeneic A/Ph (A/J) Mice<sup>13)</sup>

--x--, control; —●—, lentinan.

TABLE V. The Antitumor Activity of Lentinan Against Methylcholanthrene Induced Primary Tumors in DBA/2 and BALB/c Mice

Time of occurrence of methylcholanthrene induced primary tumor	Lentinant treatment	Dose	Average tumor weight (g)	Tumor inhibition ratio (%)	Number of complete regression
DBA/2					
Within 15 weeks after MC treatment	Lentinan	1 mg/kg × 10	0.58	80.5	2/5
	Control		2.98		0/5
During 16 to 36 weeks after MC	Lentinan	1 mg/kg × 10	2.75	40.5	0/4
	Control		4.79		0/4
BALB/c					
Within 15 weeks after MC treatment	Lentinan	1 mg/kg × 10	0.21	77.7	1/6
	Control		0.94		0/0

When every primary tumor had grown to 5 mm diameter, treatment of lentinan was started.  $p < 0.01$  by student's t-test as compared to the control group.

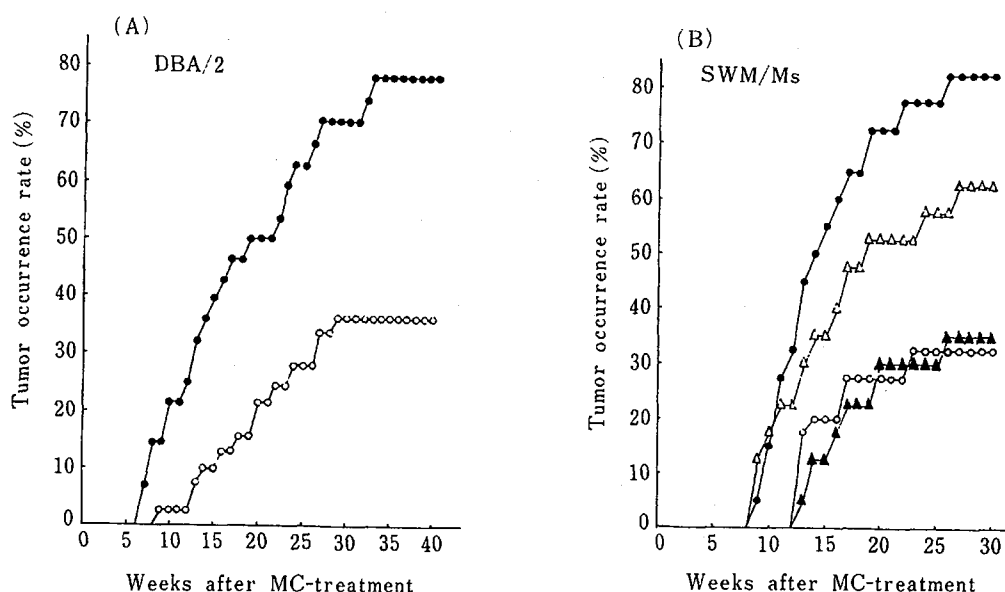


Fig. 5. (A) Preventive Effect of Lentinan on 3-Methylcholanthrene-Induced Carcinogenesis in DBA/2 Mice. (B) Significance of Timing of Lentinan Injections in Prevention of 3-Methylcholanthrene-Induced Carcinogenesis

(A) No lentinan-treated control (●), lentinan injection (1 mg/kg i.p. daily for 10 d) were started 2 weeks after MC-treatment (○).

(B) No lentinan-treated control (●), lentinan pretreated injection begun 10 d before MC-inoculation (○), lentinan injections started 3 weeks after MC-inoculation (▲). Lentinan injections started 6 weeks after MC-inoculation (△). Dose of lentinan, 1 mg/kg i.p. daily for 10 d.

疫増強作用で退縮したものと考えられる。

ウイルス発癌の場合も同様であって、新生仔の C3H/He マウスにアデノウイルス 12 型を接種すると 70 日後には約 80% のマウスに癌を生じるがアデノウイルス接種後 14, 16, 18 日後に 10 mg/kg のレンチナンを 3 回投与した場合の発癌率は約 40% である<sup>15)</sup> (Fig. 6).

このようにレンチナンが単に sarcoma 180 などの同種移植癌だけでなく同系癌、原発自家癌に対しても著しくその成長を阻害することは、この物質が単なる移植拒絶促進物質でなく真の抗癌性物質であることの証明である。

4) レンチナンによる感染症にたいする抵抗増強作用 レンチナンは癌に対するだけでなく各種の細菌、ウイルス、寄生虫などの感染症に対しても優れた治療効果を示す (Table VI).



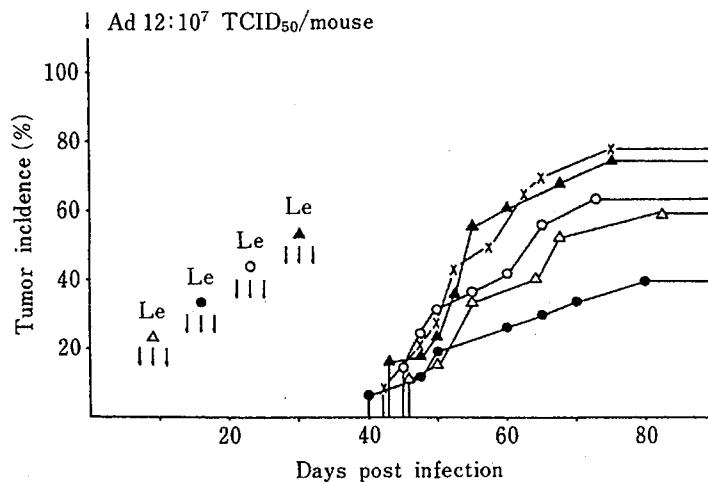


Fig. 6. Inhibition of Development of Adenovirus Type 12-Induced Tumor by Lentianin<sup>15)</sup>

Newborn C3H/He mice were infected with  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> of adenovirus type 12. Lentianin treatment (10 mg/kg) on days 7, 9 and 11 ( $\Delta$ ), 9/15; 14, 16 and 18 ( $\bullet$ ), 6/15; 21, 23 and 25 ( $\circ$ ), 9/14; 28, 30 and 32 ( $\blacktriangle$ ), 10/12 post infection, respectively. Control mice were infected but untreated ( $\times$ ), 11/14.

マンソン及び日本住血吸虫卵(肺)及び幼生(肝)に対する肉芽腫の形成をレンチナンは約8倍増強してその中心部を壊死させる。<sup>16)</sup> またレンチナンはマウスの実験結核において Streptomycin-INAH-Rifampsin による化学療法終了後の再発を強く防止する。<sup>17)</sup> このことはレンチナンが種々の感染症に対しても有効であることを示唆する。レンチナンはまた VSV 脳脊髄膜炎ウイルス, Abelson ウイルスなどの感染症に対しても有効であって感染した動物を著しく延命したり, 完治せしむることができる。<sup>18)</sup>

5) レンチナンの免疫薬理学的活性と抗腫瘍作用機構 レンチナンは腫瘍細胞に対して直接細胞毒性を示さず, その作用は宿主仲介性のものである。

Table VII にはレンチナンの持つ多様な免疫活性を示した。

レンチナンの抗腫瘍性は新生仔胸腺摘除により消失し, 抗リンパ球血清の投与によって著しく減少する。<sup>19-21)</sup> この結果はレンチナンの抗腫瘍性が, 免疫担当 T 細胞を必要とし, 胸腺由来の免疫機構を通じて作用していることを示唆するものである。一方カラゲナンなどの抗マクロファージ試薬の前投与によってもその抗腫瘍性は阻害される。一般に免疫賦活剤の作用機作は多様であるが, レンチナンは BCG, *C. Parvum*, LPS など他の良く知られている免疫賦活剤と異なり, 独自の, “マクロファージ (M $\phi$ ) の関与する T 細胞指向性免疫増強物質” と定義することができる。<sup>22)</sup>

A. レンチナン投与後, 初期に起こる宿主反応——レンチナンはこのように多様な免疫活性を示し癌や感染症に対する宿主の抵抗を増強するが, これらの反応が誘導される以前にレンチナンが生体内で関与する最初の反応は何であろうか。

筆者らはレンチナンを投与して数時間後, 又は数日後に幾つかの興味ある物質又は生理活性因子が血清中に出現又は増量することを見出した (Table VIII)。ここには免疫に関与するものと炎症に関与するものがあり, これら両者の生体内の初期の反応には互いに共通又は相互に関連するものがあるように見える。

レンチナン投与 4-7 日後をピークとして各種の急性相蛋白 acute-phase proteins (APP) の増量が観察される。これらはヘモベキシン, ハプトグロビン, セルロプラスミンなどと同定された。<sup>23,24)</sup> また補体の絶対値など

TABLE VI. Increase of Host Resistance to Bacterial, Viral and Parasitic Infections Induced by Lentianin

Bacteria:
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
Virus:
Adenovirus type 12
Abelson virus
VSV-encephalitis virus
Parasites:
<i>Schistosoma mansoni</i>
<i>Schistosoma japonica</i>
<i>Mesocostoides corti</i>

TABLE VII. The Immunological Activities of Lentinan

1. T-cell participation:	
Neonatal thymectomy	Abolished antitumor effect
Anti-lymphocyte serum	Decreased antitumor effect
Helper T-cell <i>in vitro</i>	Not observed effect
Helper T-cell <i>in vivo</i>	Activation or restoration
Cytotoxic T-cell <i>in vitro</i>	Augmentation of IL-2 responsibility
Cytotoxic T-cell <i>in vivo</i>	Increased responsibility to IL-2
Suppressor T-cells	No induction
Migration inhibitory factor-producing T-cells	Activation
IL-2	Do not increased production
IL-3	Increased production
T-cell-derived CSF	Increased production
2. Natural killer cell participation:	
NK-cells <i>in vitro</i>	No effect
NK-cells <i>in vivo</i>	Activation in C3H/He, but not BALB/c mice
Augmented NK activity by poly I : C or IL-2 <i>in vitro</i>	More activation when used lentinan-treated mouse spleen cells
Anti-macrophage agent	Decreased tumor suppressive effect by carrageenan and silica
Macrophage: phagocytic <i>in vitro</i>	No effect
Macrophage: phagocytic <i>in vivo</i>	Weak effect
Macrophage: cytotoxic <i>in vitro</i>	Not observed
Macrophage: cytotoxic <i>in vivo</i>	Activation
Macrophage: suppressive <i>in vivo</i>	Decreased prostaglandin E release from macrophages
IL-1	Increased production <i>in vitro in vivo</i>
3. Antibody formation:	
Antibody for SRBC	Increased production with T-cells
Antibody-dependent macrophage cytotoxicity	Augmentation
4. Cellular reactions:	
Delayed hypersensitivity <i>in vivo</i>	Stimulation or restoration
Local cellular reaction	Increase around tumor
Neutrophil invasion	Increase around tumor
Granuloma formation	Increase around shistosoma
5. Complement participation:	
Alternative pathway	Activation
C3 splitting activity	Activation
C3 absolute value	Increased production
Total complement value	Increased production
Classical pathway	Activation

も増量させる。しかし、これが最初の反応ではない。その前に APP を誘導する因子 (APPIF) がレンチナン投与後 2-6 時間後をピークとして出現し、これはカラゲナンの前投与によって阻止されるのでマクロファージの産物と考えられる。これは IL-1 類似のモノカインで肝細胞に働き急性相蛋白や補体を増量させるものと考えられる。<sup>25)</sup>

同様にレンチナン投与 12 時間後をピークとして血管拡張出血誘導因子 (VDHIF) が出現する。<sup>26)</sup> これもマクロファージの産物であるが、この因子を含んだ血清を与えられたマウスは数日後、一過性に耳などの血管を拡張して毛細血管に出血させ、耳が赤くなるのが特徴である。非常に興味あることはこの反応は T 細胞由来の反応であって、ヌードマウスでは認められない。この反応と抗腫瘍性との間には密接な関係がある。

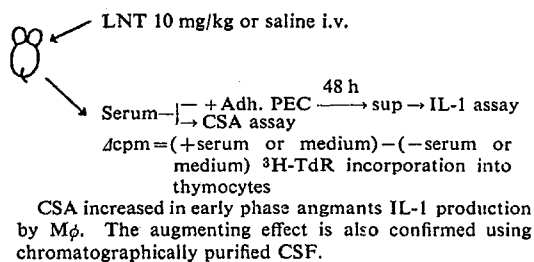
免疫と関連して重要なことはコロニー刺激因子 (CSF) と IL-1 を産生させる因子 (IL-1PF) が血清中に数時間後著しく増量することである。CSF の増量にはレンチナン投与約 3 時間と数日後との 2 つのピークがある (Fig.

TABLE VIII. Increase of Protein Components and Bio-active Factors in the Mouse Serum Soon after Lentinan Administration

Activities: (peak, 2—24 h after)
IL-1 production inducing factor
Interleukin-3
Colony stimulating factor (directly from macrophages)
Acute-phase protein inducing factor
Vascular dilatation and hemorrhage inducing factor
Lysozyme activity
Components: (peak, 3—7 d after)
Interleukin-1
Colony stimulating factor (T-cell derived)
Haptoglobin
Hemopexin
Ceruloplasmin
Serum amyloid P
Complement C3
Complement C5
Complement factor B

TABLE IX. Correlation between IL-1 Producing Activity and Colony Stimulating Activity Induced by Lentinan

	IL-1 (Δcpm)	CSA (colonies/10 <sup>5</sup> cells)
Normal serum (2%)	-10	159
LNT serum (2%)	245	821
Medium	23	31



7). 前者は肺胞マクロファージより、後者はレンチナンで刺激されたTリンパ球から誘導されたものと思われる。このレンチナンを投与されたマウスの血清のCSF活性とIL-1産生活性とは密接な関連があり、初期に産生されたCSFはIL-1のinducerとして免疫制御マクロファージに作用してIL-1の産生を増大せしめると考えられる (Table IX).<sup>27)</sup>

一方、マウスの腹腔マクロファージ又はヒトのモノサイトを *in vitro* でレンチナンとともに培養してもIL-1の産生増加が観察される。<sup>28)</sup> したがってレンチナンの生体内における第一段階の反応は間接的にT-リンパ球由来のCSFによるか、又はマクロファージに対する直接作用によるIL-1などの著しい増量にあるといえよう。ここにIL-1などマクロファージの産物は単にリンパ球を活性化させるだけでなく、先に述べたように種々の炎症に関与する細胞も活性化させるので、これらを総称してIL-1sといった方が適当であるかもしれない。

B. レンチナン作用機序におけるエフェクター細胞—このようにレンチナンはIL-1sの1つ、マクロファージ由来のリンパ球活性化因子(LAF)などの産生を著しく増加させる。LAFはよく知られているように、種々の未成熟免疫担当前駆Tリンパ球を成熟化せしめ、IL-2などのリンホカインを産生させたり、あるいはこれらの

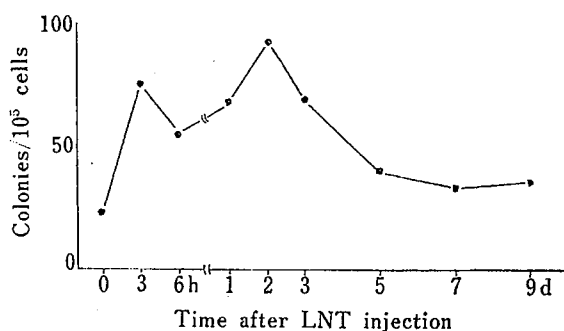


Fig. 7. Colony Stimulating Activity (CSA) in the Serum of Lentinan-Injected Mice<sup>27)</sup>

Mice, DBA/2: Serum, harvested on 0, 3, 6 h and 1, 2, 3, 5, and 7 d after an i.v. injection of 10 mg/kg of lentinan: CSA assay, soft-gel system, 10<sup>5</sup> of C57BL/6 bone marrow cells/dish, culture, 7 d. Serum CSA increases biphasically after lentinan injection.

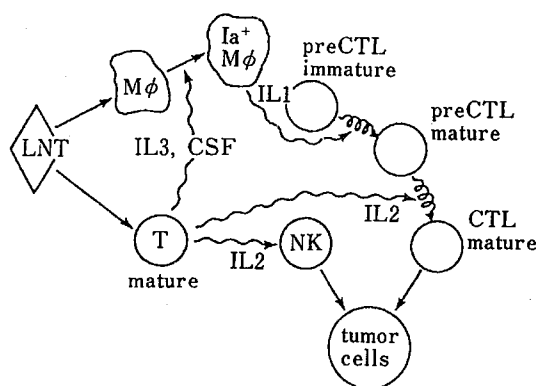


Fig. 8. Cytokine(s) Production and Induction of Effector Cells by Lentinan<sup>22)</sup>

→ direct action, ~~~ factor, ⇨ differentiation.

リンホカインに対する応答性を高めたりすることのできる成熟 T リンパ球に分化させる役割をもつ (Fig. 8). この解釈を実証するために幾つかの実験が行われた。

すなわち、ごく微量 (0.001 mg/kg) のレンチナンを投与されたマウスから集められた胸腺細胞は IL-2 の存在下でアロキラー細胞の誘導を著しく高める (Fig 9). これはレンチナンを与えられたマウスの胸腺細胞が IL-2 に対してより応答性を高めたことを意味する。羽室らはこの結果としてレンチナンが細胞障害性 T リンパ球 (CTL) の活性を *in vivo* 及び *in vitro* で著しく高めることを示した。<sup>29,30</sup> また同系の P-815 マストサイトーマを担癌した DBA/2 マウスにレンチナンを投与し、このマウスから得られた脾細胞も IL-2 の存在下で同系の P-815 腫瘍細胞に対するキラー T 細胞を強く活性化させる。

レンチナンは同様にヘルパー T 細胞の優れた活性

化剤であると共に担癌状態で低下したこの細胞の活性を正常状態にまでもどし、液性免疫応答を完全に回復させることができる。同様な結果は遅延型過敏 (DTH) 反応についてもいえる。SWM/Ms マウスに sarcoma 180 を接種して低下した DTH 反応はレンチナンによって完全に回復する。先に述べた A/J. MC. S1 の繊維肉腫のレンチナンによる完全治癒にはこの DTH 反応が重要な役割を演じていると考えられる。<sup>31)</sup>

もう一つの重要なエフェクター細胞であるナチュラルキラー細胞 (NK 細胞) についていえばレンチナンは poly I:C などのように *in vitro* でこれらの細胞の活性を高める能力はない。しかしレンチナンを投与されたマウスの脾細胞を用いて poly I:C による *in vitro* の NK 活性化の実験を行うと NK 活性化はさらに高められる (Fig. 10). あくまで宿主仲介性なのである。これはレンチナンが NK 細胞のリンホカインに対する応答性を著しく高めたものと考えられる。<sup>22)</sup>

以上のようにレンチナンによる IL-1 の増強効果は結果的に細胞障害性 T リンパ球を増加させ、癌細胞の特異的認識により活性化されたヘルパー T 細胞から産生される IL-2 に対するエフェクター細胞の応答性を増強す

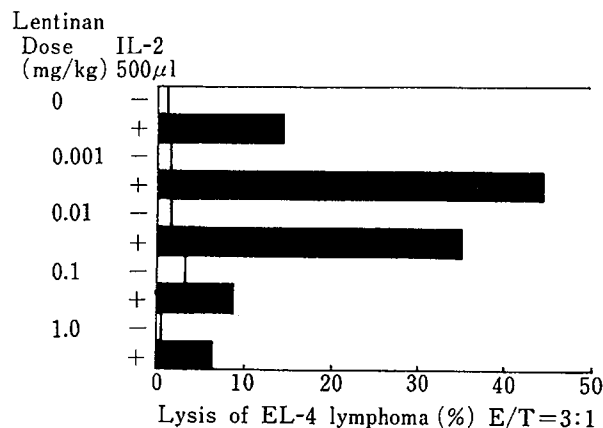


Fig. 9. Lentinan Augments Sensitivity of Thymocytes to IL-2

Augmented allokiller T-cell induction by minute amount of lentinan from thymocytes in the presence of IL-2. Mixed lymphocyte culture: BALB/c C57BL/6, E/T=3:1.

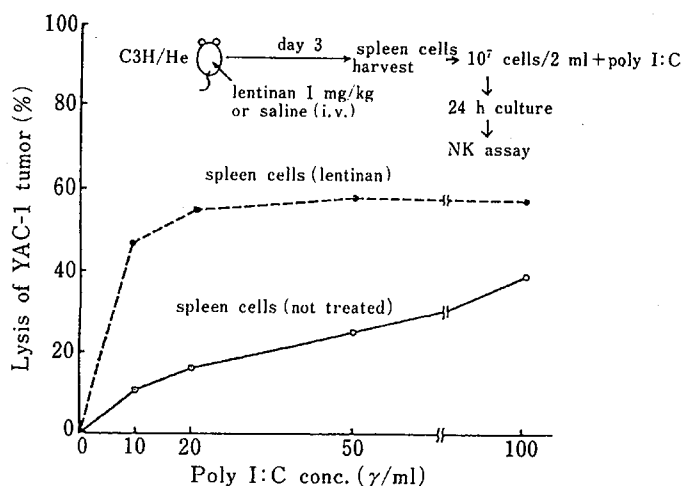


Fig. 10. Augmentation of *in Vitro* Natural Kill Cell Activation by Lentinan with Poly I:C Using the Spleen Cells Obtained from Lentinan-Treated C3H/He Mice

Natural killer activity was assayed using <sup>51</sup>Cr-labelled YAC cells as a target cells in 4 h <sup>51</sup>Cr-release assay at a ratio of Effector/Target=200:1.

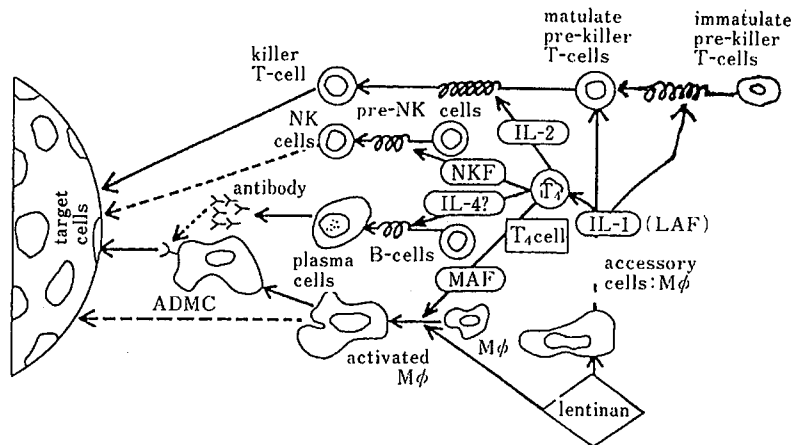


Fig. 11. Possible Mode of Action of Lentinan

← specific, ←--- non-specific, ←wavy differentiation, proliferation.

る。細胞障害性 T リンパ球の活性化には IL-1 と IL-2 とが2つのシグナルとして作用し、活性化されたエフェクター T リンパ球が同系腫瘍を障害破壊するものと考えられる。同様な機作により T リンパ球だけでなく、NK 細胞やマクロファージの各種リンホカインに対する応答性を高め、これらを活性化して標的細胞を傷害破壊することもできる。レンチナンはこのように IL-2 などのリンホカインに対するエフェクター細胞の応答性を著しく高めるが、特にヘルパー T 細胞から IL-2 の産生を増強するわけではない。

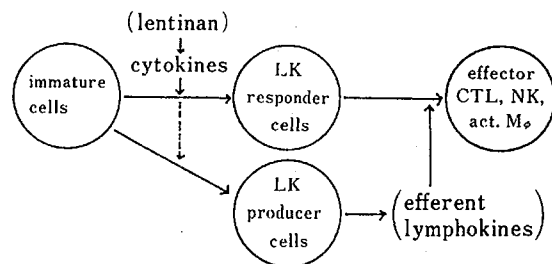


Fig. 12. Simplified Scheme for Immunotherapy

レンチナンはこのように特異的又は非特異的に細胞性及び体液性免疫応答を高めるが、マクロファージの貧食能を増強しない。したがってレンチナンはいわゆる細網内皮系 (RES) 刺激剤ということとはできない。以上述べてきたレンチナンの作用機作は Fig. 11 に示されている。

6) 癌に対する宿主抵抗増強物質における現代免疫学と東洋医学との接点 先に細胞毒制癌剤と宿主抵抗増強物質とを対比して論じたが、レンチナンの作用機作の研究から示唆されるように、宿主抵抗増強物質による免疫療法についても大きく2つに大別できる。すなわち、現代免疫学で解明されつつあり、遺伝子工学で大量生産が可能となった IL-2、腫瘍壊死因子 (TNF)、インターフェロンなどのリンホカイン、モノカインなどを直接患者に与えて治療しようというやり方と、レンチナンなどのように免疫担当細胞の分化、成熟を促進せしめ、これらに対する宿主の応答性を回復、促進しようとするやり方とである (Fig. 12)。

前者だけのやり方では困難が伴う。これらの作用点は腫瘍局所であり、特に選択性がなく、またこれらの生体内における寿命も極めて短いからである。寿命が短いのはこれが生体内に多量常在していればホメオスタシスに反し生体にとって有害なのだからであろう。それに多量の IL-2 を与えても生体側が応答しなければ意味がない。基本的には細胞毒制癌剤の投与と同じこととなってしまふ。したがって、IL-2 や TNF などによる免疫療法の可能性はレンチナンなどと併用して腫瘍局所に投与することに限られる。

一方、レンチナンなどの場合は、担癌状態や制癌剤投与によって低下した免疫機能を回復又は促進しようとする試みである。宿主抵抗性の回復という言葉で現代免疫学でいえば、種々の免疫担当細胞の分化増殖の促進ということになる。その結果種々の生体の応答性の回復ということになるが、これは単に免疫担当細胞に限られるわけではなく内分泌的ホメオスタシスの回復や老化の予防ということにもなるのである。神農本草経にいう上薬“無害であり命を養い以って天に应ず”というのはこのことである。

抗癌物質は上薬か中薬であることが望ましく下薬 (癌化学療法剤) の場合には時に用いてもよいが“久しく服す

べからず” というのが東洋医学での考え方であろう。

### レンチナンの臨床効果

以上述べてきた基礎的及び最近の臨床的研究によってレンチナンは癌の薬物療法として国際的に最も高く評価されるものの1つとなってきた。

レンチナンは胃癌、大腸癌、乳癌などの癌患者に対して優れた臨床効果を示す。阪大の田口とレンチナン臨床研究グループは進行再発胃癌、大腸癌における phase III study の、無作為化比較試験の4年間の追跡調査の結果を報告した。<sup>82)</sup> これによるとレンチナンは、テガフルと併用してテガフル単独よりも生存期間の著しい延長がみとめられた (Fig. 13)。進行再発胃癌の場合、1, 2, 3, 4年生存率はテガフル単独の場合、それぞれ3, 70%, 3, 70%, 0%, 0%であったのに対してレンチナン投与群 (1 mg/body 週2回又は2 mg/body 週1回) ではそれぞれ24, 32%, 12, 97%, 9, 51% 及び3, 81%であった。大腸癌の場合テガフル単独の場合50%生存率は94日であるがレンチナン併用群では200日まで延命した。同様な結果は乳癌,<sup>83)</sup> リンパ肉腫などについても得られている。副作用も一般の癌化学療法剤と異なりほとんどないといってもよい。レンチナンは今後の癌薬物療法に大きな希望をもたらすものである。

### 抗癌剤の将来

以上述べてきたようにレンチナンなどの宿主抵抗を増強する物質が癌患者の延命に役立つことはあきらからであるが、これからの抗癌剤研究で最も重要なことは一発で癌を治すような特効薬を見つけることではなく外科手術後の転移の再発防止である。Table Xは国立癌センター病院における肺癌外科手術の予後とリンパ節転移の広がりとの関係を示したものである。<sup>84)</sup> 肺癌の場合、肺内外にリンパ節転移の観察されない  $n_0(-)$  の症例においてすら、切除予後における5年生存率は51.1%に過ぎないのである。残りの48.9%もの多くの人々が5年以内に死んでしまうことは、目にみえない少数の癌細胞が身体のどこかに潜んでいるのであろう。これを再発させないようにできれば、やや手遅れとなった多くの癌患者が救われ、その数は年数十万人以上になるかもしれない。従来の術後化学療法では一般にさして効果がなく宿主に対する免疫抑制は転移形成を促進したりしてむしろ有害ですらある。このような場合には癌に対する生体固有の抵抗性の増強を試みるのが正攻法であろう。単に免疫だけにこだわらず、内分泌、神

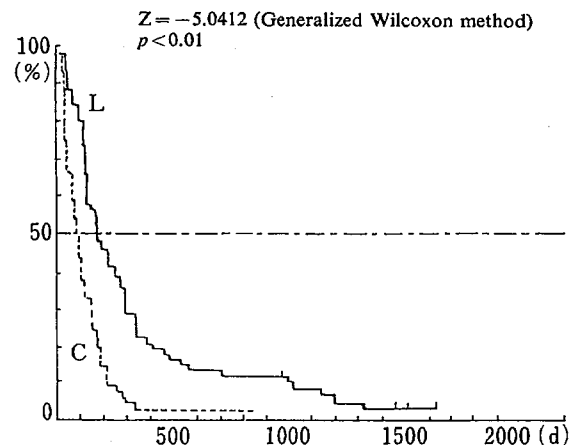


Fig. 13. Clinical Application of Lentinan of Survival Curve in Patients with Advanced and Recurrent Gastric Cancer. 4 Year's Follow-up Result of Randomized Control Study of Lentinan in Phase III<sup>82)</sup>

L, lentinan treated group, 2 mg/person/week of lentinan plus 400—1200 mg/person/d of Tegaful. C, control group, 400—1200 mg/kg of Tegaful alone. Drawn by Kaplan-Maier's method and examined by generalized Wilcoxon's test. Control group 68 cases, 50% survival 92 d. Lentinan group 77 cases, 50% survival 173 d.

TABLE X. Spread of Lymph Node Metastasis and Prognosis after Surgical Operation in Lung Cancer

Spread of lymph node metastasis	Over 5 year's survival cases/ Total operation cases	5 Year's survival ratio (%)
No metastasis in lung $n_0(-)$	88/172	51.1
Metastasis inner lung $n_0(+)$	8/15	53.3
Metastasis: Hilus L.N. $n_1$	32/95	33.7
Metastasis: Mediastinum $n_2$	14/154	9.0
Metastasis: Other place M1	0/33	0
Total	142/472	30.1

Cited from Watanabe and Suemasu of National Cancer Center Hospital, Tokyo.<sup>84)</sup>

経系や栄養などをふくめ全力をあげて宿主の癌に対する抵抗性を増強させてゆくことが最も重要であり、これは強力な抗癌免疫増強物質の最も良い標的となりえる。

レンチナンは臨床モデルとして MH-134 ヘパトーマの外科手術後の再発を完全に抑制する (Fig. 14) MH-134,  $10^6$  cell を同系 C3H/He マウス足蹠皮下に移植し、2 週後に脚部を切断する。無処置群では 70% のマウスが移植 8 週後までに転移再発して死亡するが、手術翌日より 2 週間 1 mg/kg のレンチナンを腹腔内に投与した群では全マウスが生存し続ける。<sup>35)</sup> 同様な結果は Madison 109 肺癌などについてもいえる。<sup>36)</sup> その他 DBA/2, MC, CS-T, 繊維肉腫などを用いた血行性転移の場合でも同様である。いずれも手術してとり残された癌細胞がレンチナンによる免疫増強によって再発が防止されたものと考えられる。先に述べたレンチナンの phase III の追跡調査の結果から、もしこれが肺癌の  $n_0(-)$  の術後再発症例などのような場合に適用された場合、現在よりはるかによい結果が得られることは疑いない。

一般に癌免疫療法剤は他の毒性制癌剤などと異なり癌-宿主相関において適切に用いられた場合にのみ有効なのである。術後転移再発の抑制はその最もよい標的であり今後更に作用機構の異なった多くの抗癌剤の開発が期待されよう。

本研究は筆者らの国立がんセンター研究所のグループ、前田幸子博士らの東京都臨床医学総合研究所のグループ、味の素中央研究所の羽室淳爾博士、椎尾 剛博士らのグループで得られた知見をまとめたものである。厚く感謝したい。

#### 引用文献

- 1) E. R. Unanue, B. Benacerraf, "Textbook of Immunology," 2nd ed., Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1984, p. 244.
- 2) T. C. Everson, H. H. Cole, "Spontaneous Regression of Cancer," W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1966.
- 3) E. J. Foley, *Cancer Res.*, **13**, 835 (1953).
- 4) T. Ikekawa, M. Nakanishi, N. Uehara, G. Chihara, F. Fukuoka, *Gann*, **59**, 155 (1968).
- 5) S. Shibata, Y. Nishikawa, F. M. Cheng, F. Fukuoka, M. Nakanishi, *Gann*, **59**, 159 (1968).
- 6) T. Ikekawa, N. Uehara, Y. Y. Maeda, M. Nakanishi, F. Fukuoka, *Cancer Res.*, **29**, 734 (1969).
- 7) G. Chihara, Y. Y. Maeda, J. Hamuro, T. Sasaki, F. Fukuoka, *Nature (London)*, **222**, 689 (1969).
- 8) G. Chihara, J. Hamuro, Y. Y. Maeda, Y. Arai, F. Fukuoka, *Cancer Res.*, **30**, 2776 (1970).
- 9) T. Sasaki, N. Takasuka, *Carbohydr. Res.*, **47**, 99 (1976).
- 10) T. L. Bluhm, A. Sarko, *Can. J. Chem.*, **55**, 29 (1977).
- 11) G. Chihara, J. Hamuro, Y. Y. Maeda, Y. Arai, F. Fukuoka, *Nature (London)*, **225**, 953 (1970).
- 12) J. Hamuro, Y. Y. Maeda, Y. Arai, F. Fukuoka, G. Chihara, *Chem.-Biol. Interact.*, **3**, 69 (1971).
- 13) J. Zákány, G. Chihara, J. Facht, *Int. J. Cancer*, **25**, 371 (1980).
- 14) T. Suga, T. Shiio, Y. Y. Maeda, G. Chihara, *Cancer Res.*, **44**, 5132 (1984).
- 15) C. Hamada, "Manipulation of Host Defence Mechanisms," eds. T. Aoki, I. Urushizaki, E. Tsubura, Excerpta Medica, Amsterdam, 1981, pp. 76-87.
- 16) J. E. Byrum, A. Sher, J. DiPietro, F. von Lichtenberg, *Am. J. Pathol.*, **94**, 201 (1978).
- 17) K. Kanai, E. Kondo, P. J. Jacques, G. Chihara, *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, **33**, 283 (1980).

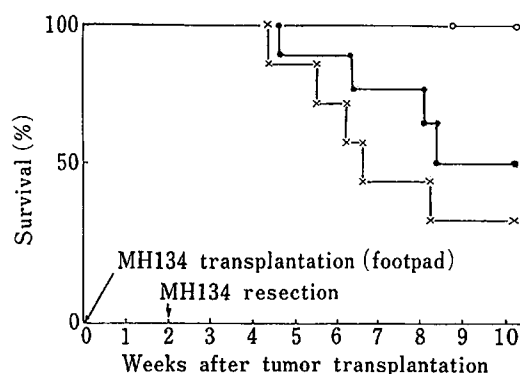


Fig. 14. Inhibition of Post-Operative MH-134 Hepatoma Metastasis by Lentinan Administration

Control (surgery only) (—x—x—x—), Surgery plus lentinan 1 mg/kg/d i.p.  $\times 10$  from 1 to 14 d after tumor transplantation (—●—●—●—). Surgery plus lentinan 1 mg/kg/d i.p.  $\times 10$  from 15 to 28 d after tumor transplantation (—○—○—○—). MH-134 transplantation: food-pad s.c. MH-134 resection: 2 weeks after tumor transplantation.

- 18) K. S. S. Chang, "Manipulation of Host Defence Mechanisms," eds. by T. Aoki, I. Urushizaki, E. Tsubura, Excerpta Medica, Amsterdam, 1981, pp. 88—103.
- 19) Y. Y. Maeda, G. Chihara, *Nature* (London), **229**, 634 (1971).
- 20) Y. Y. Maeda, J. Hamuro, G. Chihara, *Int. J. Cancer*, **8**, 41 (1971).
- 21) Y. Y. Maeda, G. Chihara, *Int. J. Cancer*, **11**, 153 (1973).
- 22) J. Hamuro, G. Chihara, "Immune Modulation Agents and Their Mechanisms," eds. R. L. Fenichel, M. A. Chirigos, Marcel Dekker, New York, 1984, pp. 409—436.
- 23) Y. Y. Maeda, G. Chihara, K. Ishimura, *Nature* (London), **252**, 250 (1974).
- 24) T. Manabe, Y. Takahashi, T. Okuyama, Y. Y. Maeda, G. Chihara, *Electrophoresis*, **4**, 242 (1983).
- 25) T. Suga, Y. Y. Maeda, H. Uchida, M. Rokutanda, G. Chihara, *Int. J. Immunopharmacol.*, **8**, 691 (1986).
- 26) Y. Y. Maeda, S. T. Watanabe, G. Chihara, M. Rokutanda, *Int. J. Immunopharmacol.*, **5**, 493 (1984).
- 27) M. Izawa, K. Ohno, K. Amikura, J. Hamuro, "Manipulation of Host Defence Mechanisms," eds. by T. Aoki, I. Urushizaki, E. Tsubura, Excerpta Medica, Amsterdam, 1984, pp. 59—69.
- 28) J. P. Fruehauf, G. D. Bonnard, R. B. Herberman, *Immunopharmacology*, **5**, 65 (1983).
- 29) J. Hamuro, H. Wagner, M. Rölinghoff, *Cell. Immunol.*, **38**, 328 (1978).
- 30) J. Hamuro, M. Rölinghoff, H. Wagner, *Cancer Res.*, **38**, 3080 (1978).
- 31) J. Zákány, T. Jánossy, P. Nemeth, G. Chihara, J. Fachel, G. Petri, *Gann*, **74**, 711 (1983).
- 32) T. Taguchi, H. Furue, T. Kimura, T. Kondo, T. Hattori, I. Ito, N. Ogawa, *Gan to Kagakuryoho (Jpn. J. Cancer Chemotr.)*, **12**, 366 (1985).
- 33) A. Kosaka, Y. Hattori, A. Imaizumi, A. Yamashita, "Rational of Biological Response Modifiers in Cancer Treatment," eds. E. Tsubura, T. Aoki, I. Urushizaki, Excerpta Medica, Amsterdam 1985, pp. 183—150.
- 34) H. Watanabe, K. Suemasu, *Oncologia*, **1**, 83 (1982).
- 35) G. Chihara, J. Hamuro, Y. Y. Maeda, T. Shiio, T. Suga, N. Takasuka, T. Sasaki, *Cancer Detection and Prevention* Supplement 1, "Immunobiology of Cancer and AIDS, eds. H. E. Nieburgs, J. George Bekesi," Alan R. Liss, Inc. New York, 1987, pp. 423—443.
- 36) W. C. Rose, F. C. Reed III, P. Siminoff, W. T. Bradner, *Cancer Res.*, **44**, 1368 (1984).