

腎被膜下移植法による制癌剤感受性試験に関する研究

久留米大学医学部産婦人科教室 (主任: 薬師寺道明教授)

牛 嶋 公 生

Fundamental Studies of Subrenal Capsule Assay

Kimio USHIJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine, Kurume

概要 腎被膜下移植法 (SRCA) の原法における問題点を解決するため、動物実験腫瘍を用いて基礎的検討を行った。

DMBA 誘発ラット卵巣癌を材料に Bogden の方法に準じ immunocompetent な BDF1 マウス腎被膜下に移植、経口的に開腹、腫瘍径計測および組織学的検討を行った。宿主反応を抑制する目的で cyclosporin A (CsA), cyclophosphamide (CPA) を用い、免疫抑制法を検討した。さらに、担癌ラットを用い、材料採取から assay による薬剤選択および治療までの臨床モデルにおける治療効果との相関を検討した。

- 1) 免疫抑制を行わない場合、移植腫瘍は7日目には宿主反応に置換され、9日目には退縮した。
- 2) CsA 80mg/kg 連日投与9日目に腫瘍は最も良好な発育を示し、組織学的検討を含めたスコアリングによる判定で CsA 処置下9日目判定法が望ましいと思われた。
- 3) CsA 処置下での制癌剤投与実験では、腫瘍は CDDP, MTX に sensitive, MMC に resistant と判定されたが、スコアリングを用いての検討では、MTX に最も高い感受性を示した。
- 4) 担癌ラットに対する治療実験では、MTX には治療効果が認められたが、MMC では無効となり SRCA の結果が臨床効果に反映された。
- 5) CsA 処置下では、制癌剤の毒性が増強し 5-Fu 投与マウスは判定不能となつたため、投与量、投与方法の検討が必要と思われた。

Synopsis Cancer chemosensitivity test by Bogden's SRCA (subrenal capsule assay) method was experimentally evaluated using DMBA induced rat ovarian cancer. Cancer tissues were implanted beneath the renal capsule of BDF1 mice, and factors affecting development of the xenografts were examined. To observe the effect of the host-mediated immunologic reaction, the mice were put into immunosuppressive situations by applicatcy cyclophosphamide (CPA) or cyclosporin A (CsA), and the growth of the tumor in each condition received macroscopic and histological evaluation. Under the most favorable conditions, drug sensitivity tests were performed. The results obtained were as follows: 1) In non-treated mice, the cancer cells of the grafted tumor were rejected, until the 7th day following the implantation, by host reaction. 2) In a CPA-induced immunosuppressive condition, the tumor tissue was damaged by the cytotoxic effect, although the size of the tumor was on the increase until the 9th day. 3) CsA brought about a favorable condition for tumor development, showing a linear growth curve from the 3rd to the 9th day with viable cancer cells. 4) Chemosensitivity tests indicated that methotrexate and CDDP were effective, while mitomycin was not effective in treating the implanted tumors. 5) The results obtained with SRCA were much the same in experimental therapeutic trials using rats with primary ovarian cancer induced by DMBA application.

Key words: Chemosensitivity test • Subrenal capsule assay • Cyclosporin A

緒 言

婦人科領域悪性腫瘍、とくに卵巣癌の治療において化学療法 of 占める役割は大きく、Cis-Platinum を初めとする新薬の登場により、その治療成績は向上しつつある。しかし、依然として初

回治療抵抗例、再発例に対しては薬剤選択に苦慮するケースが多い。そこで症例別に無効な薬剤を除き有効な薬剤を選択しようとする種々の制癌剤感受性試験が開発された。代表的なものとして in vitro method である SDI 法¹⁶⁾や human tumor

clonogenic assay (HTCA)¹⁴⁾, in vivo method としてヌードマウス皮下移植法¹⁹⁾などが挙げられるが、それぞれ一長一短があり汎用されるに至っていない。A. Bogden により開発された腎被膜下移植法 (Subrenal Capsule Assay: SRCA) は、簡便性と高い臨床相関が報告され^{7)~9)13)21)}注目されている制癌剤感受性試験であるが、免疫能を有する通常マウスを用いるために移植後の宿主反応が起こる点や、評価方法に組織学的検索が含まれていない点など Bogden の原法には種々の問題が指摘されている⁴⁾⁵⁾¹⁰⁾。本研究ではこれらの問題点を解決することを目的として動物実験腫瘍を用い SRCA の基礎的検討を行った。

材料および実験手技

1. 移植腫瘍

当科にて誘発、継代している DMBA 誘発ラット卵巢原発腫瘍³⁾および皮下継代腫瘍²²⁾を材料に用いた。腫瘍はラットより摘出後直ちに抗生剤を混注した培養液 (DM 170) 中で trimming し壊死部分を取り除いた後1mm 幅に接着した二枚刃のナイフでスライスし、さらに細切して約1mm 角の移植片を作成した。

2. マウスおよび移植法

Bogden et al.の方法⁷⁾⁸⁾に準じ BDF1雌マウス (8週齢以上) を nenbutal (75mg/kg s.c.) にて麻酔し、左側腹部を横切開、開腹後左腎臓を腹壁外へ出し腎背部方向より被膜に薄い切開を入れた。小切子にて被膜を剝離後、先端を鈍に加工した15G eluster 針を用い培養液と共に吸引した腫瘍片を被膜下に挿入した。

3. 腫瘍サイズの計測

移植した腫瘍のサイズを実体顕微鏡下で oculo micrometer (LASICO 社) を用いて測定 (縦横 2 方向1~0.1dmm 単位まで計測) した。計測後は絹糸にて閉腹、皮膚は clip にて閉鎖した。

4. 組織学的検討

屠殺時に再びサイズを測定した後、腎臓を摘出し、Bouin 液にて固定後、hematoxylin eosin 染色、HOPA 染色を施して光顕で観察した。

検討内容および方法

1. 移植腫瘍の増殖態度、組織学的変化

DMBA 誘発ラット卵巢癌皮下継代腫瘍をマウス腎被膜下に移植し、経日的に屠殺、腫瘍径の計測および組織学的検索を行った。

2. 免疫抑制法の検討、至適 assay 期間および判定方法の設定

移植後の宿主反応を抑制する目的で免疫抑制剤として cyclophosphamide (CPA) 200mg/kg (塩野義製薬) 移植前48時間 1 回投与、移植前72時間 1 回投与、または cyclosporin A (CsA) 80mg/kg 移植当日より連日投与 (いずれも皮下投与) を用い移植後 3 日目、6 日目、9 日目、12 日目にマウスを屠殺し、腫瘍径を計測および組織所見を検索した。さらに腫瘍サイズと組織所見を考慮したスコアリングを用いて生着態度を比較検討した。スコアリングは表 1 のように腫瘍サイズの増大度、移植片中の腫瘍組織の占める割合、強拡大視野中の mitosis 数、癌胞巣形成の程度、炎症細胞浸潤の程度の 5 項目につき -1 から 2 までのポイントを与えその合計点を算出した。

3. 制癌剤投与実験および担癌ラットを用いた SRCA モデルでの検討

DMBA 誘発ラット卵巢癌原発担癌ラットをエーテル麻酔下に開腹、腫瘍の一部をくさび状に切除し遺残腫瘍部に止血縫合を施した後一旦閉腹、採取した腫瘍をマウスに移植し SRCA を行つた。マウスは 1 薬剤につき 5 匹とし、各制癌剤は Bogden et al.の設定した量¹³⁾に従い CDDP 2.0 mg/kg (日本化薬)、MMC 0.7mg/kg、5-FU 50 mg/kg (協和発酵)、MTX 4.0mg/kg をいずれも移植後 1 日目より 8 日目まで連日皮下投与した。実験期間中にマウスの体重減少が移植時の 20% 以内に留まるものを評価可能とした。感受性の判定には、表 2 のように開腹時までの腫瘍サイズの縮

表 1 腫瘍生着度判定スコアリング

SCORE	-1	0	1	2
tumor size (T dmm)	<0	≤5	≤10	10<
C/T ratio (%)		≤30	≤60	60<
核分裂像		0~1/F	2~5F	6~/F
癌胞巣形成		-	+	++
炎症細胞浸潤		++	+	-

$$C/T \text{ ratio} = (\text{cancer area} / \text{tumor area}) \times 100(\%)$$

表2 薬剤感受性判定スコアリング

SCORE	0	1	2	3
tumor size (T dmm)	≥ 0	≥ -5	≥ -10	$-10 >$
C/T ratio (%)	$60 <$	≤ 60	≤ 30	
核分裂像	6~ /F	2~5 /F	0~1 /F	
癌胞巣形成	++	+	-	

$$C/T \text{ ratio} = (\text{cancer area} / \text{tumor area}) \times 100(\%)$$

小度, 移植片中の腫瘍組織の占める割合, 強拡大視野中の mitosis 数, 癌胞巣破壊の程度につきそれぞれ 0 から 3 までのポイントを与えたスコアリングを用い, その合計点の高いほど感受性ありと判定した. さらに assay 結果により有効あるいは無効と判定された制癌剤を同一担癌ラットに投与し臨床効果と比較した.

結 果

1. 移植腫瘍の増殖態度, 組織学的変化

移植後 3, 5, 7, 9 日目移植腫瘍径の変化を図 1 に示した. 腫瘍は 7 日目まで増大傾向を示し, 9 日目には退縮したが, 計測値は 7 日目でも移植時より $2.27 \pm 2.07 \text{ dmm}$ 増大したに過ぎなかった. さらに組織学的には, 移植片内の腫瘍細胞は 3 日目より宿主反応と思われる炎症細胞浸潤の影響を受け(写真 1) 7 日目以降の組織にはほとんど腫瘍細胞を認めなかった. この結果は同種のラット腎被膜下に移植を行った場合もほぼ同様であった.

2. 免疫抑制法の検討, 至適 assay 期間および判定方法の設定

A) cyclosporin A (CsA) 80mg/kg 移植当日より連日皮下投与, B) cyclophosphamide (CPA) 200mg/kg 移植前 48 時間 1 回皮下投与, C) cyclophosphamide (CPA) 200mg/kg 移植前 72 時間 1 回皮下投与の 3 群における腫瘍径の変化を図 2 に示した. A 群, B 群は 3 日目以降 9 日目までは平均 13dmm 以上の linear な増大を示したが 12 日目にはやや退縮した. C 群は他群より早く 9 日目には退縮した. 一方, 組織学的検討においては, 6 日目までは A, B 両群間に差を認めなかったが, A 群では 9 日目でも宿主反応はよく抑制されており, 充実性増殖を示す腫瘍細胞が癌胞巣を形成

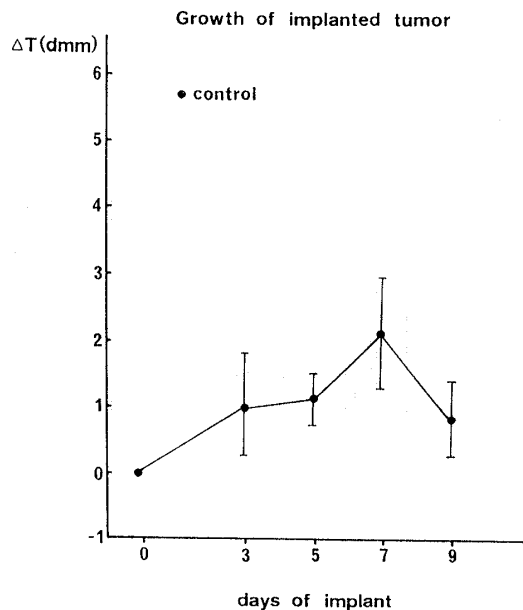


図1 移植腫瘍径(無処置群)の経日的変化

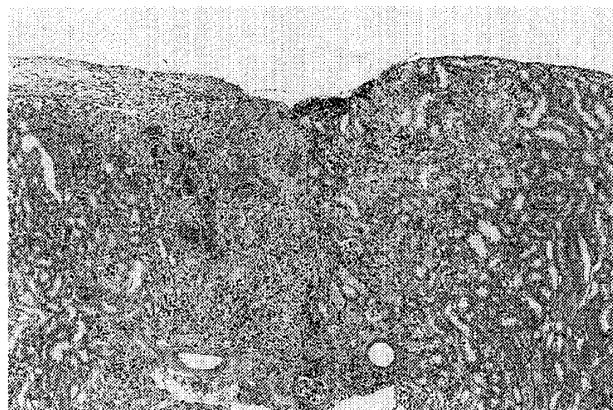


写真1 DMBA ラット卵巢癌皮下継代腫瘍. 移植後 7 日目の組織像(無処置群)(H.E. $\times 100$). 腎実質への炎症細胞の浸潤を認めるが, 腫瘍細胞はほとんど存在しない.

し mitosis も多く見られたのに比較し, B 群では炎症細胞浸潤は著明ではないが, viable な腫瘍細胞はほとんど認めず壊死組織が大部分となった. C 群は免疫抑制効果が不十分で 3 日目に炎症細胞浸潤を認め, 6 日目には腫瘍全体が壊死組織におきかわつていた(写真 2a, b, c). さらに CPA を移植当日, あるいは 24 時間前に投与すると, 早期(3 日目)に変性した腫瘍細胞が観察され, CPA 自体の抗腫瘍効果が疑われた. マウスの体重減少は実験期間中 10% 内外に留まり, 死亡したマウスはなかった. 腫瘍生着度判定スコアリングを算出す

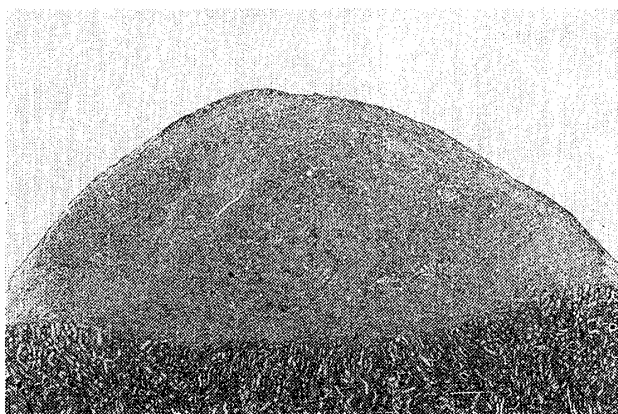


写真2a CsA処置群9日目(H.E. ×40). 移植片のほぼ全体を占める腫瘍の増殖が見られる。

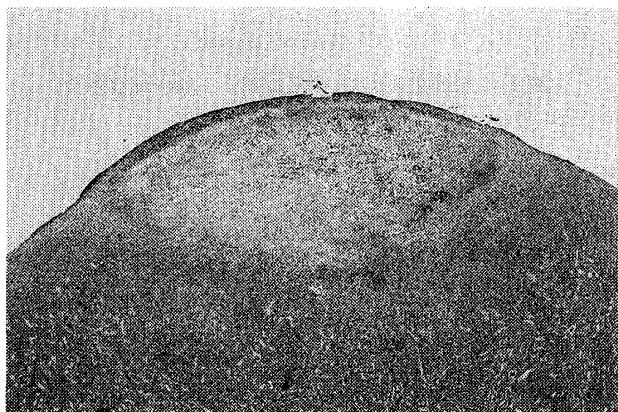


写真2b CPM 200mg/kg 48時間前投与群9日目(H.E. ×40). 腫瘍細胞は見られず、移植片全体に変性壊死像が著明となっている。

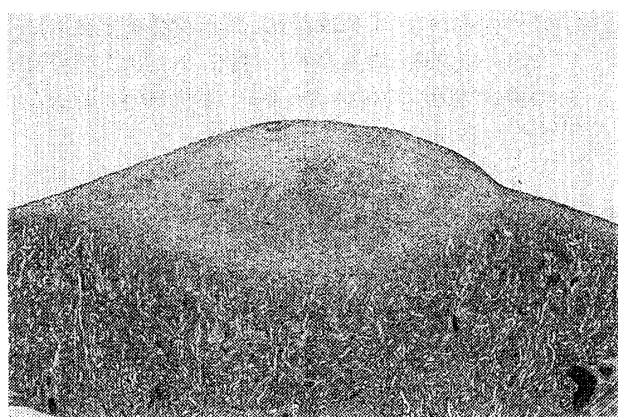


写真2c CPM 200mg/kg 72時間前投与群6日目(H.E. ×40). すでに6日目に2bとほぼ同様の所見が見られる。

ると6日目では、A、B両群ともほぼ同等であつたが、9日目にA群は最も高い点となつたのに比較

CsAおよびCPM前投与による腫瘍径の変化

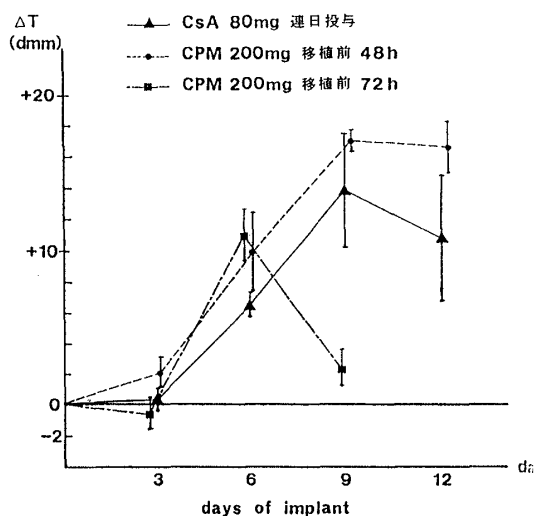


図2 免疫抑制処置群の腫瘍径の変化

表3 スコアリングによる腫瘍生着度の比較 (mean)

移植後の日数	3	6	9
A) CsA 80 mg/kg daily	3.67	6.75	7.50
B) CPA 200 mg/kg 48時間前	5.25	5.67	3.75
C) CAP 200 mg/kg 72時間前	5.25	4.0	1.50

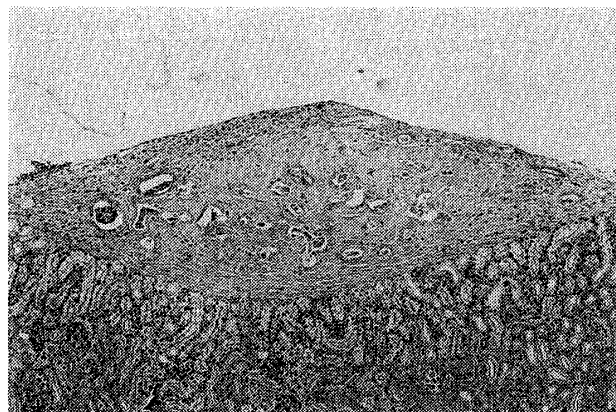
し、B群でむしろ低い点となつた(表3)。したがって以降の実験は最も良好な腫瘍生着をもたらすと考えられたCsA 80mg/kg連日投与9日目判定法を用いて行つた。

3. 制癌剤投与実験および担癌ラットを用いたSRCAモデルでの検討

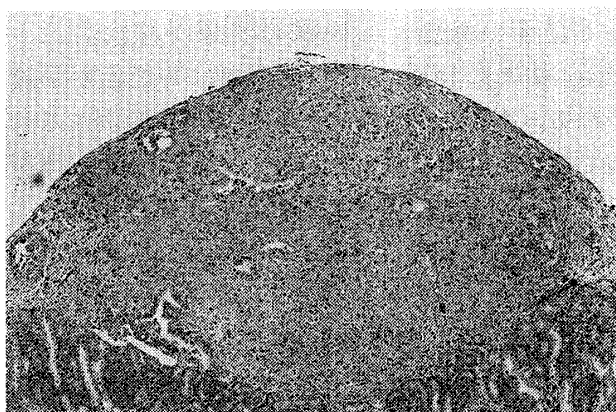
SRCAの結果と臨床効果を比較するため、DMBA誘発卵巣癌原発担癌ラットの腫瘍を用いて制癌剤投与実験を行つた。9日目の判定時図3のように腫瘍サイズにおいてCDDP群、MTX群は平均約2dmmの縮小を見たが、MMC群は移植時より増大していた。組織所見では、MMC群はcontrol群と同様に腫瘍細胞が大小不規則な腺管を形成しており、一部は充実性に増殖しmitosisも豊富に観察された。CDDP群、MTX群はいずれも腫瘍細胞の変性が見られ抗腫瘍効果が窺われたが、一部にviable cellの存在する前者に比較し、後者は移植片全体が結合織に置換されていた。5-Fu群は実験期間中に2/3のマウスが死亡し判定不能とした(写真3a, b, c, d)。感受性判定にも



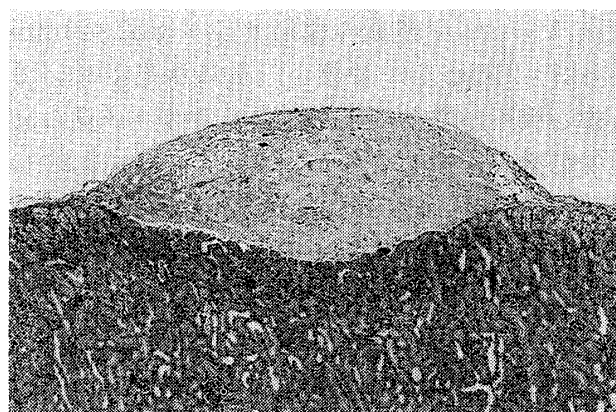
3a コントロール群(H.E. ×100). 移植腫瘍は著しく増大し, 豊富な mitosis を有する腫瘍細胞が不規則な腺管を形成し, 一部は充実性に増殖している。



3c CDDP 投与群(H.E. ×100). 腫瘍細胞の変性が見られるが, 一部に viable cell が存在する。



3b MMC 投与群(H.E. ×100). 3a と同様の著しい腫瘍の増殖が見られ, 抗腫瘍効果は, まったく観察されない。



3d MTX 投与群(H.E. ×100). 全体が結合織に置換され viable cell は見られない。

写真3 DMBA ラット卵巢原発腫瘍移植後9日目

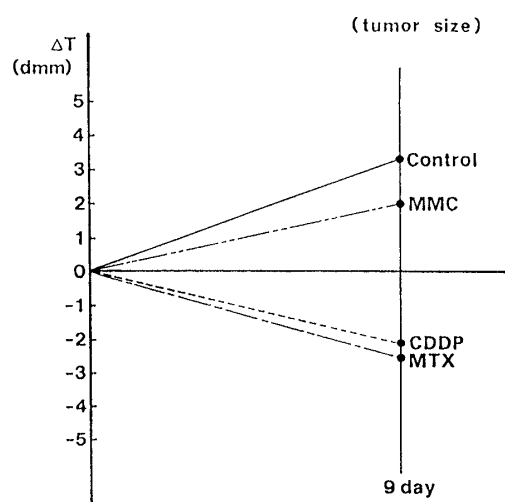


図3 DMBA ラット卵巢癌のSRC Assay 結果

表4 DMBA ラット卵巢癌に対するSRCA 結果

	size	C/T ratio	mitosis	癌胞巣	total
MTX	1.0	2.0	2.0	1.75	6.75
CDDP	0.75	1.25	1.25	1.0	4.25
MMC	0.2	0.6	0.4	0.2	1.4

数字は各スコアの平均点を示す

腫瘍生着度と同様にスコアリングを用いると MTX が最も高値を示し, ついで CDDP の順となり, MMC は最も低いスコアとなつた (表4)。

腫瘍採取に用いた3匹の担癌ラットのうち生存した2匹に対する治療実験は最も sensitive と判定された MTX と最も resistant と判定された MMC を用い, マウスと同量(総量1回皮下投与)

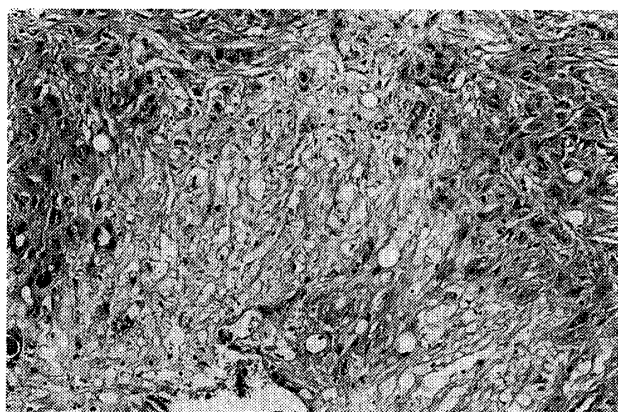


写真4 DMBA 卵巣癌担癌ラット MTX 投与2週後の組織像(H.E. $\times 200$)。腺癌細胞の扁平化、核の濃縮を伴う変性像が観察される。

の薬剤で行われたが、2週間後の再開腹時、MTX 投与ラットは左卵巣の腫瘍サイズが $32 \times 21\text{mm}$ から $27 \times 21\text{mm}$ とやや縮小し組織所見においても中心壊死の増大や腫瘍細胞の変性¹²⁾が見られ抗腫瘍効果が観察された(写真4)のに比較しMMC 投与ラットでは $12 \times 18\text{mm}$ から $26 \times 35\text{mm}$ と腫瘍サイズは200%以上増大し組織上でも明らかな抗腫瘍効果は観察されなかつた。

考 察

1. 免疫抑制処置の必要性について

1969年 Rygaard et al.¹⁹⁾により行われたヒト腫瘍のヌードマウスへの移植は、臨床材料への直接の実験的治療を可能とし現在も多く薬剤スクリーニングに用いられている。しかしヌードマウス法は腫瘍生着率が低く、判定に数週間を要し、経済面からも感受性試験として現実的とはいえない。1978年 Bogden et al.⁷⁾は血流が豊富で直視下での観察が可能な腎被膜下を腫瘍生着の場として選び、ヌードマウス腎被膜下移植法を行い、高い腫瘍生着率と11日間という短期間での判定を可能とした。さらに、1979年に通常マウスにこれを応用した consumable な assay を開発し臨床応用への道をひらいた⁸⁾。しかし、Bogden の原法に対してその後の追試者から種々の問題点が指摘されている。Edelstein et al.¹¹⁾や Bennett et al.⁵⁾は、移植後3日目より炎症細胞浸潤が始まり、5、6日目には移植片はほとんどが炎症細胞浸潤に置換されていたと報告しているが、われわれの検討でも

同様な結果であり、免疫学的関与の少ないと想像される同種のラットに移植しても6日目に腫瘍の残存していた例はごく僅かであった。Levi et al.¹⁷⁾は6日目での宿主反応を回避するために4day assay を主張しているが、slow growing な tumor では腫瘍増殖期間が不足であるのに加え、薬剤投与後僅か3日では制癌剤の効果が十分に発現し得ない可能性があり、やはり何らかの免疫抑制処置は必要であろう。

免疫抑制処置の具体的な方法について Edelstein et al.¹⁰⁾、Aamdal et al.⁴⁾は、CPA 前投与の有用性を指摘している。ところが、今回われわれの用いた腫瘍は、CPA に感受性を有し、他の制癌剤を投与せずとも腫瘍細胞の変性が見られた。ヒト腫瘍の場合にも同様の現象が懸念され、assay 結果に false positive が増す可能性が示唆される。さらに、CPA の抗腫瘍効果を減弱する目的で投与時期を移植前72時間、48時間として検討したが、前者では免疫抑制効果が不十分であり、後者においても6日目までしか良好な腫瘍増殖は望めなかつた。

一方CsA の作用は helper T-cell の選択的抑制といわれており、CsA 単独での抗腫瘍効果についての明確な報告はない。Bennett et al.⁶⁾はCsA 60 mg/kg でヌードマウスと同様の腫瘍の維持が可能であるとしており、Fingert et al.¹²⁾も80mg/kg 連日投与を免疫抑制に用いている。われわれの検討では、80mg/kg 連日投与にて9日目に最も良好な腫瘍の生着が認められ、6日目より薬剤感受性を顕著に表現し得る9日目判定法が望ましいと思われた。

2. 組織学的評価の必要性

原法においては薬剤に対する感受性判定を腫瘍サイズの変化のみで行っているが、免疫抑制処置を行わない場合には効果判定を見誤る可能性が充分にある。すでに述べたごとく無処置群の移植片は早期に結合組織や炎症細胞浸潤に置換されており移植片サイズの大小は腫瘍組織自体の大きさを反映していない。また、CsA による免疫抑制処置を施した場合でもわれわれの検討のごとくサイズでは同等と思われた CDDP, MTX 間に組織学的に

は優劣が認められており、サイズと組織学的検索の両者を含めた判定がより正確と考えられる。原法の6日間判定に比べ組織学的評価を含めたわれわれの方法は判定に11, 12日間を要すが、判定結果をより正確に導くための5日間の遅延は臨床的には問題とならないと考える。

3. CsA 処置の問題点

今回、各制癌剤の投与量はBogden et al. の設定した量⁹⁾¹³⁾に従ったが、薬剤によつては実験期間中にかなりのマウスが死亡あるいは20%以上の体重減少を来した。これは8日間連日投与したため総投与量が原法の約1.5倍となつたことにもよるが、より大きな原因はCsAにより制癌剤の副作用が増強したためと考えられる。Bennett et al.⁶⁾はCsA投与によりマウスの胸腺、肝、腎の重量減少が見られ、とくに肝、腎の機能低下が制癌剤の解毒作用を障害すると述べている。したがって、CsA処置が腫瘍生着の条件と考えられる以上、今後、より毒性の少ない薬剤投与量あるいは新たな投与方法の検討が望まれる。また一部の薬剤については、CsAが抗腫瘍効果に修飾を与えるという報告¹⁵⁾¹⁸⁾があり、腎被膜下という環境においても問題となりうるかなお検討が必要である。

本稿を終えるにあたり御校閲、御指導を賜りました恩師加藤 俊久留米大学名誉教授、薬師寺道明教授ならびに西田 敬、綱脇 現講師に深謝致します。また、実験における実験卵巣班の諸兄、石井美奈子嬢の献身的な協力に御礼を申し上げます。

本稿の要旨は第46回日本癌学会（東京）にて発表した。なお、本研究の一部は昭和63年度文部省科研費(63771290)によつた。

文 献

1. 西田 敬：ラット卵巣癌を用いた癌化学療法の評価。癌の臨床, 30: 1186, 1984.
2. 杉山 徹, 西田 敬, 小田高明, 片瀧秀樹, 嘉村憲純, 荒木照宣, 薬師寺道明, 加藤 俊：ラットDMBA誘発卵巣癌に対する実験的化学療法。日癌治誌, 20: 1271, 1985.
3. 綱脇 現：実験的卵巣腫瘍に関する研究。医学研究, 47: 138, 1977.
4. Aamdal, S., Fodstad, O. and Pihl, A.: Human tumors xenografts transplanted under the renal capsule of conventional mice. Growth rates and host immune response. Int. J. Cancer,

34: 725, 1984.

5. Bennett, J.A., Pilon, V.A. and MacDowell, R. T.: Evaluation of growth and histology of human tumor xenografts implanted under the renal capsule of immunocompetent and immunodeficient mice. Cancer Research, 45: 4963, 1985.
6. Bennett, J.A., Pilon, V.A., Briggs, D.R. and Mckeneally, M.F.: Evaluation of cyclosporin-treated mice as hosts for growing and testing the chemosensitivity of first-transplanted-generation human tumor xenografts implanted under the kidney capsule. J.N.C.L., 75: 925, 1985.
7. Bogden, A.E., Kelton, D.E., Cobb, W.R. and Esber, H.J.: A rapid screening method for testing chemotherapeutic agents against human tumor xenografts. Proc. Symp. on the Use of Atymic (Nude) Mice in Cancer Research, 231. 1978.
8. Bogden, A.E., Haskell, P.M., Lepage, D.J., Kelton, D.E., Cobb, W.R. and Esber, H.J.: Growth of human tumor xenografts implanted under the renal capsule of normal immunocompetent mice. Expl. Cell Biol., 47: 281, 1979.
9. Bogden, A.E., Cobb, W.R., Lepage, D.J., Haskell, P.M., Gulkin, T.A., Ward, A., Kelton, D. E. and Esber, H.J.: Chemotherapy responsiveness of human tumors as first transplant generation xenograft on the normal mouse. Cancer, 48: 10, 1981.
10. Edelstein, M.B., Fiebig, M.H., Smink, T., VanPutten, L.M. and Schuchhard, C.: Comparison between macroscopic and microscopic evaluation of tumor responsiveness using the subrenal capsule assay. Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 19: 995, 1983.
11. Edelstein, M.B., Smink, T., Riter, D. and VanPutten, L.M.: Tumor dependent growing kinetics of human tumor xenografts using the subrenal capsule assay. Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 19: 995, 1983.
12. Fingert, H.J., Treiman, A. and Pardee, A.B.: Transplantation of human or rodent tumors into cyclosporine-treated mice: A feasible model for studies of tumor biology and chemotherapy. Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A., 81: 7927, 1984.
13. Griffin, T.W., Bogden, A.E., Reich, S.D., Antonelli, D., Hunter, R.E., Ward, A., Yu, D. T., Greene, H.L. and Costanza, M.E.: Initial

- clinical trials of the subrenal capsule assay as a predictor of tumor response to chemotherapy. *Cancer*, 52 : 2185, 1985.
14. *Humburger, A.W. and Salmon, S.E.* : Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science*, 197 : 461, 1977.
 15. *Kloke, O. and Osieka, O.* : Interaction of cyclosporin A with antineoplastic agents. *Klin Wochenscher*, 63 : 1081, 1985.
 16. *Kondo, T., Imamura, T. and Ichihashi, H.* : In vitro test for sensitivity of tumor to carcinostatic agents. *Gann*, 57 : 113, 1966.
 17. *Levi, F.A., Blun, J.P., Lemaigre, G., Bovrut, C., Reinberg, A. and Mathe, G.* : A four-day subrenal capsule assay for testing the effectiveness of anticancer drugs against human tumors. *Cancer Research*, 44 : 2660, 1984.
 18. *Ryffel, B.* : Cyclosporin : Effects on human T lymphocyte activation and clinical application. *Clin. Immuno. Newsletter*, 5 : 164, 1984.
 19. *Rygaard, J. and Povlsen, C.O.* : Heterotransplantation of a human malignant tumor to "nude" mice. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 77 : 758, 1969.
 20. *Slatter, L.M., Sweet, P., Stupechy, M., Wetzel, M.W. and Gupta, S.* : Cyclosporin A corrects daunorubicin resistance in Ehrlich ascites carcinoma. *Br. J. Cancer*, 54 : 235, 1986.
 21. *Stratton, J.A., Kucera, P.R., Micha, J.P., Rettenmaier, M.A., Braly, P.S., Berman, M.L. and Disaia, P.J.* : The subrenal capsule tumor implant assay as a predictor of clinical response to chemotherapy : 3 years of experience. *Gynecol. Oncol.*, 19 : 336, 1984.
 22. *Sugiyama, T., Nishida, T., Ushijima, K., Katabuchi, H., Shibue, K., Nakanami, M., Yakushiji, M. and Kato, T.* : Characterization of transplant generations of primary rat adenocarcinomas. *Kurume Med. J.*, 33 : 97, 1986.
(No. 6556 平1・2・7受付)