日消外会誌　13巻（5）：382～388，1980年　　日消外会誌　13巻　5号

免疫能よりみた食道癌治療の問題点

京都府立医科大学第2外科
小玉　正智　柴田　純祐　久保　雄治
寺田　信国　松本　学　山岸　久一
田中　承男　橋本　勇

IMMUNOLOGICAL PROBLEMS IN TREATMENTS OF THE ESOPHAGEAL CANCER

Masashi KODAMA, Junsuke SHIBATA, Uji KUBO, Nobukuni TERADA, Manabu MATSUMOTO, Hisakazu YAMAGISHI, Tsuguo TANAKA and Isamu HASHIMOTO
Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

食道癌患者24症例の細胞性免疫能とその治療経過の変化について，ツベルクリン反応（ツ反応），PHA皮内反応，およびPHAリンパ球幼若率を用いて測定した．

食道癌患者の免疫能は，進行度が進むにつれ，ツ反応による遅延型皮膚反応およびTリンパ球の機能をみるPHA幼若化率で低下を認めた．術前照射および手術の影響についてみると，細胞性免疫能は，照射または手術により著明な低下をきたし，特に術前照射と手術併用群では高度の低下が長期継続し，術前値に回復するにも長期間を要した．しかし，免疫増強剤を使用することにより，低下の期間が短縮し，早期に回復する症例を認めた．免疫増強剤は，照射または手術による免疫低下を回復さし，有効な補助手段となりうると考えられた．

索引用語：食道癌，食道癌治療，疫免療法，食道癌患者免疫能

はじめに

食道癌の治療成績は，全身管理の確立と診断面の進歩により，近年著しく向上してきた．また最近では，早期，あるいは表在食道癌の症例も次第に増加しているが，実際に治療にあたる症例は，ほとんど進行癌で，切除例の5年生存率も，満足できるものとはいいがたい[1)2)]．われわれは，a_0の判定で治癒切除を行い，長期生存が期待された症例のうち，数年後，肝あるいは肺に臓器転移を来たすものに遭遇したことから，これら症例の背景因子の解析が重要であることを痛感し，数年前より免疫学的に食道癌を検索し，いくつかの知見を得たので，それらを報告するとともに，今後の治療法について考察した．

検索症例と方法

検索症例は，教室で食道癌と診断された症例のうち，無治療時，コバルト照射前後，手術前後および免疫増強剤使用時の免疫能の変化を追跡し得た24症例で，免疫能は，つぎの方法により検討を行った．

1．皮内反応

i）ツベルクリン反応（PPD反応）

PPD反応は，診断用精製ツベルクリン（日本BCG株式会社）の0.5μg/ml溶液の0.1mlを，前腕内側皮内に注射し，48時間後判定した．紅斑と浸潤を測定し，紅斑の径が10mm以上であれば陽性と判定した．

ii）Phytohemagglutinin反応（PHA皮内反応）

PHA反応は，Bacto-phytohemagglutinin-P（Difco社）の100μg/ml溶液の0.1mlを前腕内側皮内に注射し，24時間後判定した．紅斑の径を測定し，20mm以上あれば陽性と判定した．

2．PHAリンパ球幼若化反応

リンパ球は，ヘパリン加末梢血より Ficoll-Conray 法により分離し，分離されたリンパ球層を，10% Fetal Calf Serum (FCS, Gibco 社) を含む RPMI-1640培養液 (Gibco 社) 浮遊させて2回洗滌後，細胞数を 1×10^6/ml に調整した．

これを Microplate (Falcon 社#3040) の各 Well に注入し，その0.2ml 中で15μg/ml の濃度になるように PHA-P を加え，これを5% CO_2-95% Air の培養器で3日培養終了8時間前に，H^3-Thymidine 1.9μC/0.02ml を加え，8時間後に，Cell-Harvester (ラボマッシュ社) を使用して収集したリンパ球を液体シンチレーションカウンター (Beckman 社) で測定し，その count を測定し dpm で表わした．

PHA を加えていない対照群の値でこの検体値を除した値を stimulation Index (SI 値) とした．検体値は，Quadricate で測定を行い，median の値を採用した．

3．免疫増強剤

PSK (クレスチン，三共株式会社) は[3]，1日3gr を．3回に分け連日で，Levamisole[4] (協和醗酵株式会社) は，1日150mg を，いずれも3回にわけ，経口3日間投薬し，ついで11日間休薬する方法を1クールとし，このくり返しを実施した．BCG (日本 BCG 株式会社) は，5～10mg/ml，または，BCG-Cell Wall (BCG-GW) vaccine (6mg/ml) の[5] 0.6～1.0ml を，手術14日～7日前に，内視鏡直視下で腫瘍内に局所注射した．

成　績

1．食道癌患者の免疫能

i) PPD 皮内反応；治療前の食道癌患者24例中18例 (75%) に PPD 皮内反応陽性を認めた．切除群と非切除群について比較すると，両者の間に推計学的な有意差を認めなかった (表1)．またこの陽性率は，40歳以上の健康人の陽性率と比較しても，とくに低下を認めな

表1　PPD skin reaction in patients of the esophageal cancer

	Cases	PPD reaction	
		Positive (%)	Negative (%)
Resectable group	17	12 (70.5)	5 (29.5)
Non-resectable group	7	6 (85.7)	1 (14.3)
Total	24	18 (75.0)	6 (25.0)

表2　PPD skin reaction in each stage of the esophageal cancer

	Cases	PPD reaction: positive		
		Resectable group (%)	Non-resectable group	Total (%)
stage I	6	6 (100)	0	6 (100)
II	1	1 (100)	0	1 (100)
III	4	2 (50)	0	2 (50)
IV	13*	3/6 (50)	6/7 *	9 (69)

* The stage in 7 cases were determined macroscopically without surgery.

表3　PHA skin reaction in patients of the esophageal cancer

	Cases	PHA reaction	
		Positive(%)	Negative(%)
Resectable group	10	5 (50)	5 (50)
Non-resectable group	6	3 (50)	3 (50)
Total	16	8 (50)	8 (50)

表4　PHA skin reaction in each stage of esophageal cancer

	Cases	PHA reaction: positive		
		Resectable group (%)	Non-resectable group	Total (%)
stage I	2	1/2 (50)	0	1 (50)
II	0	0	0	0
III	4	2/4 (50)	0	2 (50)
IV	10	2/4 (50)	2/6	4 (40)

い．

癌の進行度と PPD 反応の関係は，stage Ⅰでは，6例中6例（100%）が陽性であるが，stage Ⅳでは13例中9例（69%）が陽性で，両群の間に差を認めた．これは癌の進行とともに，免疫能が低下することを示した（**表2**）．

ii) PHA 皮内反応

PHA 皮内反応は，治療前の16症例中8例（50%）に陽性で，切除群と非切除群の間には反応の有意差は認めなかった（**表3**）．さらに癌の進行度と PHA 反応陽性率の間にも相関を認めなかった（**表4**）．

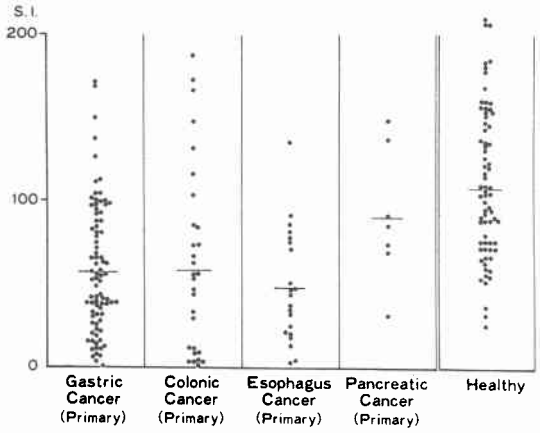
iii) PHA リンパ球幼若化反応

消化器癌のうち，胃癌および大腸癌患者では，その末梢血リンパ球の PHA リンパ球幼若化率は，健康人と比較して，癌が進行するにしたがって低下することを報告したが[6]，食道癌患者でも同様で，しかも胃癌および大腸癌に比較してさらに一層低下していた．すなわち健康人の S.I. は，106±44 (Standard Deviation, SD) であるのに比し，食道癌患者のそれは，28.1±12.4であった（**図1**）．また，切除できた15症例と非切除の7症例を比較してみると，両群の間にとくに差を認めなかった（**図2**）．次に，進行度別に分類し観察すると，stage Ⅰに属する比較的早期と判定される5症例でも，全例で S.I. は50以下の低値を示した．反面，stage Ⅳの症例でも，a_3 または A_3 因子により stage Ⅳと判定されたものでは，かならずしも低下を認めなかった．しかし，n 因子で stage Ⅳと判定された症例は，5症例中4症例が低値を示し，それぞれの因子により T-リンパ球機能低下が異なる結果を示した（**図3**）．

2．手術および術前照射による免疫能の変化

術前照射をうけずに，開胸開腹術で一期的胸部食道全摘術を行い，胸骨後胃大弯胃管による再建術を行った症

図1 Comparison of PHA Induced Blastoid Transformation in Malgnant Diseases



例では，PHA リンパ球幼若化率は，手術後2—10日に高度の低下をみた．進行度の早期症例は，術後14日目頃より回復しはじめ，術後5～6週間でほぼ術前値に回復した（**図4**）．教室ではA（＋）と判定された症例，および食道壁内進展を認める症例は，術前照射を併用しているが，これらの症例は術後長期に PHA リンパ球幼若化率の低下を認めた．術前照射と手術を併用した群でも，術後の低下が長期間持続し，術後50日でも3症例全例が術前値に回復しなかった（**図5**）．

図2 PHA Induced Blastoid Transformation in Esophageal Cancer Patients and Healthy Persons

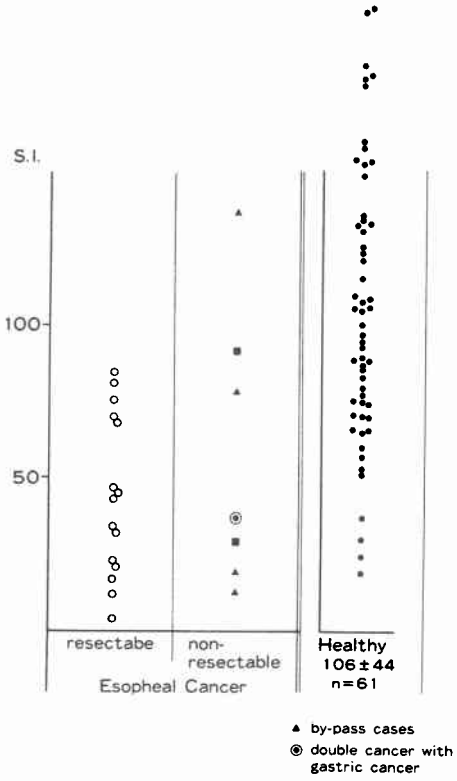


図3 PHA Induced Blastoid Transformation in Each Stage Esophageal Cancer

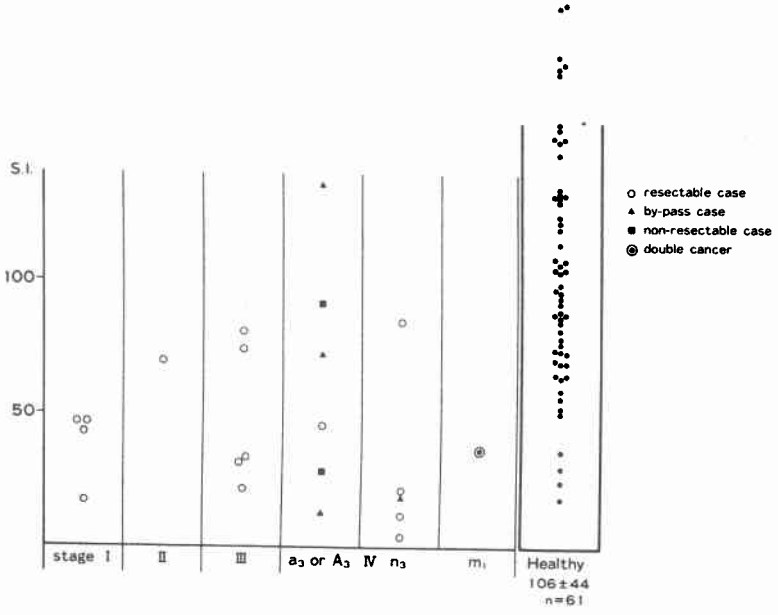


図4　Changing Patterns of PHA Ineuced Blastoid Transformation after Treatments in Esophageal Cancer

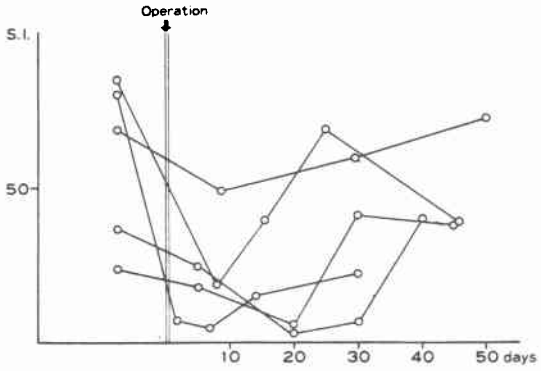


図5　Changing Pattern of PHA Blastoid Transformation after Treatments in Esophageal Cances (Non-combined Immunotherapy)

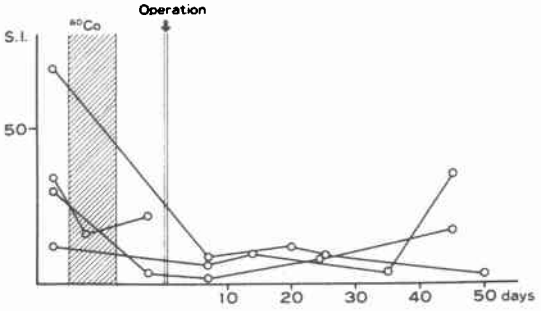
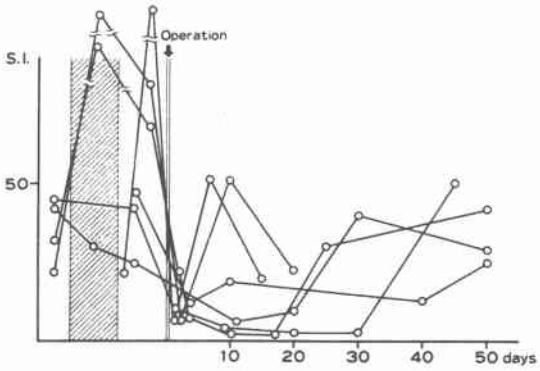


図6　Changes of PHA Blastoid Transformation using combined Immunotherapy before Operation



3.　手術に併用するる免疫療法

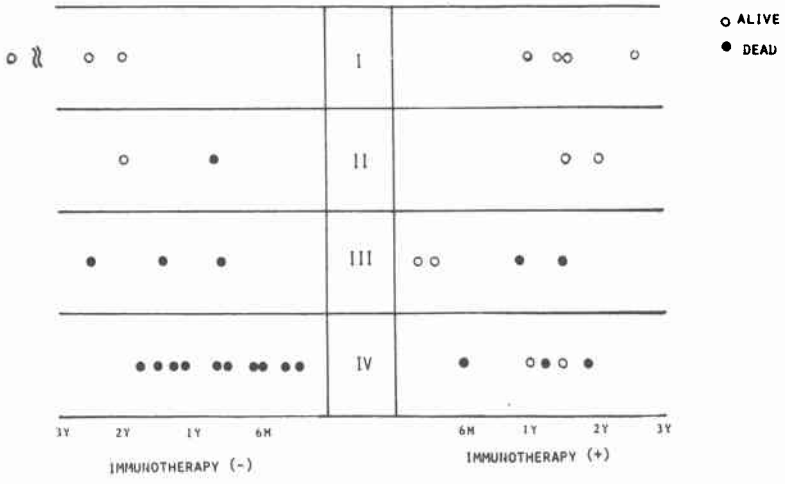
i）PHA リンパ球幼若化率の変動

術前 ^{60}Co 照射例，または術前に免疫療法を併用した6症例では，術直後の免疫能低下は，非併用群と同じ傾向を示したが，併用群は術後早期に全例回復を認めた（**図6**）.

ii）生存率からの効果判定

術前および術後の免疫療法群について，切除後の予後を検討した．最近の症例について，免疫療法併用群15症例と非併用群18症例についてみると，結論的なことはいえないが，stage Ⅱないし Ⅲ群で延命効果が期待されうると考えている（**図7**）.

図7　Prognosis after surgery of the esophageal cancer with or without Immunotherapy



考　察

食道癌の術後遠隔成績は，5年生存率が20%前後で，この成績を向上させるためには，手術により癌細胞が完全に切除できうる早期の癌の発見と，手術に併用する合併療法の選択が重要であると考えられる．手術により癌細胞が完全に切除できなかった症例でも，手術は担癌生体での癌細胞を減少させるために，癌と担癌生体の免疫学的関係を改善しうる大事な時期であるので，われわれは，食道癌患者の免疫能について検索し，この免疫増強を手術に併用するには，いかなる問題点があるか検討した．

担癌生体では，免疫能が低下するため，その指標となる皮内反応や，リンパ球の機能が低下することが多数報告されているし[7)8)]，血中の免疫抑制物質も注目されており，これは進行癌では高率に，しかも早期癌より増量していることが報告されている[9)10)]．従って進行癌では，いくつかの現象が重なり合って，担癌生体の免疫能低下が惹起されていることが推定される．

食道癌患者についても，免疫能の低下を認めるという報告が多い[11)]．われわれの術前無処置時の検索でも，PPD 皮内反応は，癌の進行度が進むにつれ低下を認めた．また，リンパ球 PHA 幼若化率，とくに T-リンパ球の機能低下が比較的早期の症例においてもみられ，これは興味深い事実であった．また治療の過程でも，免疫能の変動がみられた．すなわち，放射線治療では，古くから照射による影響で免疫能が低下することが報告されているが[12)]，われわれの症例でも，^{60}Co 照射3,000rad 後，リンパ球 PHA 幼若化率で高度の低下を認めた．

折田らは[13)]，胃癌の手術侵襲が全身の免疫能を低下すると報告している．食道癌切除術は，開胸開腹術を同時に行い，患者に大きな手術侵襲を与えるため，リンパ球幼若化率の長期追跡測定でも，術後長期にわたる著明な低下を認め，わずかにでも腫瘍細胞が残った症例では，腫瘍細胞が増殖し易い環境を維持していると推測できる．

以上のように，食道癌患者では，免疫能の低下が著しいが，その低下した状態のものが，術前の ^{60}Co 照射や手術侵襲によりさらに低下することが判明した．この点からみても，食道癌の免疫療法の併用は，術前から術後長期間の治療として行われることが最良と思われる．われわれは，PSK, Levamisole の経口投与および BCG または BCG-CW vaccine の腫瘍内注射により低下した免疫能が上昇することを認め，また，これらの術前投与で術後の免疫能低下の落ち込み期間を短縮できることを確認した．しかし，いかなる症例にどの免疫増強剤を使用するか，どの組合せが最良か，また投与により腫瘍特異的免疫に与える影響はどうなるのかなどの検索は，今後も根気よく追究されなければならない．

免疫療法の効果は，現在では生存率の向上により間接的に判定されているが，免疫能検査法により確実に判定される方法はまだ発見されておらず，免疫のしくみの複雑さを痛感する次第である．動物実験腫瘍では免疫療法による腫瘍の完全消失が報告され，免疫療法の有効性を認めてはいるが，その報告数は少ない[14)15)16)]．臨床においては，白血病[17)]，肺癌[18)]および悪性黒色腫[19)]で免疫療法の効果が報告されている．

現在，免疫療法に対する効果判定の基準がなく，効果判定の決定に難渋を来たすが，われわれは，次のような条件を設定し，判定の基準としている．

(1) 腫瘍の50%以上の縮小または消失

(2) 免疫学的検索により，長期にわたり非特異的および特異的免疫能の上昇，とくに Killer-T の増加．

(3) 同一背景因子をもった症例群のなかで，無選択的に抽出された治療群と非治療群で予後に有意差を認めるもの．

以上の3因子の中で，少くとも1因子以上が証明された場合，免疫療法が有効と判定されると考えている．

癌免疫療法は，新しい分野で未だ治療法が確立していないが，利用法によれば大きな効果が期待される．今後の発展には，基礎的研究の成果と臨床応用の有機的な結合が不可欠の分野と考えている．

まとめ

1．食道癌患者は，PPD 皮内反応，および PHA リンパ球幼若化率の測定などの結果で，細胞性免疫の低下を認め，癌の進行度が進むにつれ低下していた．

2．術前の^{60}Co 照射および手術侵襲は，細胞性免疫能を低下せしめた．しかし，術前および術後の免疫増強剤の投与は，これらの低下をある程度防止し，さらに早期に回復をきたしうる症例があった．

文　献

1) 遠藤光夫ら：食道—癌手術の遠隔成績．外科診療，**8**：863—867，1976．
2) 佐藤　博ら：食道癌の遠隔成績．最新医学，**34**：792—796，1979．
3) Tsukagoshi, S., et al.: Protein-bound polysaccharide preparation, PSK, effective against mouse sarcoma-180 and rat ascites hepatoma

AH-130 by oral use. Gann, **65**: 557—558, 1974.
4) Potter, C.W., et al.: Levamisole in active treatment of four animal tumors. Nature, **249**: 567—567, 1974.
5) Zbar, B., et al.: Safety and efficacy of living BCG or BCG cell wall in the treatment of a guinea pig hepatoma. Cancer, **43**: 484—491, 1979.
6) 小玉正智ら：胃癌患者における各種免疫パラメーターの検討．臨床免疫，**10**（4）：461—468，1978.
7) Nemoto, T., et al.: Cell-mediated immune status of breast cancer patients—Evaluation by skin test, lymphocyte stimulation and counts of rosset-forming cells. J. Natl. Cancer Inst., **53**: 641—645, 1974.
8) Bobrove, A.M., et al.: Quantitation of T and B lymphocytes and cellular immune function in Hodgkin's disease. Cancer, **36**: 169—179, 1975.
9) Cooperband, S.R., et al.: Competitive blockade of lymphocyte stimulation by a serum immunoregulatory alpha globulin. (IRA) Transplant. Proc., **1**: 516—519, 1969.
10) 漆崎一郎ら：がん血清中のリンパ球の PHA 反応抑制因子．最新医学，**29**：1775—1783，1974.
11) 西平哲郎：各種人癌におけるリンパ球腫瘍細胞混合培養反応．癌の臨床，**24**（9）：961—968，1978.
12) Raben, M., et al.: The effect of radiation therapy on lymphocyte subpopulations in cancer patients. Cancer, **37**: 1417—1421, 1976.
13) 折田薫三ら：消化器癌における PHA リンパ球幼若化反応．日本癌治療学会誌，**13**（2）：135—138，1978.
14) Rapp, H.J.: Introductory remarks. Conference on the use of BCG in therapy of cancer. NCI Monograph, **39**: 1—3, 1973.
15) Kobayashi, H., et al.: Inhibition of metastasis in rats immunized with xenogenized autologous tumor cells after excision of primary tumor. J. Natl. Cancer Inst., **54**: 997—999, 1975.
16) Berendt, M.J., et al.: The immunological basis of endotoxin-induced tumor regression. J. Exp. Med., **148**(6): 1550—1569, 1978.
17) Mathé, G., et al.: Preliminary results of three chemotherapy-immunotherapy protocols for treatment of acute lymphoid leukemia in children. Immunotherapy of human cancer 245—256, 1978 Raven Press, New York.
18) 山村雄一ら：癌の免疫化学療法の相互関係．最新医学，**34**：723—726，1979.
19) Morton, D.L., et al.: Immunological factors which influences response to immunotherapy in malignant melanoma. Surgery, **68**: 158—164, 1970.