日消外会誌　14（8）：1147～1152，1981年

食道癌術前照射療法における患者細胞性免疫能の検討
—溶連菌製剤OK-432の投与効果—

神戸大学医学部第1外科
朴　採俊　多淵　芳樹　南　正樹
井上　和則　滝口　安彦　佐藤　美晴
川口　勝徳　斉藤　洋一

CELLULAR IMMUNITY OF THE PATIENT WITH ESOPHAGEAL CANCER SUFFERED BY PREOPERATIVE RADIOTHERAPY —EFFECT ON CELLULAR IMMUNITY BY A STREPTOCOCCAL PREPARATION OK-432—

Chaejun PARK, Yoshiki TABUCHI, Masaki MINAMI, Kazunori INOUE, Yasuhiko TAKIGUCHI, Yoshiharu SATO, Katsunori KAWAGUCHI and Yoichi SAITOH
First Department of Surgery, Kobe University School of Medicine

食道癌に対する術前照射と溶連菌製剤 OK 432の併用が，生体の細胞性免疫能と癌病巣にいかなる影響をおよぼすかについて検討した．食道癌の非照射例の50％は自己癌細胞に対する高いリンパ球幼若化を示し，照射例の14％と比べて高率な傾向を示した．PHA によるリンパ球幼若化は術前照射（2,000～4,000 rads）によって抑制されたが，OK-432投与によりその抑制の軽減がみられた．また術前照射例は非照射例と比べて癌病巣の単核細胞浸潤は軽度であり，局所免疫の低下が示唆された．しかし照射中に OK-432を併用した症例では単核細胞浸潤が高度であり，放射線効果高度な傾向がみられた．

索引用語：食道癌，術前照射，細胞性免疫，放射線効果，免疫賦活療法

I　緒　言

食道癌に対する術前照射の主な目的は癌細胞の選択的破壊によって癌巣を縮小させ，切除可能性の拡大をはかることであり[1)2)]，放射線による癌細胞の破壊効果や癌巣の縮小効果については詳細な検討がなされている[2)3)]．最近，癌細胞の破壊過程に担癌宿主免疫能が関与していることが実験的に明らかにされ[4)5)]，また臨床的にも肺癌などの放射線治療に免疫療法を併用するとより有効であったという報告もみられる[6)]．しかし食道癌に対する放射線療法が担癌生体の細胞性免疫能にいかなる影響をおよぼすかを検討した報告は現在までほとんどみられない[7)]．今回，著者らは（i）食道癌患者の細胞性免疫能におよぼす術前照射の影響，（ii）患者免疫能と放射線効果との関連および（iii）術前照射と免疫賦活療法併用の生体免疫能におよぼす影響について検討し，若干の知見を得たので報告する．

II　対　象

昭和45年2月から55年4月までの約10年間に当教室で切除した食道癌患者95例を対象にした．これらを術前照射非併用群21例（Ⅰ群，男15例女6例，平均年齢60歳）と，併用群74例（Ⅱ群，男54例女20例，平均年齢61歳）に分けた．またⅡ群を溶連菌製剤 OK-432[8)9)] を併用しなかった57例（Ⅱa 群，男42例女15例，平均年齢61歳）と，併用した17例（Ⅱb 群，男12例女5例，平均年齢61歳）に分け，各群間の全身ならびに局所の細胞性免疫能を比較検討した．

III 方　法

1. 細胞性免疫能

1) 3M-KCl 可溶性抗原[10]および PHA によるリンパ球幼若化反応

末梢血より Ficoll-Conray 法[11]で分離したリンパ球浮遊液に，既報の方法[7)10)]を用いて粘膜を主とする食道非癌組織および食道癌組織から抽出した 3M-KCl 可溶性抗原と，Phytohemagglutinin (PHA, Difco) を添加後，リンパ球への H^3-thymidine の取込み (stimulation index, SI) を測定した.

2) 遅延型皮内反応

精製ツベルクリン (PPD, 日本 BCG) および PHA (Wellcome, 50μg/ml) を各 0.1ml 前腕に皮内注射し，皮膚発赤の平均直径を48, 24時間後に計測した. II群の照射後の反応は照射後3～13日目に測定した.

2. 組織学的および免疫組織学的検索

I群とII群症例のうち3,000～4,000rads 照射症例において，癌先進部に存在するリンパ球，マクロファージなどの単核細胞浸潤 (mononuclear cell infiltration, MNCI と省略) の程度を次のとおり3段階に分類した. 軽度 (±)；少数の単核細胞が散在し，まったく集簇傾向を示さない. 中等度 (+)；少数の単核細胞が散在性にみられるが，一部で集簇傾向を示す. 高度 (++)；多数の単核細胞が集簇傾向を示す (**写真1**). またII群症例の MNCI 程度と，食道癌取扱い規約[12]により判定した組織学的放射線効果 (Ef と省略) の程度との関連の有無を検討した.

3. 術前照射と免疫賦活療法の実施方法

術前照射は ^{60}Co またはリニアックで行い，照射1回線量は 150～500rads, 照射総線量は主として 2,000～4,000rads (900～6,600rads) であり，照射後手術までの期間は7～14日であった. 溶連菌製剤 OK-432 の投与は，照射前から行った2例を除いて，15例は照射開始と同時に行った. 初回投与量は 0.2Klinische Einheit (KE と省略) で，連日あるいは隔日に漸増して2.0～5.0 KE を維持量とした. 投与経路は原則として筋肉注射とし，総投与量は 12～188KE (平均33KE) であった.

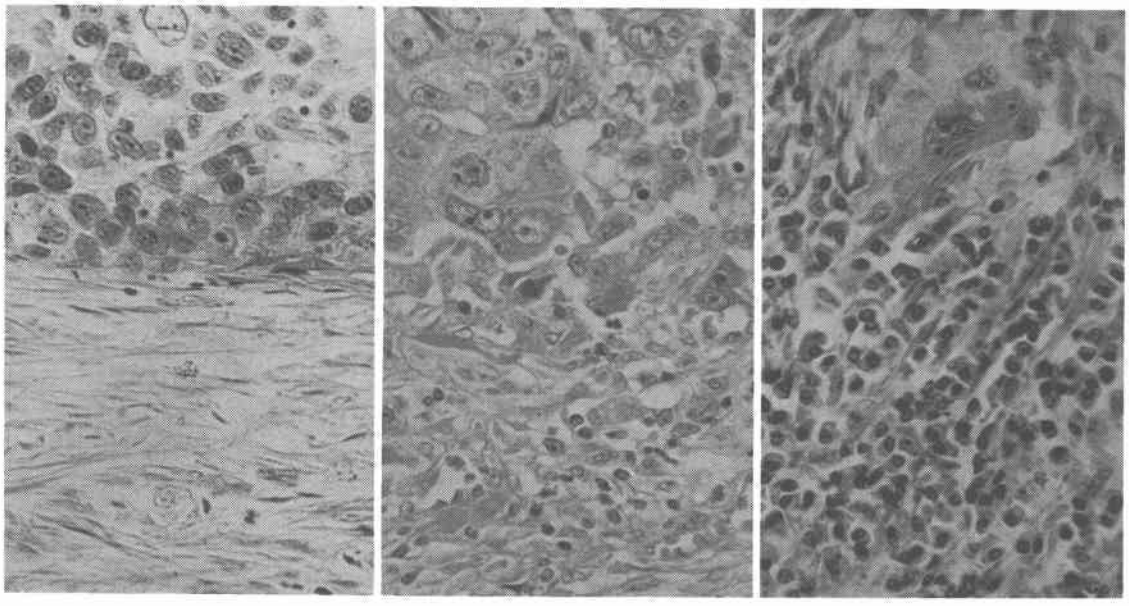
IV 成　績

1. 全身の細胞性免疫能

1) 3M-KCl 可溶性抗原によるリンパ球幼若化反応 (**図1**)

食道非癌組織からの抗原を用いた場合，I群およびII群の SI はそれぞれ1.3±0.3 (平均SI ±標準偏差)，1.2±0.2でいずれも2.0未満であり，その反応性は低値

写真 1

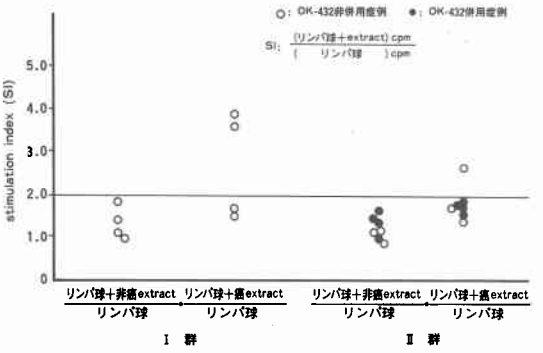


少数の単核細胞が散在性に認められる. MNCI (±)

少数の単核細胞が散在し，一部で集簇傾向を示す. MNCI (+)

多数の単核細胞が浸潤しているのがみられる. MNCI (++)

図1　3M・KCl 可溶性抗原（extract）によるリンパ球幼若化反応



を示した．一方食道癌組織からの抗原を用いた場合，検索11例中3例の SI は2.0を越えており，非癌組織からの抗原を用いた場合のリンパ球反応性と比べて高い反応性が認められた．この高い反応性を示した3例を群別にみると，Ⅰ群では4例中2例（50%），Ⅱ群では7例中1例（14%）であり，Ⅰ群では SI 値の高い症例が多い傾向がみられた．なおⅡb 群4例の SI はいずれも2.0未満であった．

2）PHA によるリンパ球幼若化反応（**図2**）

Ⅰ群と，照射前の Ⅱa 群およびⅡb 群の SI はそれぞれ30±17（平均 SI±標準偏差），49±21，34±12であり，各群の SI の間に明らかな差はみられなかった．次にⅡa 群の照射後の SI は14±7であり，照射前の SI（49±21）と比べて低値を示した（$p<0.05$）．一方，Ⅱb 群の照射後の SI は22±17であり，照射前の SI（34±12）と比べて明らかな低下はみられなかった．

3）PPD による皮内反応を**図3**）

図2　PHA によるリンパ球幼若化反応

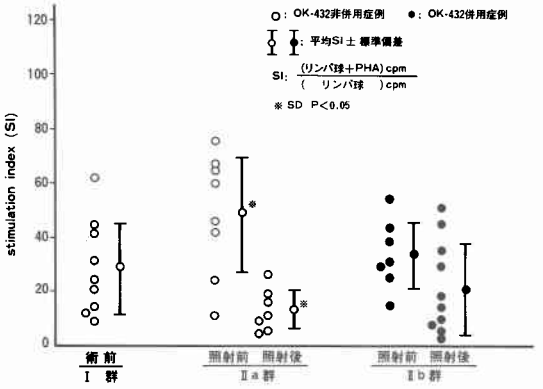
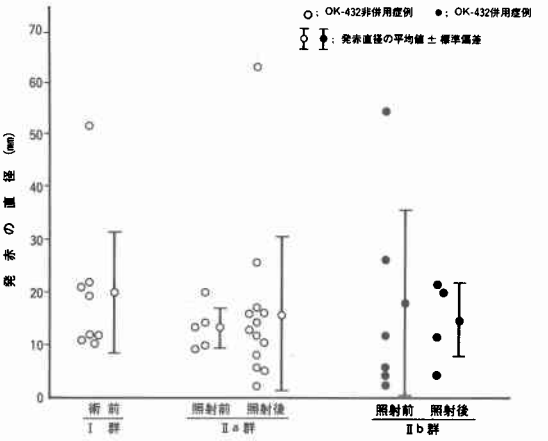


図3　PPD 皮内反応

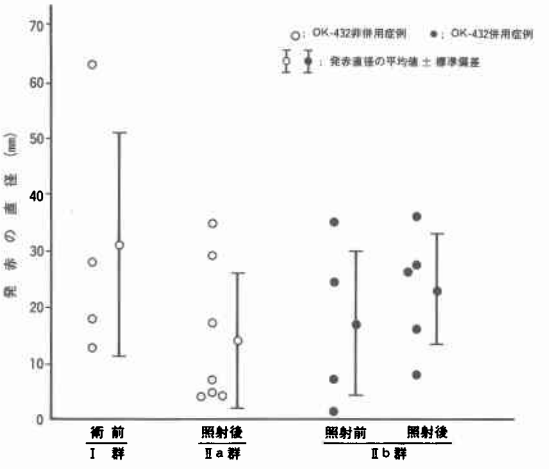


Ⅰ群，Ⅱa 群およびⅡb 群の術前または照射前の発赤直径はそれぞれ 20±13mm（平均直径±標準偏差），13±4mm，18±17mm であり，各群の値の間に有意差はみられなかった．またⅡa 群およびⅡb 群の照射後の発赤直径はそれぞれ 16±15mm，15±7mm であり，両群の値の間に差はみられなかった．さらにⅡa 群およびⅡb 群の照射後の値と，両群の照射前の値（13±4mm 18±17mm）およびⅠ群の術前値（20±13mm）との間には差は認められなかった．

4）PHA による皮内反応（**図4**）

Ⅰ群とⅡ群の術前または照射前の発赤直径はそれぞれ31±20mm（平均直径±標準偏差），17±13mm であり，両群の値の間に有意差はみられなかった．またⅡa群お

図4　PHA 皮内反応



よびⅡb群の照射後の値はそれぞれ15±12mm，23±10mmであり，両群の間に有意差は認められなかった．

2．癌病巣の細胞性免疫能

1）MNCI程度（表1）

各群におけるMNCI程度別の比率をみると，Ⅰ群21例では（±）9％，（＋）43％，（＋＋）48％を示した．Ⅱ群のうち3,000～4,000rads症例のみを対象にすると，Ⅱa群13例では（±）38％，（＋）54％，（＋＋）8％であり，Ⅱb群10例では（±）30％，（＋）40％，（＋＋）30％を示し，Ⅱa群はⅠ群と比べてMNCI（±）症例が多く，MNCI（＋＋）症例が少ない傾向がみられた（$p<0.05$）．Ⅱb群はⅠ群と比べてMNCI（±）症例が多く，またⅡa群と比べてMNCI（＋＋）症例が多い傾向がみられた．

表1　各症例群と癌先進部の単核細胞浸潤（MNCI）程度（3,000～4,000rads症例）

群	症例数	MNCI程度		
		軽度（±）	中等度（＋）	高度（＋＋）
Ⅰ群	21	2 (9)	9 (43)	10 (48)
Ⅱa群	13	5 (38)	7 (54)	1 (8)
Ⅱb群	10	3 (30)	4 (40)	3 (30)

数字：症例数　（ ）内：％

2）MNCIとEfとの関連（表2）

Ⅱ群のうち3,000～4,000rads症例を対象にしてMNCI程度別にEf程度をみると，MNCI（±）8例ではEf1が63％，Ef2が25％，Ef3が12％，また［MNCI（＋）11例ではEf1が45％，Ef2が55％，Ef3が0％，さらにMNCI（＋＋）3例ではEf1が0％，Ef2が66％，Ef3が33％を示した．すなわち，照射線量をほぼ一定にして検討すると，MNCI高度な症例はMNCI軽度な症例と比べてEfが高度である傾向が示唆された．

表2　癌先進部の単核細胞浸潤（MNCI）程度と放射線効果（Ef）（3,000～4,000rads症例）

MNCI程度	症例数	放射線効果の程度		
		Ef 1	Ef 2	Ef 3
軽度（±）	8	5 (63)	2 (25)	1 (12)
中等度（＋）	11	5 (45)	6 (55)	
中高度（＋＋）	3		2 (66)	1 (33)

数字：症例数　（ ）内：％

V　考　察

最近，実験的に癌の放射線治療に宿主の細胞性免疫が関与し，臨床的にも患者免疫能の賦活によって高い放射線治療効果の得られることが示唆されている[7)13)]．今回著者らは，術前照射を併用した食道癌患者のリンパ球幼若化反応，遅延型皮内反応および癌増殖巣の単核細胞浸潤に対する術前照射の影響，また単核細胞浸潤と組織学的放射線効果との関連性の有無，および術前照射中にOK-432を併用する治療上の意義について検討した．

1．リンパ球幼若化反応

諸家によれば[10)14)15)]，癌患者のリンパ球は自己癌細胞抗原を認識して特異的幼若化反応を示し，この反応は患者の細胞性免疫能を知る有力な示標とされている．菊地ら[14)]，内沢[10)]らは胃癌，大腸癌，乳癌の約30％に，西平[15)]は食道癌の約60％に高い幼若化を認めている．著者らの結果では検索例の27％に高い幼若化が認められ，ヒト食道癌においても自己の癌に対する特異的反応が存在するものと推定された．この高い幼若化症例の頻度を術前照射の有無別にみると，Ⅱ群ではⅠ群と比べて高い幼若化症例の頻度が低い傾向がみられた．移植腫瘍実験では照射後の癌抗原性の増強[5)16)]，抑制Tリンパ球の減少[13)]によって特異的幼若化反応の亢進がみられる場合もあるとされているが，前述の成績はヒト食道癌ではその癌抗原性自体が極めて弱いために照射による抗原性増強が十分に生じ得なかったことを示している．またThomasら[17)]は照射による非特異的リンパ球反応の低下を報告しており，著者らの結果でもPHAによるリンパ球幼若化は術前照射によって明らかに抑制されていた．すなわちⅡ群において特異的リンパ球幼若化反応の亢進がみられなかった原因の1つには，反応細胞である患者リンパ球の非特異的反応の低下が関与していると考えられた．

次に照射症例の特異的リンパ球幼若化反応をOK-432投与の有無別にみると，OK-432非投与例では1例に高い反応性が認められたが，OK-432投与例ではいずれも反応性の亢進はみられずOK-432の投与効果は認められなかった．一方，PHAによる非特異的リンパ球幼若化反応では，OK-432投与例中に照射による反応抑制がほとんどみられない症例が認められた．このことは術前照射中のOK-432投与は，癌患者の非特異的免疫能の抑制を軽減する可能性があることを示唆している．なおMcCredieら[18)]はPHA幼若化反応は照射によっても低下しない場合があると報告しており，今後リンパ球の亜

分画別の放射線感受性[13]，反応条件，OK-432 の投与方法などを考慮した上で，OK-432 の投与効果について慎重に検討する必要がある．

2．PPD および PHA 皮内反応

木村[8]らは肺癌症例において約 4,000rads の照射により遅延型皮内反応の低下が認められ，OK-432 の投与によってその低下を軽減し得たと述べている．今回の食道癌症例の検討では，Ⅱa 群の照射後の皮内反応はⅠ群の反応と比べて明らかな差はなく，またⅡb 群の照射後の反応とⅡa 群の反応との間にも差はみられなかった．すなわち 2,000～4,000rads の術前照射によってたとえ食道癌患者の PPD および PHA 皮内反応の抑制が生じるとしても，その抑制は軽度であるか一過性であり，照射終了後比較的早期に回復するものと推定された．

3．癌巣の細胞性免疫能におよぼす照射と OK-432投与の影響，および細胞性免疫能と放射線効果との関連

前述のとおり食道癌患者の一部には，弱い反応ではあるが，自己癌細胞に対する特異的反応が存在すると推定される．癌に対する免疫応答は一般に癌増殖巣に強く反映し，癌増殖巣にみられるリンパ球，マクロファージなどの単核細胞浸潤はその一表現形式であるとされている[5)10)20)]．この組織反応を示標として食道癌患者の癌局所における細胞性免疫能をみると，Ⅱ群ではⅠ群と比べて癌増殖巣の巣核細胞浸潤は軽度であった．このことは癌局所の細胞性免疫能が照射によって抑制されることを示している．この局所免疫抑制が放射線による癌破壊と関連を有するか否かを，3,000～4,000rads 照射症例を対象に検討すると，単核細胞浸潤の高度症例は軽度症例と比べてその組織学的放射線効果すなわち癌細胞破壊が高度である傾向が認められた．すなわちこの結果は，術前照射による食道癌破壊過程に癌増殖巣の細胞性免疫が関与していることを示唆していると考えられた．また OK-432 を併用した照射症例では，Ⅱa 群と比べて単核細胞浸潤高度な症例が多い傾向がみられ，照射中に免疫賦活剤を投与することによって患者免疫能を賦活し，癌細胞に対する放射線効果を増強し得る可能性のあることが強く示唆された．

Ⅵ 結　語

食道癌患者95例を対象に，リンパ球幼若化反応，PPD および PHA 皮内反応，および癌増殖巣の単核細胞浸潤を示標として，術前照射の影響，癌局所の細胞性免疫能と放射線効果との関連および術前照射中の OK-432投与効果について検討し，次のとおりの結果を得た．

1．食道癌患者の特異的および非特異的リンパ球幼若化反応は術前照射によっていずれも抑制されたが，OK-432 投与により非特異的反応の抑制は軽減されることが示唆された．

2．PPD および PHA 皮内反応では，術前照射，OK-432 投与の有無によって明らかな反応性の差はみられなかった．

3．術前照射症例群（n=23）は非照射症例群（n=21）と比べて癌病巣における単核細胞浸潤が軽度であった．また照射症例群では単核細胞浸潤が高度である程，Ef が高度である傾向が認められた．

4．照射中に OK-432を投与した症例は非投与症例と比べて癌病巣の単核細胞浸潤が高度な症例の多い傾向が認められた．

以上より食道癌術前照射中に OK-432を投与することは，照射による担癌生体の細胞性免疫の抑制を軽減し，放射線による癌破壊効果を増強する可能性があることが示唆された．

（本論文の要旨は第12回日本消化器外科学会総会（弘前），第80回日本外科学会総会（仙台）において発表した．）

文　献

1) 佐藤　博ほか：合併療法よりみた食道癌の治療方針．手術，**29**：1037—1044，1975．
2) 秋山　洋：食道癌．癌の臨床，**25**：1268，1979．
3) 中山恒明ほか：癌に対する術前照射について．日本臨床，**19**：1001—1014，1961．
4) 大星章一ほか：癌放射線療法の病理〔Ⅱ〕，癌組織の治癒過程に出現するリンパ球様細胞反応の免疫学的意義．医学のあゆみ，**61**：725—730，1967．
5) 朴　採俊ほか：放射線による腫瘍治療効果と宿主細胞性免疫能に関する実験的研究．癌の臨床，**26**：556—564，1980．
6) 川瀬一郎ほか：各科領域における癌免疫療法の実際—肺癌—．癌の臨床，**24**：515—519，1978．
7) 朴　採俊：食道癌術前照射療法に関する免疫学的研究—実験的並びに臨床的検討—．日外会誌，**81**：1447—1460，1980．
8) Okamoto, H., et al.: Studies on the anticancer and streptolysin S-forming abilities of hemolytic streptococci. Jap. J. Microbiol., **11**: 323—336, 1967.
9) 後藤達彦ほか：溶連菌製剤 OK-432 治験例における宿主免疫反応について．癌と化学療法，**4**：68—76，1977．
10) 内沢公伸：癌患者における腫瘍特異的細胞性免疫能の研究．3M-KCl extract を用いた Mixed

Lymphocyte Tumor cell Interaction について．札幌医誌，48：289—303，1979.
11) 辻　公美：比重遠沈法によるリンパ球の分離，Conray 400-Ficoll 法．免疫実験操作法，443—446，日本免疫学会編，1975.
12) 食道疾患研究会編：食道癌取扱い規約（第5版），金原出版，東京，1976.
13) 多田富雄：放射線療法と免疫．癌の臨床，25：1261，1979.
14) 菊地浩吉ほか：人癌患者における細胞性免疫．医学のあゆみ，91：394—399，1974.
15) 西平哲郎：免疫学的モニターMITR テスト．臨床外科，33：1389—1395，1978.
16) O'Toole, C., et al.: Cellular immunity to human urinary bladder carcinoma. Int. J. Cancer, **10**: 77—91, 1972.
17) Thomas, J.W., et al.: Effect of therapeutic irradiation of lymphocyte transformation in lung cancer. Cancer, **27**: 1046—1050, 1971.
18) McCredie, J.A., et al.: Effect of postoperative radiotherapy on peripheral blood lymphocytes in patients with carcinoma of the breast. Cancer, **29**: 349—356, 1972.
19) 木村修治ほか：肺癌の放射線・制癌剤併用療法における免疫療法の経験．癌の臨床，24：979—984，1978.
20) Moore, O.S. Jr., et al.: The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. Cancer, **2**: 635—642, 1949.