

癌免疫療法における免疫学的パラメーターと予後について

藤田学園名古屋保健衛生大学外科

花上 仁 野本信之助 吉崎 聰

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND PROGNOSIS IN CANCER PATIENTS TREATED WITH IMMUNOTHERAPY

Hitoshi HANAUE, Shinnosuke NOMOTO and Satoshi YOSHIZAKI

Department of Surgery, Fujita-Gakuen University School of Medicine

免疫療法において予後の判定に有用な指標を定めることを本研究の目的とした。溶連菌製剤 OK-432 の免疫療法を行った進行消化器癌 51 例を対象とし、測定した末梢白血球数、末梢血リンパ球数と T 細胞比、PPD、PHA、Su-PS 皮内反応、溶連菌菌体凝集抗体価の値と生存期間を統計学的に検討した。1) T 細胞比を除く他の免疫学的パラメーターにおいて、正常値を示した症例は異常値を示した症例に比較し有意に長い生存期間を得た。2) 末梢白血球数、T 細胞比を除く他の免疫学的パラメーターは生存期間と有意の相関を示した。以上より、T 細胞比を除く他の免疫学的パラメーターは予後推定上信頼できる指標と考えられる。

索引用語：免疫学的パラメーター、非特異的免疫療法、溶連菌製剤 OK-432、予後推定

悪性腫瘍に対する免疫療法は Mathe ら¹⁾、Morton ら²⁾により急性白血病や悪性黒色腫の治療に試みられて以来、癌治療の分野に化学療法、放射線療法につぐ第 3 の補助療法として積極的に導入された。現在、消化器癌の治療に最も広く行われている免疫療法は免疫賦活剤により担癌生体の低下した免疫能を改善強化し、抗腫瘍効果ならびに延命効果を期待する非特異的免疫療法である。

Okamoto ら³⁾により開発された溶連菌製剤 OK-432 (以下 OK-432) を始め BCG⁴⁾、levamisole⁵⁾、Nocardia Rubra Cell-wall Skelton⁶⁾、Corynebacterium parvum⁷⁾ などが免疫賦活剤として用いられており、担癌生体の免疫能改善や腫瘍縮小が報告^{8)~10)}されている。免疫療法を有効に行うには、治療経過中に治療効果の判定と予後を推定するための信頼できる免疫学的パラメーターを測定し担癌生体の免疫能を精確に把握しなければならない。しかし現時点では、理想的な免疫学的パラメーターは確立されておらず、これまでの免疫療法に関する臨床的検討の多くは厳密な生物推計学的評価がなされていない¹¹⁾ので現在一般に知られている免疫学的パラメーターを出来るだけ多くの担癌生体において測定し、生存期間と対比することにより再評価する必要があると考えられる。

我々は進行癌患者に対し OK-432 による免疫療法を行っており、細胞性免疫能の診断パラメーターとして末梢白血球数、末梢血リンパ球数とその T-cell 比、purified protein derivarate (以下 PPD)、phytonaemoagglutinin (以下 PHA)、polysaccharide extracted from Su-strain of streptococcus pyogens (以下 Su-PS) による皮内反応を、体液性免疫能の診断パラメーターとして溶連菌菌体凝集抗体価を治療経過中に定期的に測定している。本稿では OK-432 と FT207 による免疫化学療法を施行した再発および非切除消化器癌患者において測定したこれら免疫学的パラメーターと治療開始後生存期間について統計学的に検討を加え、担癌患者の予後判定に有用な免疫学的パラメーターについて考察した。

対象および方法

過去 4 年間に当院を受診し、病理組織学的に確定診断がなされた再発および非切除消化器癌患者で、2 カ月以上 OK-432 による非特異的免疫療法をうけた胃癌 41 例、大腸癌 6 例、小腸癌 3 例、肝癌 1 例の計 51 例を対象とした。OK-432 の投与方法別にみると、皮内投与例 30 例、筋肉内投与例 21 例である。

1. OK-432 の投与方法

一回投与量は 0.1~0.5KE より始め、5KE を維持量

とした。皮内投与に際しては1% lidocaine 0.4ml に、筋肉内投与に際しては生理的食塩水2ml に各投与量を懸濁溶解し使用した。投与間隔は隔日週3回とした。単独投与は行わず全例に FT-207 600~800mg 連日経口投与を併用した。この投与法を可能な限り継続したが、2カ月以上投与がつつけられた例において、全身状態が極度に悪化したり副作用による患者の苦痛が高度な場合には1回投与量を減じたり投与間隔を延長し投与をつつけることとした。

2. 免疫学的パラメーターの測定

対象症例において、末梢血白血球数、末梢血リンパ球数とその T-cell 比、PPD, PHA, Su-PS による皮内反応、溶連菌菌体凝集抗体価を治療開始前、治療経過中に定期的に測定した。

末梢血白血球数は4,000~10,900/mm³を、末梢血リンパ球数は1,200/mm³以上を正常値とした。

T-cell 比測定には、T・B 細胞測定キット(日本抗体研究所)を使用した。マイクロプレートウェル内で、比重法で分離した末梢血リンパ球と羊赤血球(E), ならびに補体感作ウシ赤血球(EAC)とのロゼット形成を検鏡し、それぞれのロゼット形成リンパ球を T-cell, B-cell としてカウントし、末梢血リンパ球中の T-cell 比を求めた。T-cell 比は65%以上を正常値とした。

PPD 皮内反応には一般診断用精製ツベルクリン液(0.5μg/ml)を0.1ml 用い48時間後に判定した。

PHA 皮内反応には Wellcome 社 purified PHA 5 μg/0.1ml を用い24時間後に判定した。

Su-PS 皮内反応には、溶連菌 Su 株の細胞壁より抽出したポリサッカライド20μg/0.1ml を用い24時間後に判定した。

以上皮内反応の判定にあたっては発赤斑の長径と短径の平均値を指標とし、PPD, Su-PS 皮内反応では10 mm 以上を、PHA 皮内反応では25mm 以上を陽性と判定した。

溶連菌菌体凝集抗体価の測定は Griffith の方法に従い、Todd-Hewitt 培地で培養した Su 株菌液を抗原として用いた。スライドガラス上で行った凝集反応において反応陽性を示した最大稀釈倍数をもって凝集抗体価とした。凝集抗体価は64倍以上を陽性と判定した。

3. 解析方法

OK-432投与後2カ月において測定した免疫学的パラメーターが正常範囲内の値、もしくは陽性を示した群(以下正常値群)と示さなかった群(以下異常値群)の二群間において生存期間、生存率を比較した。生存

期間は治療開始から死亡までの月数で表わし、生存率の検討には Kaplan-Meier 法を用い Cox-Mantel 法で検定した。

OK-432投与前、および投与後2カ月において測定した免疫学的パラメーター相互間、および免疫学的パラメーターと生存月数との間の相関についても検定した。

成 績

1. 末梢血白血球数と予後(図1)

50%生存期間は正常値群8カ月、異常値群5カ月で正常値群の生存率は有意(p<0.05)に優れていた。

2. 末梢血リンパ球数、T-cell 比と予後(図2, 3)

末梢血リンパ球数についてみると、50%生存期間では正常値群10カ月、異常値群5カ月で正常値群の生存率は有意(p<0.01)に優れていた。しかしその T-cell 比についてみると正常値群と異常値群の50%生存期間、生存率には有意の差は認められなかった。

図1 末梢血白血球数と予後

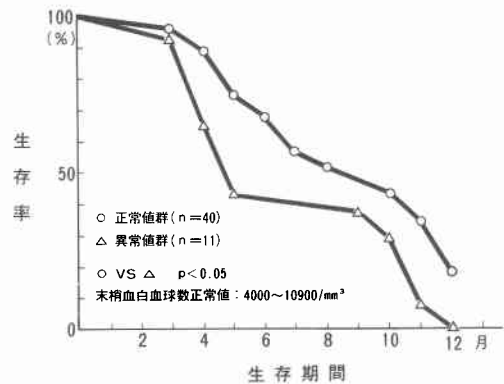


図2 末梢血リンパ球数と予後

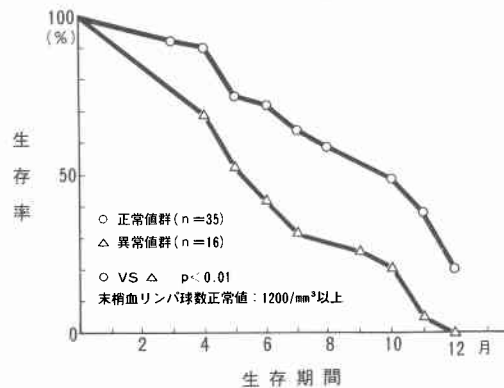


図3 末梢リンパ球の T-cell 比と予後

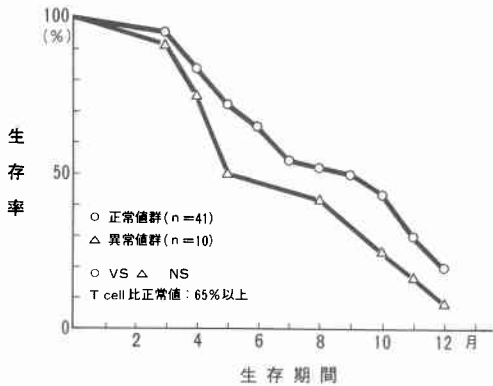
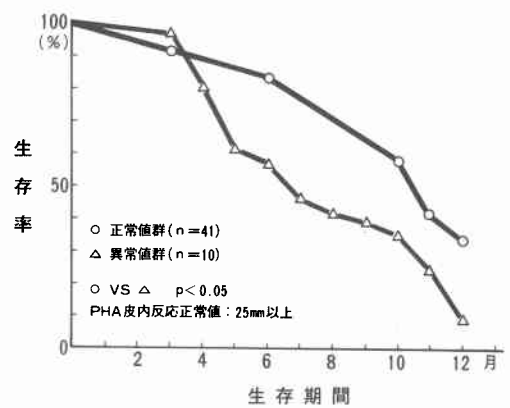


図5 PHA 皮内反応と予後



3. 皮内反応と予後

PPD 皮内反応についてみると、50%生存期間は正常値群11カ月、異常値群5カ月で正常値群の生存率は有意 ($p < 0.01$) に優れていた (図4)。

PHA 皮内反応についてみると、50%生存期間は正常値群11カ月、異常値群7カ月で正常値群の生存率は有意 ($p < 0.05$) に優れていた (図5)。

Su-PS 皮内反応についてみると、50%生存期間は正常値群12カ月、異常値群5カ月で正常値群の生存率は有意 ($p < 0.001$) に優れていた (図6)。

4. 溶連菌菌体凝集抗体価と予後

50%生存期間では、正常値群11カ月、異常値群5カ月に正常値群の生存率は有意 ($p < 0.001$) に優れていた (図7)。

5. 免疫学的パラメーター相互間の相関

OK-432投与前では、溶連菌菌体凝集抗体価とPPD、PHA 皮内反応、ならびに末梢血白血球数と末梢血リンパ球数に有意の相関が認められた (表1)。

図4 PPD 皮内反応と予後

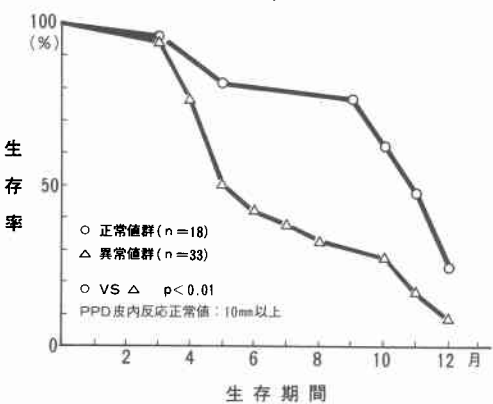


図6 Su-PS 皮内反応と予後

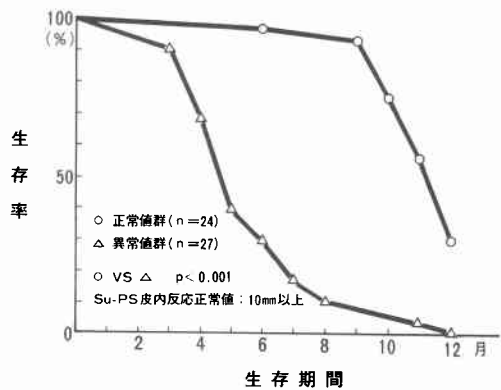
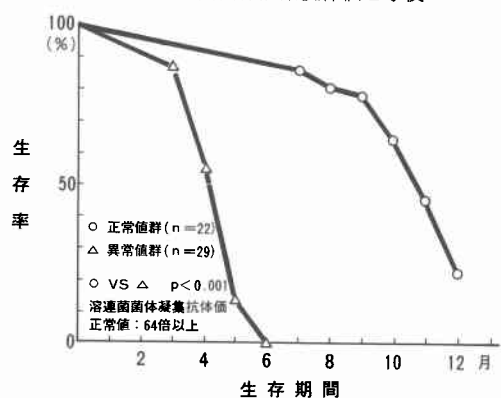


図7 溶連菌菌体凝集抗体価と予後



OK-432投与開始後2カ月では、PPD 皮内反応と末梢血白血球数、Su-PS 皮内反応、溶連菌菌体凝集抗体価ならびに Su-PS 皮内反応と溶連菌菌体凝集抗体価に有意の相関が認められた (表2)。

6. 免疫学的パラメーターと生存期間の相関

表1 免疫学的パラメーターと生存期間の相関 (OK-432投与前, n=51)

PPD	1.000							
PHA	-0.0169	1.000						
Su-PS	0.2483	0.0226	1.000					
WBC	0.1356	0.0056	0.0601	1.000				
lymp.	0.0076	0.0646	-0.1227	0.3125	1.000			
T cell 比	0.0008	0.0957	0.0372	0.1229	0.0088	1.000		
凝集抗体価	0.3902	0.2768	0.0480	0.2205	-0.0187	-0.1862	1.000	
生存月数	0.1104	0.1933	0.0269	-0.1092	-0.0887	0.0354	0.1905	1.000
	PPD	PHA	Su-PS	WBC	lymp.	T cell 比	凝集抗体価	生存月数

* P<0.05
 ** P<0.01
 *** P<0.001

表2 免疫学的パラメーターと生存期間の相関 (OK-432投与開始後2カ月, n=51)

PPD	1.0000							
PHA	0.2365	1.0000						
Su-PS	0.4804	0.2592	1.0000					
WBC	0.4839	0.1640	0.1614	1.0000				
lymp.	0.1804	0.1520	0.1938	0.2264	1.0000			
T cell 比	-0.1676	0.0770	-0.2267	0.0034	-0.0139	1.0000		
凝集抗体価	0.3213	0.2257	0.4085	0.1863	0.0583	0.0352	1.0000	
生存月数	0.3182	0.3300	0.6412	0.1906	0.2739	0.0812	0.6653	1.0000
	PPD	PHA	Su-PS	WBC	lymp.	T cell 比	凝集抗体価	生存月数

* P<0.05
 ** P<0.01
 *** P<0.001

OK-432投与前に測定された免疫学的パラメーターは生存期間と有意の相関は認められなかった。しかしOK-432投与開始後2カ月に測定された免疫学的パラメーターでは、末梢血白血球数、末梢血リンパ球のT-cell比を除くすべてが生存期間と有意の相関を示した。特にSu-PS皮内反応、溶連菌菌体凝集抗体価は極めて高い相関(p<0.001)を示した(表1, 2)。

考 察

悪性腫瘍に対する免疫療法の有効性は担癌患者における免疫学的パラメーターの変動によってではなく生存期間の比較によつて評価されなければならない。しかし、治療経過中に担癌患者の免疫機能、特に腫瘍免疫の上で重要な細胞性免疫の状態を把握することにより予後を推定することもまた重要であり、そのためにはin vivoやin vitroの免疫学的パラメーターの測定が必要となる。多くの免疫学的機能検査が行われているが、測定手技の複雑なことや担癌患者の免疫能との関連が不明確な点に問題を残しており、現在においても簡単に行えしかも担癌患者の免疫能を忠実に反映する免疫学的パラメーターは確立されていない。また細

胞性免疫の担癌生体内における成立と発現にはいくつかの段階がありそれぞれ異った免疫担当細胞が関与していると考えられるので、一つの免疫学的パラメーターにより担癌患者の免疫能の全貌を知ることは困難であり、むしろいくつかの異った免疫学的パラメーターを用いて総合的に判断することが必要であろう。

本稿では特殊な技術、設備を必要とせず手軽に測定可能な免疫学的パラメーターを予後との関連において再検討した。

生体が本来そなえているエフェクター機構の中で細胞性免疫のはたす役割は極めて大きい。担癌生体における末梢血白血球数、特に末梢血リンパ球数とそのT-cell比の低下、suppressor T-cellの増加による細胞性免疫能の障害は悪性腫瘍の増殖を助け予後を不良にする要因と考えられるので、リンパ球の数と機能は担癌患者の予後推定に重要であると考えられる。我々の症例においても、末梢血白血球数、末梢血リンパ球数の正常値群が異常値群に比較し有意に良好な生存率を示し、特に末梢血リンパ球数は生存期間と有意の相関をみせているので、両者ともに予後を知る指標として有用である。

末梢血リンパ球のT-cell比において、正常値群と異常値群との間に生存期間、生存率ともに有意の差が得られなかったことは、担癌生体の細胞性免疫能を知るためには、従来測定されているT-cell比では不十分であることを示している。今後はT-cellのsubset、特にKiller Tやsuppressor T-cellの数と機能を簡単な方法で知ることのできる免疫学的パラメーターの実用化が早急に必要であろう。

細胞性免疫能検査としてin vivoで行える各種抗原を用いた遅延型皮膚アレルギー反応が用いられている。手技は簡単で患者の負担も少い実用的な検査法であるが、細胞性免疫の生体内表現には種々の様式があり、それぞれ異ったT-cellのsubsetに担われていると考えられ、遅延型皮膚アレルギー反応を起す能力と標的細胞障害機能との間には解離がありうるので、その判定には慎重であらねばならない。

PPD皮内反応は結核菌感染の多い我国では感作の有無は大きな問題とはならず、担癌生体において陽性率が低下し、手術や免疫療法により陽転する例のみられること¹²⁾、他の免疫学的パラメーターと良く相関し予後推定にも重要であることが諸家により報告¹³⁾されている。

PHA皮内反応は使用するPHAの純度に問題があ

り T-cell が mitogen である PHA により in vivo で活性化されて発赤を生ずると云う本来の反応機構以外の何かが PHA 皮内反応に関与している可能性があるが、recall antigen とは異なり感作の有無に対する懸念が必要なく、くりかえし行うことができ、PHA を用いたリンパ球幼若化反応とよく相関する¹⁴⁾という報告もある。我々の Wellcome 社製 purified PHA を用いた成績では、PPD 皮内反応と同様に生存率と有意の関連が認められたので、良質の PHA を用いるならば臨床信頼できる免疫学的パラメーターとなりうるであろう。

Su-PS 皮内反応は PPD 皮内反応と同様に recall antigen による遅延型皮膚アレルギー反応である。渡辺¹⁵⁾によれば Su-PS 皮内反応は健康人では大部分陽性を呈するが進行癌患者では反応の低下が認められ病期の進行と一致するので宿主の担癌状態を知る上で重要である。大山¹⁶⁾も OK-432 の長期投与例の分析から Su-PS 皮内反応は OK-432 の効果が認められない症例では陰性にとどまること、臨床症状の改善がみられる時期には陽性化し、悪化して重篤となる時期には反応が低下すると述べている。我々の症例では、Su-PS 皮内反応は生存期間、生存率と最も密接な関連を示した。このことは、Su-PS 皮内反応が、担癌生体の OK-432 による感作の程度を知る上で有用であるのみならず細胞性免疫能を把握し予後を判定するためにも優れた免疫学的パラメーターであることを示している。

腫瘍免疫の主体は細胞性免疫であるとされているが、抗体と補体による腫瘍細胞障害機能を持つ体液性免疫もまた重要であると考えられるので免疫療法を行う場合には体液性免疫のパラメーターをも測定することが望ましい。溶連菌菌体凝集抗体価は担癌生体の体液性免疫能を反映する指標であるが、同時に OK-432 の補体活性化¹⁷⁾や抗体産生能促進¹⁸⁾の効果をj知る免疫学的パラメーターであると考えられる。我々の検討においても、溶連菌菌体凝集抗体価は Su-PS 皮内反応と同様に予後と極めて密接な関連をみせており、大山の報告¹⁶⁾においても同様の結果が得られているので、信頼できる免疫学的パラメーターと云えるであろう。

結 語

OK-432 による免疫療法を施行した手術不能消化器癌患者51名において測定した末梢血白血球数、末梢血リンパ球数とその T-cell 比、PPD、PHA、Su-PS 皮内反応、溶連菌菌体凝集抗体価と治療開始後生存期間を推計学的に検討し、以下の結論を得た。

1) 末梢血リンパ球の T-cell 比を除いた他のすべての免疫学的パラメーターにおいて、正常値群は異常値群に比較し有意に優れた生存率を示した。

2) 免疫学的パラメーターはそれぞれ独立して変動しており互いに有意の相関を示すことは少いので、担癌生体の免疫能を判定する場合にはいくつかの免疫学的パラメーターから総合的に判断することが望ましい。

3) 末梢血白血球数、末梢血リンパ球の T-cell 比を除いた他のすべての免疫学的パラメーターは生存期間と有意の相関を示した。

就中 Su 株溶連菌からの抽出物を用いた Su-PS 皮内反応と溶連菌菌体凝集抗体価は生存期間と極めて高い相関を示しているので、OK-432 の免疫療法における予後判定に際しては必ず測定すべき免疫学的パラメーターと考えられる。

文 献

- 1) Mathe G, Amiel JL, Schwarzenberg L et al: Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 1: 697—699, 1969
- 2) Morton DL, Eilber FR, Malmgren RA et al: Immunological factors which influence to immunotherapy in malignant melanoma. *Surgery* 68: 158—164, 1970
- 3) Okamoto H, Shoin S, Koshimura S et al: Studies on the anticancer and Streptolysin S-forming abilities of hemolytic streptococci. *Jpn J Microbiol* 11: 323—336, 1967
- 4) Sokal JE, Aungst CW: Response to BCG vaccination and survival in advanced Hodgkin's disease. *Cancer* 24: 128—134, 1969
- 5) Ramot B, Biniaminov M, Shoham CH et al: The effect of levamisole on E-rosette forming cells in vivo and in vitro in Hodgkin's disease patients. *New Engl J Med* 294: 809—811, 1976
- 6) 安元公正, 真鍋英夫, 柳川悦朗ほか: 患者の免疫能と BCG-CWS 免疫療法. *日胸外会誌* 27: 449—451, 1979
- 7) Cough IR, Furnival CM: *Corynebacterium parvum* and hyperthermia. *Lancet* 10: 999—1000, 1978
- 8) Uchida A, Hoshino T: Clinical studies on cell-mediated immunity in patients with malignant disease, 1. Effect of immunotherapy with OK-432 on lymphocyte subpopulation and phytomitogen responsiveness in vitro. *Cancer* 45: 476—483, 1979
- 9) Sakurai Y, Tsukagoshi S, Satoh H et al: Tumor-inhibitory effect of a streptococcal

- preparation (NSC-B116209). *Cancer Chemotherapy Reports Part 1* 56: 9-17, 1972
- 10) Kimura I, Ohnoshi T, Kasubara S et al: Immunotherapy in human lung cancer using the streptococcal agent OK-432. *Cancer* 37: 2201-2203, 1976
 - 11) 山村雄一: 癌免疫-将来への可能性-. *臨科学* 15: 1513-1515, 1979
 - 12) Hughes LE, Mackay WD: Suppression of the tuberculin response in malignant disease. *Br Med J* 2: 1346-1348, 1965
 - 13) 古江 尚, 込田暉夫, 箱崎美砂子ほか: 癌化学療法, ならびに免疫療法下での免疫学的パラメータに関する研究, 第4報. PPD反応と他のパラメータとの相関. *癌と化療* 7: 1862-1867, 1980
 - 14) 村山英樹, 若杉 尋, 宮田道夫ほか: 胃癌患者における免疫学的指標の評価-手術前後における皮膚反応を中心として-. *癌の臨* 26: 1634-1640, 1980
 - 15) 渡辺洋宇, 山田哲司, 小林弘明ほか: OK-432による免疫療法に際してのSU-ポリサッカライド皮膚反応の意義. *癌と化療* 8: 1076-1083, 1981
 - 16) 大山 馨, 金木美智子, 日比輝彦ほか: 溶連菌製剤OK-432投与による臨床試験における免疫学的検討. *癌の臨* 21: 257-263, 1975
 - 17) 西垣逸郎, 加藤活樹, 香川恵三ほか: 溶連菌製剤OK-432の免疫賦活作用-高齢者におけるPHA skin testと補体系の検討-. *癌と化療* 3: 723-728, 1976
 - 18) 近藤元治: 癌免疫療法. 京都, 金芳堂, 1980, p53-60