

## 胃癌と免疫複合体

鳥取大学第1外科

尾崎 行男 池田 芳明 水沢 清昭 小田 正之  
狩野 卓夫 山根 歳章 浜副 隆一 金山 博友  
清水 法男 前田 迪郎 古賀 成昌

### CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN GASTRIC CANCER

Yukio OSAKI, Yosiaki IKEDA, Kiyooki MIZUSAWA

Masayuki ODA, Takuo KARINO, Tosiaki YAMANE

Ryuichi HAMAZOE, Hiroto KANAYAMA, Norio SHIMIZU

Michio MAETA and Shigemasa KOGA

First Department of Surgery, Tottori University School of Medicine

3.5%PEG 沈殿法により胃癌患者70例の血中 immune complex (IC) の測定を行い、ほかの免疫パラメーターとの相関、および *in vitro* でのリンパ球幼若化反応に及ぼす影響について検討した。胃癌患者の IC 値は進行度が進むに従って増加し、健康人 ( $0.479 \pm 0.06$ ,  $n=20$ ) に比べ stage III ( $0.563 \pm 0.115$ ,  $n=17$ ), stage IV ( $0.569 \pm 0.111$ ,  $n=17$ ), 再発例 ( $0.609 \pm 0.095$ ,  $n=6$ ) では有意に IC 値は高値を示した ( $p < 0.01$ )。健康人の PHA リンパ球幼若化反応は胃癌患者血清より得られた 3.5%PEG 沈殿 IC を添加することにより強く抑制され、蛋白量との間に負の相関関係を認めた ( $r = -0.714$ ,  $n=13$ )。以上のことより癌患者の血中 IC 測定は担癌宿主の病態を把握する上に有用と考えられた。

索引用語：胃癌，血清免疫抑制因子，免疫複合体

癌患者血中の immune complex (以下 IC と略) は担癌宿主の免疫能を低下させる、いわゆる blocking factor として、重要な役割を演じているとされ、これまで数多くの報告が見られる<sup>1)</sup>。われわれもすでに 3.5% polyethylene glycol (PEG) 沈殿法により消化器癌、とくに胃癌を中心に血清中の IC を測定し、その有用性について報告した<sup>2)</sup>。今回、3.5%PEG 沈殿法により胃癌患者の IC を測定し、ほかの免疫パラメーターとの相関、および *in vitro* での lymphoid blastogenesis に及ぼす影響について検討したので報告する。

#### 対象と方法

##### 1. 対象

昭和57年1月より昭和57年12月までに鳥取大学第1外科で入院加療をうけた胃癌72例(stage I 25例, stage II 7例, stage III 17例, stage IV 17例, 再発例6例)を対象とした。

##### 2. 方法

immune complex (IC) の測定：3.5%PEG 沈殿法<sup>3)</sup>にて測定した。すなわち、患者より得られた血清を0.1 M ホウ酸緩衝液(pH 8.4)で25倍に稀釈し、同量の7% PEG 溶液と混合し、4℃下で18~24時間放置した。4℃下で2,000g, 60分間遠沈後、上清を捨て、沈殿物に3.5%PEG 溶液を加え、再び2,000g, 60分間遠沈し洗淨した。この沈殿物の蛋白量を Lowry 法で OD 750nm で測定し、蛋白量を吸光度で表現し、IC 量とした。

免疫グロブリンの測定：血中 IgA, G, M は Nephelometry (Hyland) で、IgE は radioimmunoassay で測定された。

CEA の測定：carcinoembryonic antigen (CEA) の測定には Roche 社製キットを用い、Z-Gel 法で測定した。

IAP の測定：immunosuppressive acidic protein (IAP) の測定にはアイエイプレート(細菌化学研究所, 仙台)を使用し、single radial immunodiffusion 法で測定した。

PHA・PPD皮内反応：PHA皮内反応では、PHA-P (Difco) 10 $\mu$ gを、PPD皮内反応ではPPD (日本BCG K.K.) 0.05 $\mu$ gをそれぞれ前腕皮内に注射し、24時間後の発赤の長・短径を計測し、その平均をPPD・PHA皮内反応値とした。

リンパ球のPHA・Con A添加 blastogenesis：健常人末梢血よりFicoll-Conray比重遠沈法より分離したリンパ球1 $\times$ 10<sup>6</sup>個/0.2mlにPHA-Pの3 $\mu$ g/20 $\mu$ l、あるいはCon Aの2 $\mu$ g/20 $\mu$ lを加えた。ついで胃癌患者の血清20 $\mu$ lあるいは胃癌患者血清より得られた3.5% PEG沈殿蛋白を添加し、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>下で3日間培養した。これに<sup>3</sup>H-thymidine 0.5 $\mu$ Ci/20 $\mu$ lを加え、さらに24時間培養後 cell harvest し、<sup>3</sup>H-thymidine uptake を count した。

成績

1. 胃癌の進行度と術前IC値

健常人 (n=20) のIC値は0.479 $\pm$ 0.06、胃良性疾患 (n=8) では0.468 $\pm$ 0.102、胃癌 stage I (n=25) では0.525 $\pm$ 0.102、stage II (n=7) では0.525 $\pm$ 0.074、stage III (n=17) では0.563 $\pm$ 0.115、stage IV (n=17) では0.569 $\pm$ 0.111、胃癌再発例 (n=6) では0.609 $\pm$ 0.095と stageが進むに従い、IC値は高値を示した。健常人に比べ、胃癌 stage III, IV, 再発例では有意にIC値は高値を示した (図1)。

2. Ig値とIC値との関係

術前に血中IgA, G, Mを測定しえた56例について、ICとの関係をみた。IgAとは相関係数 r=0.3580 (p<0.01)、IgGとは r=0.3752 (p<0.01) IgMとは r=0.0561であった。IgEを測定しえた43例について、ICとの関係をみると、r=0.3894 (p<0.02) で、IgA, G, EとIC値との間に有意の正の相関を認めしたが、IgM

とICとの関係ではICが軽度増加すると、IgM値もともに増加するが、IC値が0.60以上になると、かえってIgMは減少する傾向を認めた (図2)。

3. CEA値とIC値との関係

術前にCEAを測定した症例のうち、CEA値が20ng/ml以下の症例について、CEA値とIC値との相関をみた。相関係数 r=0.3233 (p<0.02) とCEAとICとの間に有意の正の相関を認めた (図3)。

4. IAP値とIC値

術前にIAPを測定しえた62例について、IAPとICとの相関をみた。相関係数 r=0.6948 (p<0.01) とIAPとICとの間にかなり強い正の相関を認めた (図4)。

5. PPD・PHA皮内反応値とIC値

PPD・PHA皮内反応を術前に行った43例について、ICとの関係をみた。PPD皮内反応値とは、r=-0.1382、PHA皮内反応値とは r=0.0583で、ともに有意の相関は認められなかった。

6. 胃癌患者血清添加時の健常人リンパ球 blastogenesis とIC値

図1 胃癌患者の進行度とIC値

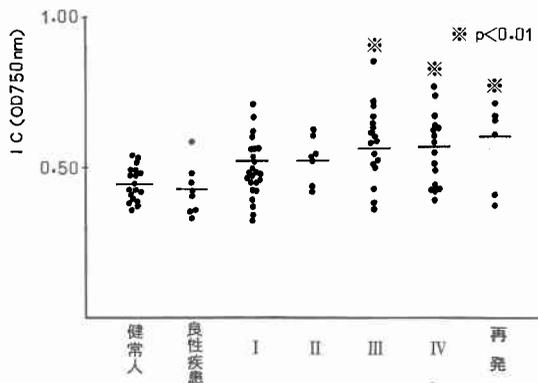


図2 胃癌患者血中Ig値とIC値

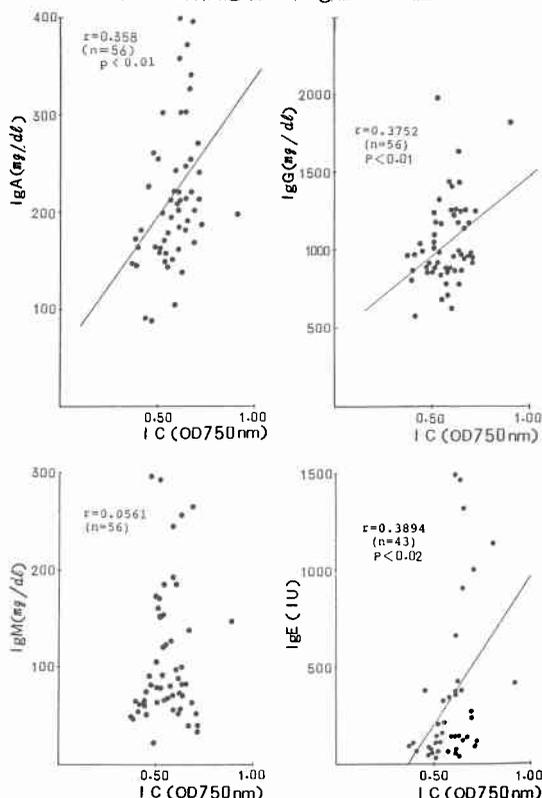


図3 胃癌患者血中CEA値とIC値 (CEA 20ng/ml以下の症例)

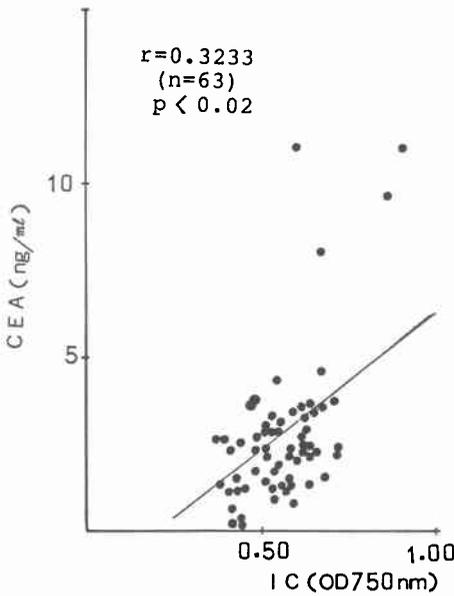


図4 胃癌患者血中のIAP値とIC値

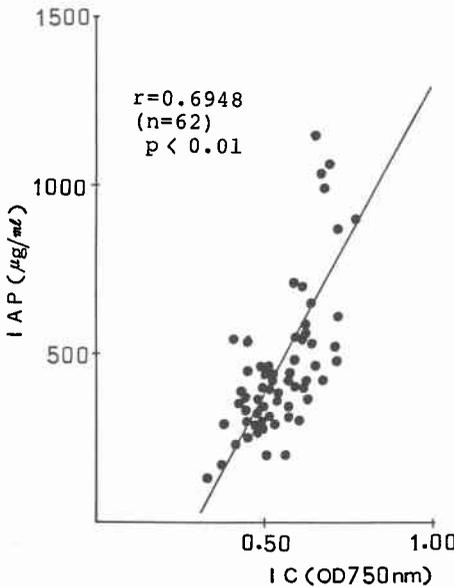


図5 健常人リンパ球 blastogenesis に及ぼす胃癌患者血清添加の影響

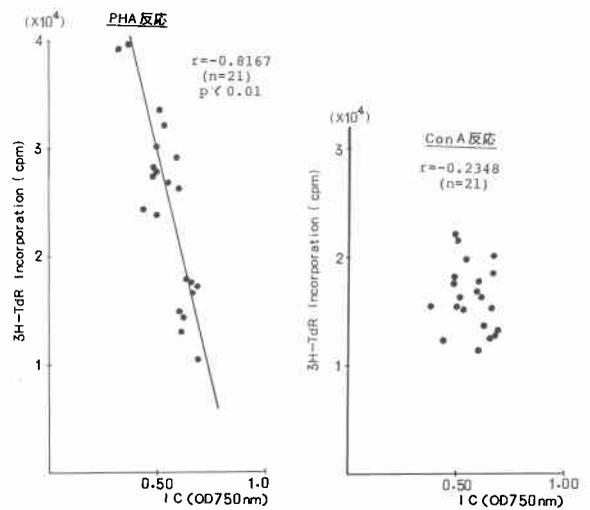
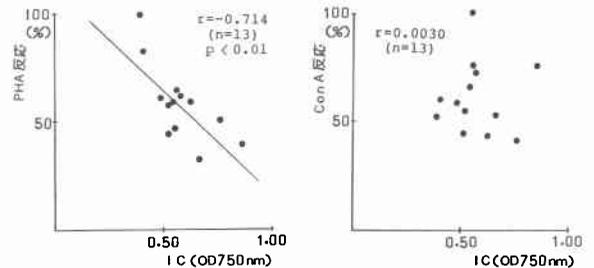


図6 健常人リンパ球 blastogenesis に及ぼす3.5% PEG沈殿蛋白添加の影響



### 7. 健常人リンパ球 blastogenesis に及ぼす胃癌患者の3.5%PEG沈殿蛋白添加の影響

胃癌患者血清より3.5%PEG沈殿法にて得たICを健常人のPHA, Con Aリンパ球 blastogenesisに加えた場合の反応をみた。健常人AB血清添加時を100%とし、PEG沈殿ICを加えた場合の反応を%で表わした。図6に示すように、添加したIC濃度とPHA反応との間に推計学的に有意の負の相関を認めた。一方、Con A反応ではPEG沈殿IC添加により反応は抑制されたが、IC量との間に有意の相関は認められなかった。

### 考 察

circulating immune complex (IC)の検出には種々の方法が開発されているが、現在のところ、優れた特異的な方法はなく、いずれの方法も immune complexの一面のみを表現しているとされている。最近、各種

健常人リンパ球のPHA・ConA induced lymphoid blastogenesisに胃癌患者血清を加えた場合の反応と、その血清中のIC値との関係を見た。図5に示すように、PHA反応では添加した胃癌患者血清中のIC値と強い負の相関を認めたが、Con A反応では認められなかった。

疾患の immune complex を種々の方法で測定し、比較検討した報告が散見される<sup>4)~6)</sup>。Füst らは肺癌患者の immune complex を19種類の方法で測定した結果、各種方法間の相関性は低く、これらの方法のうち、肺癌患者血中の immune complex を表現するのに、EA-rosette inhibition assay, ADCC inhibition assay, PEG-C<sub>3</sub> assay の3つの方法がよく病態を表わしており、Fc receptor dependent assay が肺癌患者の IC 測定に適していると報告している<sup>5)</sup>。われわれの行った 3.5%PEG 沈殿法は Digeon らにより報告された方法で<sup>3)</sup>、IC とか aggregated IgG のような分子量の大きな蛋白を沈殿させる方法であるため、IC 以外の蛋白も含まれ、IC-specific な方法ではないが、きわめて簡便で実地臨床上の screening test として有用である<sup>2)</sup>。

3.5%PEG 沈殿法とほかの IC 測定法との相関について、Digeon ら<sup>3)</sup>は 3.5%PEG 沈殿法と Clq-binding test との間に、Füst ら<sup>4)</sup>は 3.5%PEG 沈殿法と platelet aggregation test、腹腔マクロファージの aggregated IgG 摂取阻止能 (MA-UI) との間に正の相関を認めたと報告している。最近、IC 測定には 3% PEG 沈殿蛋白中の IgG、C<sub>3</sub> を測定する方法が有用であるとする報告があり<sup>7)</sup>、われわれも現在、3.5%PEG 沈殿法と 3% PEG-IgG、C<sub>3</sub> との相関性を検索中である。

IC と血清中 immunoglobulin との相関についてのわれわれの検索では、IgA、G、E との間に正の相関を認めた。腫瘍関連抗原と結合する Ig についての報告は比較的少ないが<sup>9)~12)</sup>、消化器癌の場合には、局所免疫の上から IgA-immune complex や好酸球浸潤癌の場合の IgE-immune complex の検索が興味深いところである。われわれは現在 PEG 沈殿蛋白の分析を行い、消化器癌での局所免疫と IC との関連を検索中である。癌患者血中の IC は癌特異抗原と抗体との複合体と考えられるが、しばしば正常細胞、細胞成分に対する抗体が関与している場合がある<sup>13)~15)</sup>。また、抗原については多くの場合、不明であるが、現在のところ、腫瘍マーカーとしてよく検索されている CEA との immune complex の報告が見られる程度である。Staab ら<sup>16)</sup>は消化器癌患者の血中 free-CEA 値と CEA-immune complex 値との間に正の相関関係が認められ、CEA-immune complex 陽性の症例は予後不良であったと報告している。われわれは以前、胃癌患者血中の CEA 値と IC 値を比較し、相関関係は認められなかったと報告したが<sup>2)</sup>、今回、症例数を増やし、CEA 20ng/ml 以下の症例に限定してみた場合、IC 値と CEA 値と

の間に正の相関が認められた。

immunosuppressive acidic protein (IAP) は癌患者血中に増加する免疫抑制因子の1つとして臨床的に認められている酸性糖蛋白である<sup>17)</sup>。この IAP の産生部位は現在のところ不明であるが、柴田ら<sup>18)</sup>によると、in vitro の検索では carageenan や immune complex の刺激により、macrophage や好中球から産生されるとされている。今回、われわれの検索より胃癌患者の血中 IAP と IC との間に有意の正の相関を認めたことより、IAP と IC との間に何らかの関係のあることが示唆される。

癌患者の血中 IC は宿主に免疫抑制作用を及ぼす大きな血清因子とされているが、人癌における IC の mitogen induced lymphoid blastogenesis に及ぼす作用についての報告は少ない。われわれは健康人リンパ球の PHA・Con A induced lymphoid blastogenesis に胃癌患者血清より得た 3.5%PEG 沈殿 IC を加えた場合、PHA・ConA 反応はともに強く抑制され、PHA 反応では添加蛋白の IC 濃度との間に有意の負の相関を認めた。非特異的 mitogen によるリンパ球 blastogenesis に対する immune complex の抑制には、リンパ球表面の Fc レセプターと IC の Fc 部分の結合が必要とされている<sup>19)20)</sup>。鈴木ら<sup>19)</sup>は正常人リンパ球の mitogen 刺激 blastogenesis は SLE 患者血清の添加により強く抑制され、その程度は血中 IC 値と逆相関にあり、また、aggregated IgG 添加による抑制からみて、Con A 反応の抑制は Fc レセプターを介しての作用と考えられるが、PHA 反応の場合には非特異的抑制であったと報告している。われわれの検索で、Con A 反応と PEG 沈殿 IC 量との間に逆相関が認められなかったのは、responder cell が健康人リンパ球のため、Fc レセプター陽性 T リンパ球が少ないためと推察される。

このように癌患者における IC は IAP のような免疫抑制因子の産生に何らかの関係があるとともに、IC 自体が宿主の免疫能を低下させて役割を演じていると推察され、癌患者の IC 測定は担癌宿主の病態を把握する上に有用なものと考えられる。

#### まとめ

1. 3.5%PEG 沈殿法により、胃癌患者血中の immune complex (IC) の測定を行った。
2. 胃癌患者の術前 IC 値は健康人に比べ、stage III, IV, 再発例に有意に高値を示した。
3. IC 値は血中 IAP, CEA, IgA, IgG, IgE との間に

推計学的に有意の正の相関を示した。

4. 健常人の PHA induced lymphoid blastogenesis は胃癌患者血清より得た3.5%PEG 沈殿 IC 添加により抑制され、蛋白量と負の相関関係を認めた。

5. 以上より、癌患者の血中 IC 測定は担癌宿主の病態を把握する上に有用なものと思われた。

本研究の一部は文部省科学研究費によったものである。

#### 文 献

- 1) 漆崎一朗, 石谷邦彦: 癌における免疫複合体. 最新医 39: 917-926, 1981
- 2) 尾崎行男, 牧野正人, 池口正英ほか: 胃癌患者血中の circulating immune complex 測定の意義. 癌の臨 28: 296-300, 1982
- 3) Digeon M, Laver M, Ria J et al: Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol. J Immunol Methods 16: 165-183, 1977
- 4) Füst G, Kawai M, Szegedi G et al: Evaluation of different methods for detecting circulating immune complexes. An inter-laboratory study. J Immunol Methods 38: 281-289, 1980
- 5) Füst G, Fekete B, Angyal I et al: Evaluation of different methods for detecting circulating immune complexes. Studies in patients with lung cancer. J Immunol Methods 46: 259-276, 1981
- 6) Herberman RB, Bordes M, Lambert PH et al: Report on international comparative evaluation of possible value of assays for immune complexes for diagnosis of human breast cancer. Int J Cancer 27: 569-576, 1981
- 7) Johny KV, Dasgupta MK, Nakashima S et al: Three polyethylene glycol dependent methods for the detection of circulating immune complexes in pathological sera. Comparison with the Raji cell methods J Immunol Methods 40: 61-71, 1981
- 8) Fekete B, Füst G, Angyal I et al: Clinical correlates of circulating immune complex levels in advanced lung cancer. Oncology 40: 106-110, 1983
- 9) Maidment BW, Papsidero LD, Nemoto T et al: Recovery of immunological reactive antibodies and antigens from breast cancer immune complex by preparative isoelectric focusing. Cancer Res 41: 795-800, 1981
- 10) Balint J, Nagai T, Ikeda Y et al: IgA containing immune complexes in dogs bearing a spontaneous mammary adenocarcinoma. Clin Exp Immunol 49: 433-440, 1982
- 11) Gyure LA, Bean CJ, Hall JG et al: Tumor-specific antibodies of the IgA class in rats after the implantation of a syngeneic tumor in the gut. Br J Cancer 41: 640-641, 1980
- 12) Berczi I, Holford-Strevens V, Warsi ZH et al: Tumor-reactive IgE antibodies in plasma of patients with gastrointestinal carcinomas. Cancer Immunol Immunother 14: 180-184, 1983
- 13) 谷内 昭, 川原田信: 癌と免疫複合体. 臨免疫 15: 39-46, 1983
- 14) Gilead Z, Hatzubai A, Sulitzeanu D: Antigens in immune complexes from patients with breast cancer. Cancer Immunol Immunother 13: 153-157, 1982
- 15) Guy K, Mario UDI, Irvine WJ et al: Circulating immune complexes and autoantibodies in lung cancer. Br J Cancer 43: 276-283, 1981
- 16) Staab HJ, Anderer FA, Stumpf E et al: Are circulating immune complexes a prognostic marker in patients with carcinoma of the gastrointestinal tract? Br J Cancer 42: 26-33, 1980
- 17) 石田名香雄, 田村啓二, 柴田芳実: 免疫抑制酸性蛋白の性状と癌患者における検出意義. 医のあゆみ 115: 423-433, 1980
- 18) 柴田芳実, 田村啓二, 佐藤良実ほか: 担癌宿主の血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の性状について. 日癌会40回総会記, 112, 1981
- 19) 鈴木秀幸, 大原守弘, 佐藤幹夫ほか: リンパ球の mitogen 刺激反応に及ぼす immune complex の影響. 臨免疫 12: 615-623, 1980
- 20) 粕川禮司, 大原守弘: 免疫複合体のリンパ球機能への影響. 臨免疫 14: 863-870, 1982