

消化器癌患者における血清抑制因子の検討

金沢大学医学部第1外科

山田 哲司 神林 清作 酒徳 光明 前沢 欣充
平野 誠 川浦 幸光 岩 喬

STUDIES ON SDRUM IMMUNOSUPPRESSIVE FACTORS OF PATIENTS WITH GASTRO-INTESTINAL CANCER

Tetsuji YAMADA, Seisaku KANBAYASHI, Komei SAKATOKU,
Yoshimitsu MAEZAWA, Makoto HIRANO, Yoshimitsu KAWAURA
and TAKASHI IWA

Department of Surgery (1), Kanazawa University School of Medicine

消化器癌患者31人を対象として、血中の免疫抑制因子である immunosuppressive acid protein と immune complex を測定し、さらに、immune complex 形成に関与する因子について検討を加えた。1) immunosuppressive acid protein は胃癌で86%、肝癌で100%、大腸癌で82%の陽性率であった。2) immune complex は胃癌で82%、肝癌で100%、大腸癌で16%の陽性率であった。また immune complex 形成に関与する因子として、炎症などによる組織破壊産物が強く関与していると考えられた。

索引用語：免疫抑制物質， immunosuppressive acid protein, immune complex, 酵素抗体法

I. はじめに

担癌生体においては免疫機能の低下が認められるといわれ、われわれもすでに癌患者において細胞性免疫能が低下していることを報告してきた¹⁾²⁾。今回われわれは免疫能を低下させる原因となる免疫抑制因子のうち immunosuppressive acid protein (以下 IAP と略す) と Immune complex (以下 IC と略す) を測定し、さらに IC 形成に関与する抗原について検討を加えたので報告する。

II. 対象および方法

対象は当科に入院、治療を行った各種消化器系悪性腫瘍患者31名である。内訳は胃癌22人、肝癌2人、大腸癌6人の計31名であり、臨床病期はいずれも stage III である。なお対照は健康成人9人で男5人、女4人であり平均年齢は32.5歳である。検体は各種抗癌剤(免疫療法剤も含む)、手術などの治療開始前の早期空腹時、末梢静脈血を採取、血清分離後以下の測定に用いた。

IAP は IAP プレート (細菌化学研究社製) を用い、single adical immunodiffusion 法にて測定した。すなわちマイクロシリンジにてプレート小孔に5ml ずつ血清を注入し、湿潤箱中で37℃、48時間反応させた。反応終了後沈降輪の直径を計測し、基準液の標準直線より IAP 値を求めた。

IC の測定には血清を56℃、30分間非動化、2日間4℃以下に放置した後、20,000×G で20分間遠心して cryoglobulin を除去した。その上清を0.1M ホウ酸緩衝液 (pH 8.4) で25倍に稀釈し、同量の7% polyethylene glycol (以下 PEG と略す) PEG 6,000. J.T. Baker Chemical CO.,) 溶液と混合し、4℃18~24時間放置した。この混合液を20,000×G で20分間遠心した後、沈査をもう一度3.5%PEG 溶液で溶解、遠心した。この沈査を0.1N NaOH で溶解し、沈殿物の蛋白質を Lowry 法にて測定した。

IC より抗原-抗体の分離には血清を33%飽和硫酸法にて、血清中の IgG 画分を採取、少量の Tris-HCl 緩衝液に溶解し、Pro-A Sepharose CL-4B および QAE-50 ion exchanged chromatography による coloum chromatography により抗原と抗体を分離した³⁾。

Microplate を使用した enzyme-linked immunoabsorbent assay は, Völler の方法⁴⁾に改変を加えた方法により行った。一次抗体となる抗血清は各種正常臓器 25%PBS ホモジネート (W/V) を作成して, これを家兎に 5 回免疫後の血清より IgG を採取し実験に使用した。二次抗体は抗モルモット IgG 家兎 IgG-HRPO を使用した。一次抗体, 二次抗体の稀釈濃度は予備実験により決定した。OD 492 は eia reader により計測した。

III. 結 果

IAP 測定の結果は図 1 のごとく胃癌患者は $612 \pm 245 \mu\text{g/ml}$, 肝癌患者は $730 \pm 102 \mu\text{g/ml}$, 大腸癌患者は $660 \pm 305 \mu\text{g/ml}$ であった。

IAP は年齢により正常上限値が異なると思われるが一応 $501 \mu\text{g/ml}$ 以上を異常とした場合の陽性率は表 1 のように胃癌で 86%, 肝癌で 100%, 大腸癌で 82% であった。

IC 測定の結果は図 2 のごとく胃癌患者は $38 \pm 22 \mu\text{g/ml}$, 肝癌患者は $60 \pm 28 \mu\text{g/ml}$, 大腸癌患者は $11 \pm 7 \mu\text{g/ml}$ であった。この方法による健康正常人の平均値は $9 \pm 6 \mu\text{g/ml}$ であったので, $15 \mu\text{g/ml}$ 以上を異常とすれば, 陽性率は表 2 のように胃癌で 82%, 肝癌で 100%, 大腸癌で 16% であった。以上のごとく各種消化器悪性腫瘍患者では, これら 2 種の免疫抑制因子が増加することが判明した。

次いで IC が高値となる原因を検討するため, IC が高値をとった胃癌患者血清中の IC を前述の方法によ

図 2 各種悪性疾患患者の immune complex 値

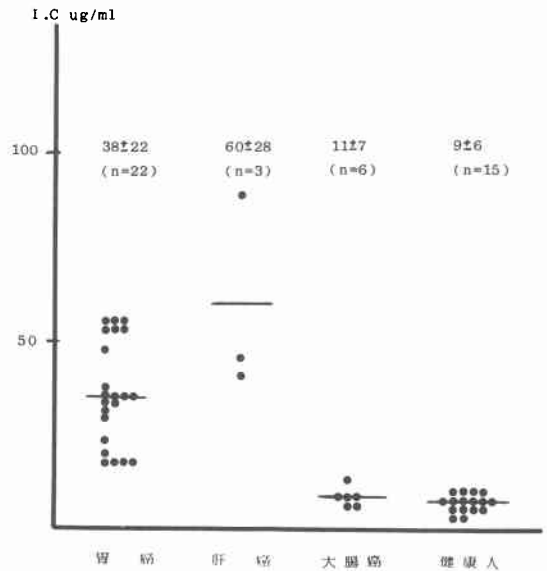


表 1 各種悪性疾患における IAP 陽性率

	症例数	陽性数	陽性率
胃 癌	22	19	86
肝 癌	3	3	100
大 腸 癌	6	5	82

図 1 各種悪性疾患患者の IAP 値

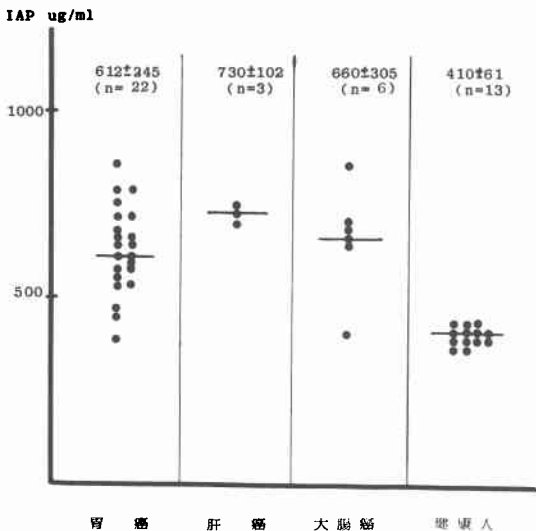


図 3 血清より immune complex の分離法

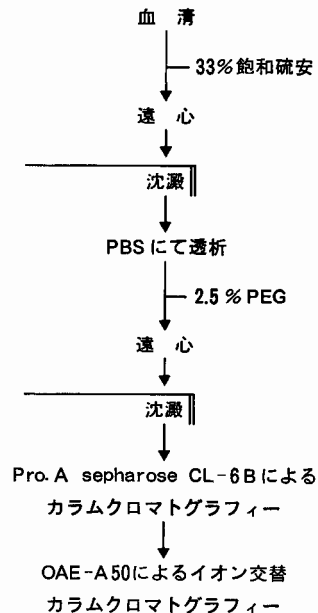


表2 各種悪性疾患におけるI.C陽性率

	症例数	陽性数	陽性率
胃 癌	22	18	82
肝 癌	3	3	100
大腸癌	6	1	16

表3 I.Cより分離した抗原による酵素抗体法の結果

抗 胃 血 清	卅
抗 肺 〃	+
抗 腎 〃	卅
抗 肝 〃	+
抗 脾 〃	卅
抗大腸 〃	+

図4 immune complexのPro. A Sepharose CL-6Bカラムクロマトグラフィーの溶出パターン

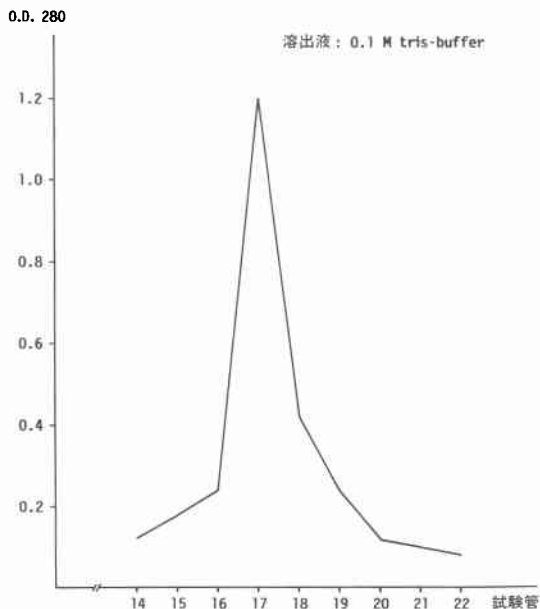
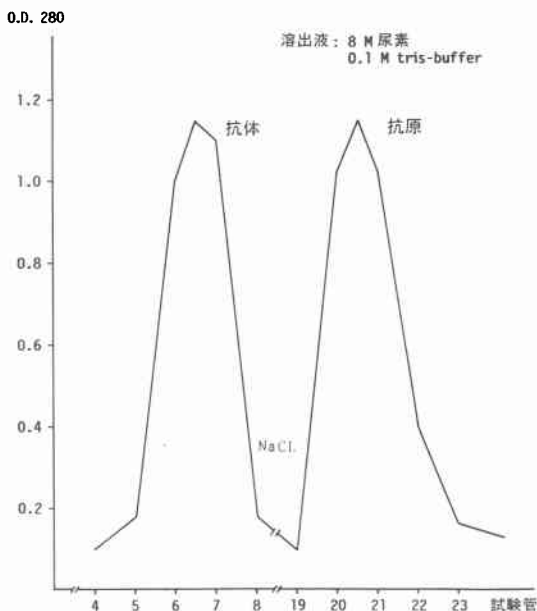


図5 OAE-A50カラムによるImmune Complexから抗原と抗体の分離



原は各種正常臓器抗体と反応性を有していた(表3)。

考 察

IAPは右田らにより発見された⁹⁾もので、分子量は59,000 daltonの酸性蛋白質であり、PHA反応が抑制するなどの免疫抑制作用を有するとされる。しかしこの物質は α_1 AGのsubcomponentであり、癌に特異的なものではないながら、各種癌患者においてIAPは上昇を示すとされ⁹⁾、われわれの成績も同様な結果であった。しかし肝硬変患者においてIAPは低下を示すことが多いとされているに反し、われわれの肝硬変合併肝癌患者ではいずれも高値を示していた。これは古江⁷⁾が感染症を有する場合にはIAPは上昇すると報告しているように、われわれの3症例はいずれもCRP(卅)であり、炎症、感染のためにIAPが高値となったと考えられた。

ICもIAPと同様に癌に特異的なものではなく種々の自己免疫疾患に認められる⁸⁾。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がないのが現状である。再現性においてはCiqによる方法が最も良いといわれる⁹⁾が、われわれの行った方法はICとaggregated IgGのような分子量の大きな蛋白質を沈澱させる方法であるため、IC以外の蛋白質が含まれる可能性があるが簡便であるためス

り抗原と抗体の分離を行った(図3)、Pro-A Sepharose CL-4Bによる溶出パターンは図4のようであり、次いでこのpeakをQAE-50 ion exchanged chromatographyを施行したところ、図5のような溶出パターンをえた。この抗原部分を前述の方法により作成した正常臓器抗体とenzymed linked immunoabsorbent assayを施行したところ、ICより分離した抗

クリーニングとしては有用な方法であると思われた。ICはRaji cell radioimmunoassayを用いたTheofilopodusの報告¹⁰⁾によれば、種々の悪性疾患517例のうち、52%に陽性であったと報告している。われわれの成績でもほぼ同様な陽性率であった。

癌患者において血中ICに関与する抗原、抗体の分離を行いその抗原に検討を加えた報告はない。癌患者においてICが高い原因として、(1) 癌特異抗原・抗体のICが形成されるため、(2) ICを作りやすい個体が癌発生しやすい、(3) 癌発生にともない胎児抗原・抗体が形成されるなどと種々の説明がなされている。われわれの実験結果によれば、IC形成に関与する抗原として臓器抗原がその大部分をしめていた。これは癌の進行にともなって発生する炎症、感染などによる組織破壊産物が血中に流出し、自己抗体を形成することにより増加するものと考えられた。

これらの結果よりIAP, ICなどは癌に特異的なものではないが進行癌で陽性率がきわめて高いことより、癌の早期発見のための腫瘍マーカーとしての役割は低い。経過を追って計測してゆけば患者の病勢診断、術後の経過、再発予知の判定には有力な情報を与えてくれるものと考えられた。

V. まとめ

消化器癌患者の血清中の免疫抑制物質としてのIAP, ICの測定およびIC形成に関与する抗原に分析を加えた。その結果IAP, ICなどは癌早期発見の腫瘍マーカーとなりえないながら、病勢診断には役立つと考えられ術後患者のfollow upには役立つものと考えられた。

文 献

- 1) 山田哲司, 小森吉晴, 村田修一ほか: 肺癌免疫化学療法の研究—リンパ球幼若化反応の推移. 肺癌 19: 331—341, 1979
- 2) 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-ポリサッカライド反応の意義. 癌と化療 8: 1076—1083, 1981
- 3) Cronin WJ, Dorsett BH, Loachim HL: Isolation of lung carcinoma-associated antibodies from immune complex and production of heterologous antisera. Cancer Res 42: 292—300, 1982
- 4) Voller A, Bidwell DE: Enzyme-immunoassays for antibodies in measles, cytomegalovirus infections and after rubella vaccination. Br J Exp Pathol 57: 243—247, 1976
- 5) 石田名香雄: 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
- 6) 松田好夫, 田村啓二, 北目文郎ほか: 癌患者血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白(IAP)の性状と免疫抑制活性. 医のあゆみ 105: 154—157, 1978
- 7) 古江 尚, 込田暉夫, 大山祐子ほか: 癌の化学療法ならびに免疫療法下での免疫学的パラメーターに関する研究. 癌と化療 6: 177—184, 1979
- 8) Brunneau CD, Edmonds JP, Hughes GPV et al: Detection and characterization of DNA-anti DNA complexes in a patients with systemic lupus erythematosus. Clin Exp Immunol 28: 433—436, 1977
- 9) Svehag SE: A solid-phase radioimmunoassay for Clq-binding immune complex. Scand J Immunol 4: 687—698, 1975
- 10) Theofilopoulos AN, Andreus BS, Urist MM et al: The nature of immune complex in human cancer sera. J Immunol 119: 657—663, 1977