

硬変併存肝癌における OK-432投与による臨床免疫学的検討

宮崎医科大学第1外科

小野二六一 崎浜 国治 近藤 千博 香月 武人

CLINICAL IMMUNOLOGICAL STUDIES OF OK-432 THERAPY IN PATIENTS WITH HEPATOMA ACCOMPANIED BY LIVER CIRRHOSIS

Jiroichi ONO, Kuniharu SAKIHAMA, Kazuhiro KONDO
and Taketo KATSUKI

1st Department of Surgery, Miyazaki Medical college

硬変併存肝癌13例につき OK-432投与による免疫療法を検討した。細胞性免疫能を skin test にて、肝硬変症14例および健常対象者12例と比較検討すると、肝硬変症および硬変併存肝癌にて特に SU-PS および SK-SD の反応低下をみた。硬変併存肝癌における OK-432の臨床効果を検討すると、生存率では、5カ月で70%、12カ月で58%で、非投与群17例の5カ月12%、12カ月10%以下と比べて有意に高かった。skin test でも改善がみられ、血中 AFP の上昇はみられず、血中エンドトキシンの陰性化がみられた。しかし、腫瘍サイズの縮小はみられなかった。硬変併存肝癌に対する OK-432投与は臨床上、期待しうることが示唆された。

索引用語：硬変併存肝癌の免疫療法, OK-432投与, skin test

はじめに

本邦における肝癌は、その背景としては、ほとんどの症例において肝硬変症の併存がみられ、治療対策上、困難を極める。近年、肝動脈塞栓術や縮小手術などが試みられているが、その対象患者は限定され、大部分は、内科治療にゆだねられる。最近、癌治療の一つとして、免疫療法が試みられている。しかしながら、肝癌における免疫療法の報告はほとんどない。担癌生体における免疫能の低下は良く知られているが、最近、肝硬変症、熱傷および重症感染症などにも免疫能の低下が指摘されている。肝硬変症を併存した肝癌(硬変併存肝癌)においては、このような免疫能の低下を加えて二重の負担を余儀なくされていることになる。かかる観点より、われわれは、硬変併存肝癌に非特異的免疫賦活剤としての OK-432を投与し、臨床成績を検討した。細胞性免疫能の臨床パラメーターとして、各種の skin test を施行し、腫瘍サイズや α -fetoprotein (AFP)の変動、そして網内系機能障害をじゃっきする

ことによって免疫能低下へと関与するエンドトキシンの消長なども検討した。

対象および方法

1. 対象

硬変併存肝癌13例で、OK-432の効果を検討した。年齢は50~60歳(平均58.9歳)で、男11例、女2例であった。OK-432投与の効果は臨床的には、超音波診断装置による腫瘍サイズの変化および血中 AFP の変動で、細胞性免疫能のパラメーターとしては、6種類の skin test を施行した。このほか、末梢血リンパ球数およびエンドトキシンの変動も検討した。skin test の対照として、肝硬変症14例および健常者12例にも skin test を施行した。さらに試験開腹のみにとどまり、その後無処置の肝癌患者17例の追跡調査を行い、OK-432投与群との累積生存率を比較検討した。

2. 方法

(1) OK-432投与方法

投与初日 OK-432 0.5KE を皮下にテスト注入し、強度の副作用のないことを確認の後、翌日1.0KE、翌々日2.0KE と増量し、その後1回5.0KE を週2回投与した。

(2)

遅延型皮膚反応に使用した抗原は recall antigen (回帰抗原) である PPD (Purified Protein Derivatives), Candida, SK-SD (Streptokinase-Streptodornase), SU-PS (SU-polysaccharide) と, リンパ球 mitogen である PHA (Purified Phytohemagglutinin) の 6 種で, 両側上肢屈側に約10cmの間隔をおいて, 0.1ml づつ皮下注射した。判定は AST, SU-PS, PHA では24時間後に PPD, Candida, SK-SD では48時間後に行い, 紅斑の縦径と横径との和を2で割った計測値 (mm) を求めた。skin test に用いた薬剤の1回使用量は別表に示した (表1)。

(3) 腫瘍サイズの測定

超音波診断装置 (Aloka 製 SSD-280型で, 探触子3.5 MHz) を用い, 腫瘍の計測は斉藤, 小山班の基準²⁾ に準じ, 直交する2方向の最大長径の積にて, いづれも25%以上の増加を示したものを増大, 50%以上の減少を示したものを縮小とし, それ以外は不変とした。

(4) 血中 AFP の測定

中央検査部にて2抗体法 (Dinabot 社製 AFP kit) で測定した。

(5) 末梢血リンパ球数の算定

中央検査部よりの一般血液検査データーによった。

(6) 末梢血エンドトキシン

Levin ら³⁾の方法に準じ Limulus lysate 溶液 (帝國臓器, 製品名ブレゲル) にてエンドトキシンの濃度判

表1 Skin Test に用いた各種薬剤と使用量

I. Recall Antigens	
1	Purified Protein Derivatives(PPD):0.05 μg/0.1ml
2	Asthredin No.1(AST):0.1ml
3	Diagnostic Allergen Candida "Torii" 1:10000(CAN):0.1ml
4	Streptokinase-Streptodornase(SK-SD):10u+2.5u/0.1ml
5	SU-Polysaccharide (SU-PS):20 μg/0.1ml
II. Purified Phytohemagglutinin (PHA):5 μg/0.1ml	

定を行った。

(7) 統計的有意差検定法

平均値±標準偏差で表わし, 統計処理は, Student's t-test を用いた。

(8) 累積生存率

胃癌研究会規約⁴⁾に従い, 有意差の検定は, Generalized Wilcoxon test にて行った。

結 果

1. 臨床成績 (表2)

OK-432投与対象患者13人のうち, HBs 抗原陽性4例, 抗体陽性2例であった。黄疸合併は2例, 腹水合併は3例であった。黄疸および腹水合併症で, 血中 AFP 70,000ng/ml と高値を示した症例では, Limulus テストも強陽性であった。血中 AFP が200ng/ml 以上であった症例は8例 (61.5%) であったが, 100ng/ml 以下の低値を示したものも4例あった。血中エンドトキシンを反映する Limulus テストも, 検索例13例中陽性例が5例 (38%) であった。OK-432投与例のうち4例で肝癌切除が行われ, 9例では切除が不能 (内3例

表2 OK-432を投与した硬変合併肝癌症例

NO.	姓名	年齢	性別	黄疸	腹水	HBs		AFP(ng/ml)	Endotoxin	治療	転帰
						Ag	Ab				
1	S.S.	64	男	-	-	-	-	4	-	切除	3.8 ヶ月死亡
2	T.A.	55	男	-	-	+	-	1,147	-	切除	5.7 ヶ月生存
3	M.U.	65	女	-	-	-	+	343	-	切除	6.6 ヶ月生存
4	K.Y.	54	男	-	-	-	-	642	+	切除	12.5 ヶ月生存
5	K.U.	64	女	-	-	+	-	1	+	非切除 ・TAE療法	3.8 ヶ月死亡
6	H.O.	55	男	-	-	-	-	11	-	非切除 ・TAE療法	3.6 ヶ月生存
7	T.U.	53	男	-	-	-	-	37	+	非切除 ・TAE療法	8.4 ヶ月生存
8	M.T.	62	男	+	+	+	-	218	-	非切除	0.4 ヶ月死亡
9	Y.M.	50	男	+	+	-	-	70,000	+	非切除	1.4 ヶ月死亡
10	H.K.	66	男	-	-	-	-	3,000	-	非切除	6.2 ヶ月死亡
11	A.O.	60	男	-	-	+	-	166	+	非切除	8.3 ヶ月生存
12	K.K.	56	男	-	+	-	+	298	-	非切除	9.4 ヶ月生存
13	S.F.	62	男	-	-	-	-	362	-	非切除	11.8 ヶ月生存

TAE= Transarterial embolization

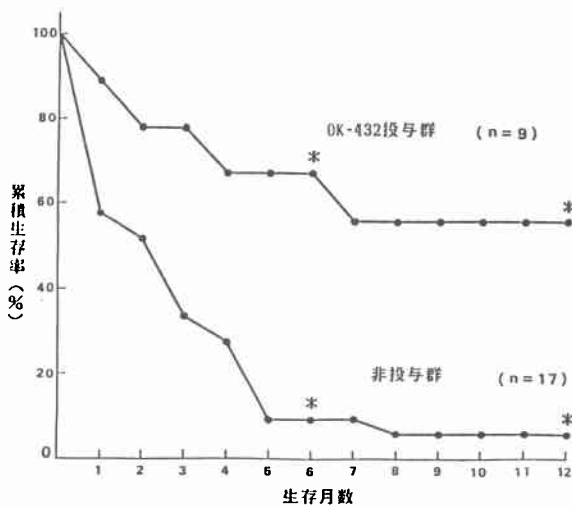
はTAE施行)であった。特に強度の副作用はみられず全症例に投与が可能であった。切除例4例中1例は肝不全にて3.5カ月で死亡したが、3例は術後5~12.5カ月生存中である。非切除例9例中4例は10日~6カ月で死亡したが、5例は生存中で、6カ月以上の生存を約半数に認めている。さらに過去の症例で免疫化学療法などを行わなかった無処置患者17人の遠隔成績と、OK-432投与非切除患者9人の遠隔成績を比較すると、無処置群は5カ月間の生存率が12%にすぎないが、OK-432投与群では、なお70%の生存率を示していた。12カ月では、無処置群は10%以下、投与群は58%と有意($p < 0.001$)に高い生存率であった(図1)。

2. Skin test の変動

(1) 肝硬変症および硬変併存肝癌における skin test

健常対照群と比較検討すると、肝硬変症および硬変併存肝癌群では、すべての反応が健常対照群より低値を示した。とくに肝硬変症群では、SU-PS, SK-SD, PHAで有意の低値($p < 0.05$)がみられた。肝変併存

図1 硬変併存肝癌(非切除術)におけるOK-432投与群と非投与群との予後* $p < 0.001$



肝癌群でも同様にSU-PS, SK-SD, ASTで低値がみられたが、有意差は確認されなかつた(表3)。

(2) 硬変併存肝癌例におけるOK-432投与による skin test の変動

OK-432投与前および後(4~6週目)の skin test の変動をみると、PPD, SK-SD, SU-PSで反応性の増加傾向がみられ、ASTでは有意の増加がみられた($p < 0.05$)。Candida および PHA では低下の傾向が示された(図2)。

3. 腫瘍サイズの変動

OK-432投与後の腫瘍サイズの変動を、10例で検討できた。25%以上の増大がみられたものが6例で、50%以上の縮小がみられたものは、わずか1例にすぎなかつた。3例は不変であった(表4)。

4. 血中AFPの変動

切除3例では、術後一過性のAFP低下がみられていたが、以後再上昇の傾向がみられた。非切除例7例では、OK-432投与後6カ月までAFPの上昇を示したものは2例のみで、他の症例ではほとんど不変であった。1例では、260ng/mlから1カ月で32ng/ml、6カ月目で6.0ng/mlにまで著明に低下した(図3)。

5. 末梢血リンパ球数の変動

末梢血リンパ球数は、OK-432投与後1カ月目では、切除および非切除例ともに減少の傾向がみられたが、

図2 OK-432投与前・後のSkin Test変動

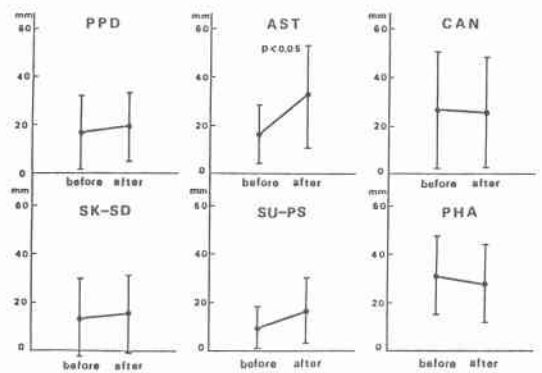


表3 肝硬変症及び硬変併存肝癌例における skin Test の成績

	例数	平均年齢	Skin Tests* (mm)					
			PPD	AST	Candida	SK-SD	SU-PS	PHA
健常対照群	12	51.5	25.9 ± 18.7	25.1 ± 10.7	40.8 ± 22.9	31.3 ± 27.2	17.0 ± 12.5	40.3 ± 9.7
肝硬変症	14	51.2	19.8 ± 16.5	22.5 ± 10.4	26.4 ± 26.0	11.3 ± 9.5***	8.3 ± 6.5***	26.4 ± 11.4**
硬変併存肝癌	13	58.9	16.7 ± 15.1	16.2 ± 12.5	26.3 ± 24.4	13.4 ± 16.9	9.4 ± 9.0	31.4 ± 16.6

* 紅斑の径 (Mean ± S.D.) ** $p < 0.01$ *** $p < 0.05$

表4 OK-432投与後の腫瘍サイズの変動

変化	例数	転帰
増大	6	生存2、死亡4
不変	3	生存3
縮小	1	生存1

図3 OK-432投与前・後の血中AFP値及びリンパ球数の変動

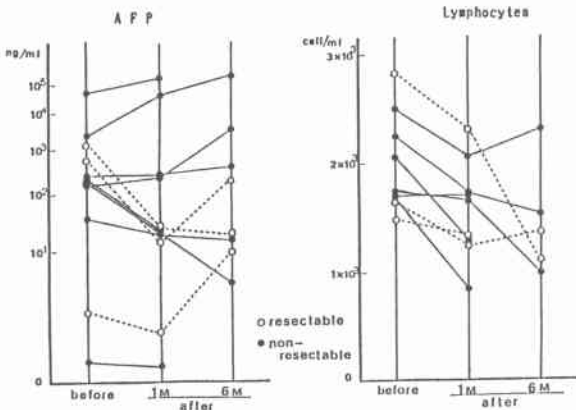


表5 OK-432投与前・後の末梢血エンドトキシンの変動

投与前	投与後
エンドトキシン陽性 (n=4)	陽性 (n=0) 陰性 (n=4)
エンドトキシン陰性 (n=6)	陽性 (n=2) 陰性 (n=4)

6ヶ月以上生存した5例中2例では増加し、3例ではさらに減少がみられた(図3)。

6. 血中エンドトキシンの変動

OK-432投与前、後の血中エンドトキシンを10例で検討した。投与前に血中エンドトキシンが陽性であったものは4例で他は陰性であった。投与後、陽性であった4例が陰性化し、陰性であった6例中2例が陽性化した。結局、投与前40%の陽性率が20%に半減した(表5)。

考 察

担癌生体におけるツベルクリン反応の陽性率の低下という既知の事実より、遅延型過敏反応が癌患者の細胞性免疫能の検索に広く用いられている。このほか細胞性免疫能のパラメーターとして、白血球遊走阻止、マクロファージ遊走阻止、リンパ球幼若化反応なども

あるが、遅延型過敏反応との相関性がすでに報告されている⁵⁾⁶⁾。われわれのデータでも、肝硬変症および硬変併存肝癌症例において、遅延型過敏反応を反映する各種 skin test で反応の低下がみられた。肝硬変症患者の免疫能低下が近年指摘されているが、その原因として、網内系機能の低下、Kupffer細胞による貧食能の低下、オプソニン活性低下、そして細胞活性の低下などが示唆されている⁷⁾⁸⁾。とくにSK-SDおよびSU-PSの低下に関してLeeら⁹⁾も、同様の報告をしている。硬変併存肝癌においては、肝硬変症に加え、担癌生体という二重の負担が免疫能の低下に関与しているものと考えられる。末期癌においては、免疫不全や腫瘍の増大につれて skin test の陰性化が出現してくる。腫瘍自体のリンパ球の消費や、リンパ系機能抑制物質の産生などが考えられる。非特異的免疫賦活剤であるOK-432の作用機序としては、宿主介在効果、すなわちインターフェロンの誘導や Killer-T細胞、Natural Killer (NK)細胞、マクロファージの活性増強、および抗体の産生を増強させるなどがあげられている。このほか effector mechanism を増強または回復させ、宿主の腫瘍抵抗性や防御能を上昇させる。また、腫瘍細胞への直接作用として、蛋白合成、さらに一部のDNA合成阻害なども示唆されている¹⁰⁾。われわれも、OK-432の投与で、臨床的に延命効果を認め、skin test でもSK-SDおよびSU-PSの反応の増加傾向がみられた。肝癌では、T-cellの減少、とくに active T-cellの減少が報告されている¹¹⁾。OK-432による反応の増強効果の一つとして、effector T-cellの刺激もあげられており検討を要する。

治療効果の判定としては、臨床症状の改善、腫瘍サイズの縮小、AFPの低下および生存期間の延長などが指標となる。OK-432による肝癌治療の報告は少なく、症例報告が散見されるにすぎない^{10)~12)}。腫瘍縮小効果に関しては、われわれの経験では10例中わずか1例にみられたにすぎず、6例では増大がみられ悲観的であった。化学療法においても、血管造影による縮小率では、50%以上の縮小は39%にすぎず、増大が57%と報告されている²⁾。OK-432単独投与で、血中AFP値が360ng/mlより1.6ng/mlと著明に減少した報告がある¹⁰⁾、われわれの1例でも同様な減少を示した症例があったが、ほとんどの症例においては変化がみられなかった。しかし、一般的な増加がみられなかつたことは、AFP産生に何らかの抑制効果があったのかもしれない。

肝硬変症ではエンドトキシン血症がしばしばみられる。腸内細菌由来のエンドトキシンは門脈中に流入するが、障害肝ではKupffer細胞が減少したり機能が低下しているのでエンドトキシンの補足が十分でなく、その結果、血中へspill overすることによるとされている。このような肝不全時の網内系機能低下に対してOK-432などによる免疫賦活治療が試みられている。硬変併存肝癌においても陽性であったエンドトキシン血症が、OK-432投与により全例陰性化した。OK-432投与にもかかわらず6例の陰性例のうち2例で陽性となった。しかし、投与前の陽性率は投与後、半減したことから、網内系機能賦活による免疫能の増加も示唆される。しかし、エンドトキシンがマクロファージの活性化を介して抗腫瘍作用を示すとの報告¹⁴⁾もあり、硬変併存肝癌におけるエンドトキシン血症は今後さらに検討されねばならない。

OK-432投与群と非投与群とで累積生存率で明らかに有意差を認めたが、非投与群17例は、年齢は40~73歳で、男14例、女3例であった。しかしながら、ほとんどの症例で腹痛、背部痛および腰痛などの症状があり、黄疸・腹水および腫瘤触知が4例にみられ、骨や肺への遠隔転移が2例にみられた。血中AFPも全例200ng/ml以上で、肉眼的にもびまん型9例、多発結節型5例、および塊状型4例とStage III-IVで、投与群に比べ進行型を示すものが多かった。投与群でも13例中9例が同様にStage III-IVであり、腹水・黄疸のある症例では、効果は期待できなかった。

以上、少ない症例であったが、硬変併存肝癌補助治療法の一つとして、OK-432による免疫療法の有用性を追究し、いささかの有効性が示唆された。

まとめ

硬変併存肝癌における細胞性免疫能をskin testにて検討した。とくにSU-PSおよびSK-SDの反応性低下がみられた。免疫賦活剤としてOK-432を投与し、skin testの改善、血中AFPの上昇の抑制がみられ、臨床的に延命効果も期待できた。しかし、腫瘍サイズの縮小はみられなかったが、エンドトキシン血症の改

善はみられた。以上、硬変併存肝癌に対し、OK-432の投与は期待しうる免疫療法である可能性が示唆された。

文 献

- 1) Meakins JL, Christou NV, Shizgal HM et al: Therapeutic approaches to anergy in surgical patients. *Ann Surg* 190: 286-296, 1979
- 2) 久保保彦, 長崎嘉和, 阿部正秀ほか: 肝癌の化学療法における効果判定の問題点. *癌の臨* 26: 675-677, 1980
- 3) Levin J, Poore TE, Young NS et al: Gram negative sepsis. Detection of endotoxemia with the limulus test. *Ann Intern Med* 76: 1-7, 1972
- 4) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約, 第10版, 東京, 金原出版, 1979
- 5) 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
- 6) 細川真澄男, 水島 豊: 免疫学的モニター. 皮膚反応テスト. *臨外* 33: 1397-1402, 1978
- 7) 平沢博之, 大竹喜雄, 小林 進ほか: 肝切除後の免疫不全と感染. *臨外* 39: 331-336, 1984
- 8) 中島猛行, 松田裕子, 松本正広ほか: 肝硬変のNK活性性と肝癌発生. *肝臓* 24: 104, 1983
- 9) Lee CS, Hwang KL, Tsai CH et al: Suppression of the delayed cutaneous hypersensitivity response in hepatoma patients. *J Formosan Med Assoc* 77: 616-620, 1978
- 10) 周防武昭, 中西昭文, 吉田 裕ほか: OK-432が著効した肝細胞癌の1例. *癌の臨* 28: 1163-1167, 1982
- 11) 西岡幹夫, 児玉隆浩, 野田健一ほか: 肝癌の化学療法. 第2報—細胞性免疫パラメーターの臨床的意義—. *肝臓* 20: 41-54, 1982
- 12) 大谷正志: OK-432単独使用による腫瘍の縮小を認めた肝癌の1例. *診療と新薬* 20: 49-52, 1982
- 13) 今岡真義, 佐々木洋, 松井征雄ほか: 肝細胞癌に対する免疫賦活剤(OK-432)腫瘍内注入療法. *日癌治療会誌* 17: 1957-1962, 1982
- 14) 中野昌康: リポ多糖に対する細胞応答と免疫学的反応. *最新医* 35: 466-468, 1980