

消化器癌に対する二重濾過膜血漿交換療法を 併用した免疫化学療法の試み

岡山大学医学部第1外科

阪上 賢一 宮崎 雅史 松岡 順治 西岡 豊
松永 琢也 塩崎 滋弘 淵本 定儀 折田 薫三

CLINICAL TRIAL OF CHEMO-IMMUNOTHERAPY COMBINED WITH DOUBLE FILTRATION PLASMAPHERESIS FOR DIGESTIVE TRACT CANCER

Kenichi SAKAGAMI, Masashi MIYAZAKI, Junji MATSUOKA,
Yutaka NISHIOKA, Takuya MATSUNAGA, Shigehiro SHIOZAKI,

Sadanori FUCHIMOTO and Kunzo ORITA

The First Dept. of Surgery, Okayama University Medical School

索引用語：二重濾過膜血漿療法，癌血清免疫抑制因子，多孔性ガラス吸着体

I. はじめに

現在，種々の免疫増強法によっても，効果的な癌治療を行うことができない原因の1つとして，腫瘍細胞の増殖に伴いさまざまな免疫抑制因子が担癌生体に誘導され，腫瘍増殖を抑える免疫監視機構を阻害することが考えられている¹⁾²⁾。そこで，担癌患者血清中からこれらの免疫抑制因子群を含めた血漿を除去し，正常な血漿で置換する，いわゆる血漿交換療法が悪性腫瘍に対する補助療法として，Browneら³⁾やIsraelら⁴⁾によって報告されて以来，本邦でもその有用性が論じられている^{5)~8)}。しかし，本法では置換液として多量の新鮮凍結血漿を要するため悪性腫瘍患者に広く臨床応用することは困難と考えられる。

そこで，私どもは，血漿交換によってえられた癌患者血漿を *in vitro* で 0.02μ の二次膜を濾過させることによって，高分子領域に存在する免疫抑制因子を選択的に濃縮・分離しうることを見出し⁹⁾，1981年より悪性腫瘍，特に，進行消化器癌患者の集学的治療の一環として，二重濾過膜血漿交換療法 Double Filtration

Plasmapheresis (DFPP) の基礎的および臨床的研究^{10)~12)}を行ってきた。今回はDFPPによってえられる臨床的效果を免疫学的な側面から検討するとともに，DFPPに多孔性ガラスビーズ吸着体カラムを併用する新しい吸着システムについても触れてみたい。

II. 方法と対象

1. DFPP 施行症例

対象は表1のごとく，食道癌3例，胃癌3例，膵癌7例，大腸癌4例，直腸癌2例，乳癌1例の計20例で，いずれも切除不能の進行癌あるいは再発癌である。

2. DFPP の手技¹³⁾

図1に示すごとく，患者血液を100ml/minで体外循環させ，膜孔径 0.2μ の血漿分離器に導き血漿(第1次濾

表1 二重濾過膜血漿交換療法を施行した症例の概略

NO	AGE	SEX	DISEASE	DFPP	PE	PS	NO	AGE	SEX	DISEASE	DFPP	PE	PS
1	62	M	Recur. of gast. ca.	4	-	0-A	11	55	M	Pancreas ca.	5	1	0-0
2	64	M	Recur. of gast. ca.	4	-	0-0	12	42	F	Colon ca.	6	-	0-C
3	54	F	Recur. of breast ca.	4	-	0-0	13	50	M	Colon ca.	6	-	0-0
4	38	M	Rectal ca.	4	2	0-0	14	74	M	Esophageal ca.	6	-	0-0
5	72	M	Pancreas ca.	4	2	0-A	15	52	M	Rectal ca.	6	-	0-0
6	64	M	Pancreas ca.	5	1	0-0	16	46	M	Recur. of gast. ca.	6	-	0-A
7	41	M	Esophageal ca.	5	1	0-A	17	78	F	Esophageal ca.	6	-	0-0
8	53	M	Colon ca.	5	1	0-A	18	56	M	Pancreas ca.	11	-	0-A
9	53	F	Pancreas ca.	6	1	0-A	19	66	M	Pancreas ca.	6	-	0-0
10	70	M	Colon ca.	5	1	0-0	20	47	M	Pancreas ca.	6	-	0-A

DFPP: Double Filtration Plasmapheresis.
PE: Plasma Exchange.

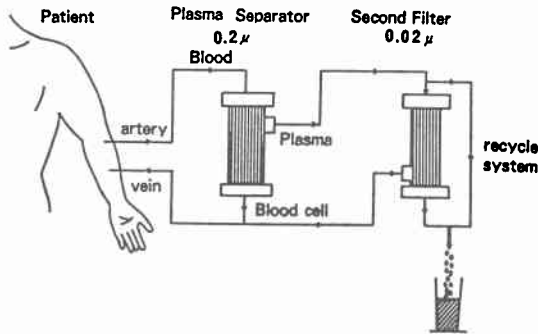
PS: Performance Status (Karnofsky)

※第25回日消外会総会シンポII：消化器癌の集学的治療

<1985年6月19日受理>別刷請求先：阪上 賢一

〒700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部第1外科

図1 二重濾過膜血漿交換 (DFPP) システム

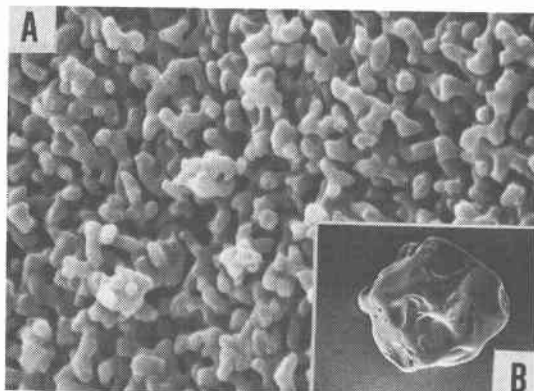


液)をうる。この血漿成分をさらに膜孔径 0.02μ の血漿濾過器で濾過し、高分子領域の廃棄液と低分子領域の第2次濾液に分離した。第1次濾液の90%は2次濾液として血球と混和して患者に返還し、濾過されなかった残りの10%は廃棄液として経時的に廃棄した。1回の血漿処理量は約2,500ml、廃棄液は約200mlであった。以上の操作は濾過圧などを自動制御しうる Double Filtration Monitor (KM-8500) を用いて自動的に行い、1回に約2時間を要し、6~10回を隔日に行った1クールとした。

3. 多孔性ガラスビーズ吸着体¹¹⁾

表面に孔性の均一な無数の細孔を有する、直径 $0.1\sim 1.0\text{mm}$ のガラスビーズを用いた(図2)。細孔の孔径は 75Å , 170Å , 240Å , 500Å , $1,000\text{Å}$, $2,000\text{Å}$, $3,000\text{Å}$ の8種で、各サイズのガラスビーズを表面未処理で水酸基(-OH)を有するものと、表面にアミノ基(-NH₂)を有する2種類の合計16種類でその吸着能を検討した。また、 100Å-NH_2 の吸着体 8.4g を容量 20ml のカラムに充填してDFPPの回路内に装着して臨床に用いた。

図2 多孔性ガラスビーズ吸着体の走査型電顕像



4. 患者血清ならびに各種濾液の分画とその免疫抑制活性の測定

DFPPでえられた各種濾液をゲル濾過高速液体クロマトグラフィー (FPLC, Pharmacia)で分画採取し、各分画の免疫抑制活性を測定した¹²⁾。血清ならびに濾液の免疫抑制活性の測定は既報¹¹⁾¹²⁾のごとく、健康人リンパ球のPHA幼若化反応の系に血清あるいは濾液を添加し、その抑制率で算出した。

5. 多孔性ガラスビーズ吸着体による免疫抑制因子の吸着

バッチ法により検体/ビーズ比を $5/1\sim 3/1$ に設定し、 37°C 、1時間試験管内で振盪し、吸着前後での免疫抑制活性をIAP, PHA抑制因子, IL-2 inhibitorなどで測定した¹¹⁾¹²⁾。

III. 結果

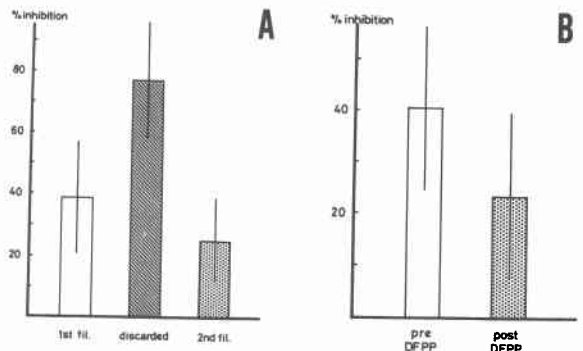
1. 各種濾液の示す免疫抑制活性

健康人リンパ球PHA幼若化反応に対して、DFPPによってえられた第1次濾液、第2次濾液、廃棄液の影響をみると、図3-Aに示すごとく、control AB血清に対する%inhibitionは、第1次濾液で $35.3\pm 18.0\%$ であるのに比べ、廃棄液では $76.8\pm 19.5\%$ と著明な抑制がみられた。一方、患者に返還される第2次濾液では $24.4\pm 13.9\%$ と抑制率が低下し、DFPPによって血清中の免疫抑制因子が濃縮・廃棄されることが明らかである。

2. DFPP前後における癌患者血清の免疫抑制活性

DFPP前後の患者血清による健康人リンパ球PHA幼若化反応に対する%inhibitionは、図3-Bのごとく、施行前平均 $40.4\pm 17.5\%$ から施行後平均 $23.7\pm 16.1\%$ へと有意な($p < 0.05$)免疫抑制活性の減少がみ

図3 DEPPによって得られた各種濾液の免疫抑制活性(3A)、DFPP前後における癌患者のPHA抑制因子の推移(3B)



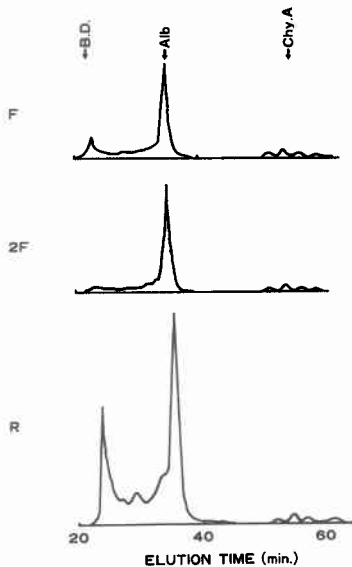
られた。

3. 各種濾液の FPLC による解析

DFPP によってえられた各種濾液を FPLC により分画し、その profile を比較すると (図 4) 血清中の void volume に出現する第 1 分画は DFPP を行うことで 2 次膜により廃棄液 (R) 中に極めて有効に濃縮される。そこで、各種濾液の示す健康人リンパ球 PHA 反応に対する抑制効果をみると (図 5), Blue Dextran に相当する高分子領域, Albumin に相当する分子量 6 万前後の領域とともに, Chymotrypsin A に相当する領域にも強い免疫抑制が存在することが明らかとなった。

4. 多孔性ガラスビーズ吸着体による免疫抑制因子

図 4 DFPP によって得られた各種濾液の示す FPLC プロフィール



1F: 1次濾液, 2F: 1次濾液, RF: 廃棄液

図 5 DFPP によって得られた廃棄液の FPLC プロフィールと各分画の示す PHA 活性

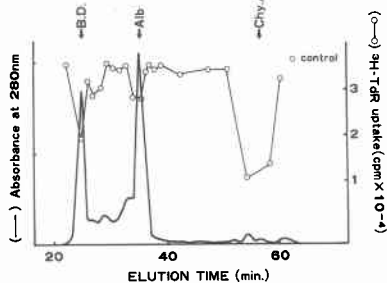
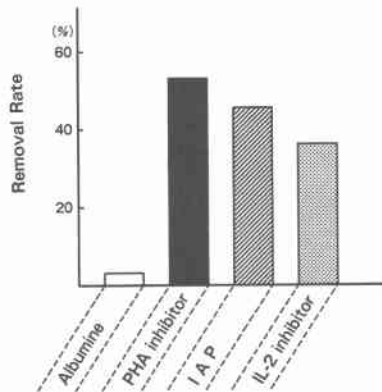


図 6 多孔性ガラスビーズによる免疫抑制因子の吸着能



の吸着能

そこで、DFPP では除去不能な Albumine 以下の低分子領域に存在する免疫抑制因子を除去する目的で、75Åあるいは100Åのガラスビーズ吸着体による PHA 抑制因子, IAP, IL-2 inhibitor の in vitro での吸着能を検討した(図 6). Albumine は0.7%しか吸着されないが、PHA 抑制因子は53%、IAP は43%、IL-2 inhibitor は35%吸着除去されることが明らかとなった。

5. 吸着体カラムと DFPP との併用

以上のような in vitro での吸着成績にもとずき、従

図 7 多孔性ガラスビーズ吸着体を併用した DFPP における各種腫瘍マーカーおよび免疫抑制因子の吸着率

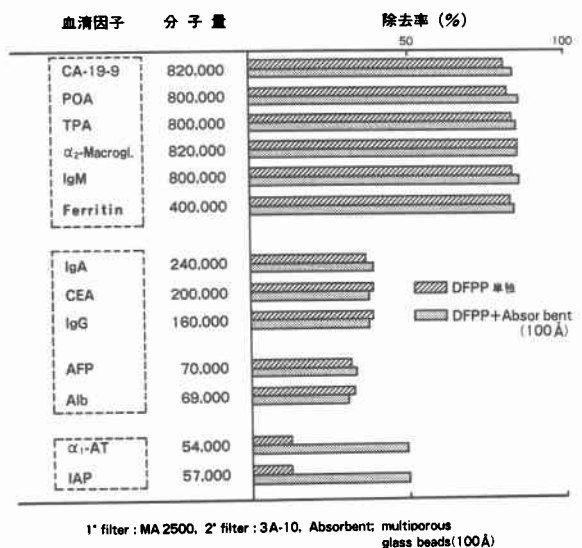


図8 DFPPを施行した切除不能膵癌の臨床経過(症例18, T₄N₃C₃RP₃V₂)

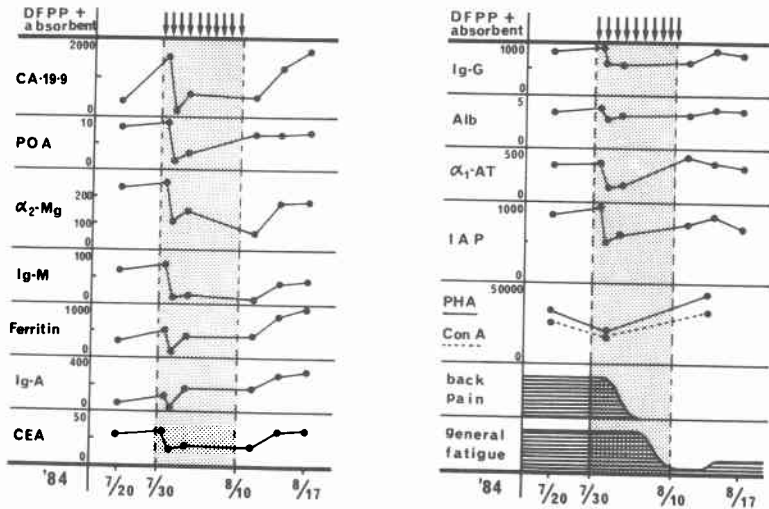
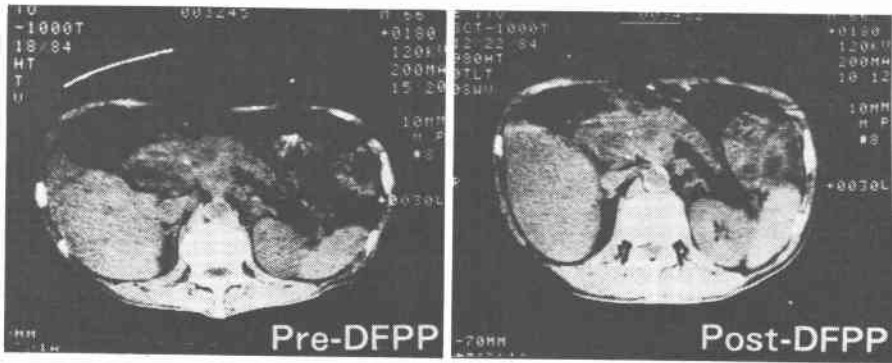


図9 腹部CT像: 左・1984年10月18日, 右・1984年12月22日



来のDFPPシステムに吸着体カラムを装置し、回路の直前・直後で濾液を採取し、DFPP単独とDFPPに吸着体カラム併用での各種の血清因子の除去率を比較検討した(図7)。分子量80万のCA-19-9や α_2 -Macroglobulin、分子量40万のFerritinなどはDFPP単独でも80%以上除去されるが、Albumineより低分子の α_1 -antitrypsin、IAPなどは15%しか除去できなかった。しかし、吸着体カラムを併用するとそれらの除去効果は50%にまで上昇することが示された。

図8は、頑固な腰痛を主訴とする切除不能な膵体尾部癌(stage IV)で、DFPPに吸着体カラムを併用した第1例目の各種パラメーターの推移を示している。CA-19-9を初めとした高分子物質の急激な減少とともに、IAPの除去効果にもすぐれ、治療期間後も低値を維持している。しかも、麻薬の使用を余儀なくされて

いた頑固な腰痛が2, 3回の本法施行によって消失したことは甚だ興味深い効果といえる。

6. DFPPの臨床効果

対象が消化器癌を主として末期癌であったため、CTを含めた画像上で腫瘍の縮小をみた症例はないが、performance status でみると全症例の45% (9/20) に著しい改善がみられた(表1)。とくに、膵癌症例の71% (5/7) に頑固な腰痛の消失、軽減がみられたことは、その機序は不明ではあるが、DFPPの大きな効果の1つと考えられた。また、いずれの症例においても、低アルブミン血症、出血傾向、低血圧などの重篤な副作用はみられなかった。

図9は66歳、男性で、T₃、N₂、V₃、RP₃のstage IVを示す切除不能な膵体部癌のDFPP前後におけるCT像である。本症例に対して、DFPP施行の前後で教

室において現在開発中である BALL-1細胞由来のリンホトキシン様物質 (OH-1)¹⁴⁾の併用を試みた。左側の CT 像は昭和59年10月18日入院時のもので、膈体部を中心に約5.6cm (T₃) の腫瘤像が描出され、後腹膜浸潤も著明である (RP₃)。右側の CT 像は、DFPP に前記薬剤の投与を付加した2カ月後のものであるが、腫瘤の増大はよくコントロールされている。

IV. 考 察

現在のところ、DFPP の直接的な抗腫瘍効果は不明であるが、担癌宿主血清中の免疫抑制因子を除去し、免疫能を十分に回復させたのちに、より強力な免疫化学療法を付加して癌の治療成績を向上させようとする集学的治療の一環として、二重濾過膜血漿交換療法を位置づけている。実験的には、西岡ら¹⁵⁾は担癌ラット膜型血漿交換モデルにおいて、血漿交換後に化学療法を付加すると、化学療法単独よりも有意な延命効果もたらされることを見出ししている。今回の臨床的研究成果からみても、DFPP 単独では必ずしも腫瘍の縮小効果にはつながっていないが、生体の免疫能や一般状態の改善は明らかであり、免疫抑制因子の除去が生体防御機能の回復に有利に働いていることは確かなようである。

DFPP によってえられた各種濾液をゲル濾過高速液体クロマトグラフィー (FPLC) を用いて解析すると、分子量10万以上の高分子領域に存在する抑制因子は DFPP によってかなり選択的に濃縮・除去することが可能であるが、Albumine 以下の低分子領域にも量は少ないものの強い PHA 抑制因子が存在しており、この領域の抑制因子は現在の DFPP システムでは除去しえないことが明らかとなった¹⁰⁾。そこで、この問題を解決するために、多孔性ガラスビーズ吸着体による低分子領域の免疫抑制因子の選択的吸着を試みており、IAP(分子量57,000)、IL-2 inhibitor(分子量10,000前後)などを指標にすると30~50%の吸着除去が可能であり¹³⁾¹⁴⁾、従来の DFPP に多孔性ガラスビーズ吸着体カラムを併用した新しいシステムを開発、臨床応用を開始している。

V. おわりに

いまだ臨床成績を述べる段階ではないが、今後、前述した多孔性ガラスビーズ吸着体カラムを付加した新しい DFPP システムを消化器癌の術後療法に組み入れ、免疫化学療法を併せ行い、癌集学的治療の一助にしたいと考えている。

文 献

- 1) 折田薫三：癌患者の免疫機能。臨床免疫 14：580—589, 1982
- 2) 漆崎一朗, 石谷邦彦：液性免疫抑制因子。臨免疫 14：590—598, 1982
- 3) Browne O, Bell J, Holland PO et al: Plasmapheresis and immunostimulation. Lancet ii: 96—98, 1976
- 4) Israel L, Edelstein R, Mannoni P et al: Plasmapheresis and immunological control of cancer. Lancet ii: 642—643, 1976
- 5) 服部孝雄, 中西幸造, 河野博光ほか：進行がん患者に対する血漿交換療法。Prog Med 2: 704—712, 1982
- 6) 石谷邦彦, 前田 健, 伊藤信行ほか：悪性腫瘍患者における血漿交換療法の免疫学的意義。Prog Med 2: 717—721, 1982
- 7) 小玉正智, 谷 徹, 中根佳宏：悪性腫瘍に対するプラズマフェレーシス。癌と化療 11: 1349—1355, 1984
- 8) Miyazaki M, Sakagami K, Orita K et al: An experience of plasma exchange in cancer-bearing patients. In: Therapeutic Plasmapheresis (II). Edited by T. Oda Shaffaure. Stuttgart, 1982, p503—506
- 9) 宮崎雅史, 阪上賢一, 折田薫三ほか：Double filtration plasmapheresis による担癌患者血清中の免疫抑制物質除去の試み。人工臓器 13: 979—984, 1984
- 10) 松岡順治, 阪上賢一, 折田薫三ほか：担癌患者に対する二重濾過膜血漿分離法の臨床応用。日輪血会誌 19: 553—555, 1984
- 11) 宮崎雅史, 阪上賢一, 折田薫三ほか：二重濾過膜血漿交換による癌患者の血清中免疫抑制因子の除去—特に吸着体併用による癌免疫療法拡大の試み—。人工臓器 14: 366—371, 1985
- 12) 松岡順治, 阪上賢一, 折田薫三ほか：二重濾過膜血漿交換療法 (DFPP) の担癌患者への応用—免疫抑制物質の物質的特性よりみた適応の有用性と問題点。人工臓器 14: 625—630, 1985
- 13) 折田薫三, 阪上賢一：悪性腫瘍。阿岸鉄三編, 二重濾過血漿分離交換法, 東京, 医学書院, 1984, p148—154
- 14) 折田薫三, 山下 裕：新しいリンフォカイン OH-1 の Lewis 肺癌に対する抗腫瘍効果。癌と化療 11: 1253—1256, 1984
- 15) 西岡 豊, 阪上賢一, 折田薫三ほか：膜癌血漿交換療法の担癌ラット腫瘍増殖抑制に与える影響—免疫化学療法との併用効果について—。人工臓器 14: 361—365, 1985