

# 消化器癌の血行性転移に対する免疫化学療法

岡山大学第1外科

折田 薫 三

## HEMATOGENOUS METASTASIS OF DIGESTIVE TRACT CANCER AND IMMUNE SURVEILLANCE SYSTEM

Kunzo ORITA

1st Dep. of Surgery, Okayama University Medical School

索引用語：血行性転移，免疫監視機構，サイトカイン

### はじめに

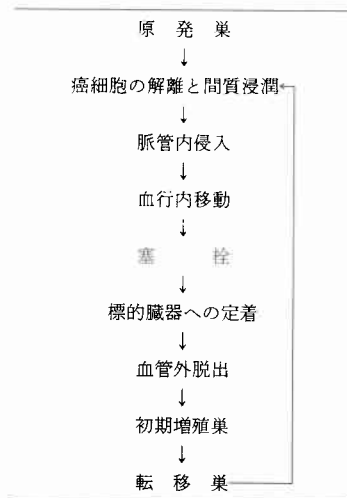
転移は破壊性浸潤性増殖とともに悪性腫瘍に特有な  
二大特性の一つである。消化器癌の場合には、周囲臓  
器への連続性浸潤の他に、局所あるいは遠隔リンパ節  
への転移、腹膜播種、血行性の遠隔臓器転移がある。  
今回は血行性転移と宿主の免疫の関係について述べ、  
免疫療法の成立の可能性について言及したい。

一般に癌の血行性転移の成立過程は、図1<sup>1)</sup>のごと  
くで、この過程のどの段階においてもブロックがかか  
れば、転移形成は成立しないこととなる。この血行性  
転移成立のどの過程に宿主の免疫監視機構が働いてい  
るのであろうか。免疫の増強によって血行性転移の予  
防と治療が可能となるはずである。まず免疫監視機構  
から簡単に述べよう。

### I. 癌と免疫監視機構

すでに総説しているが<sup>2)3)</sup>、生体の免疫監視機構を構  
成している細胞には、T, NK, K, LAK, Mφ, NC,  
多核白血球がある。このうち腫瘍細胞膜面上に MHC  
(major histocompatibility complex, 人では HLA-  
class, I, II) 抗原と腫瘍抗原 (TSTA あるいは TSA)  
が発現しているなら、MHC 拘束性の cytotoxic T 細  
胞 (Tc) あるいはキラー性の helper T 細胞 (Th) が  
誘導され、自家腫瘍細胞を特異的に破壊する。Tc 細胞  
は同種移植時の拒絶反応の中心をなすものである。肝、  
脾などの実質細胞には HLA-Class I 抗原のみが発現

図1 血行性転移の成立過程<sup>1)</sup>



しているため、これら実質臓器より発生した癌細胞に  
も Class I のみが発現し、Class II は発現してこないこ  
とが一般的である。したがって、Tc 細胞が消化器癌の  
排除に主役を演ずる機会は少ないものと考えられよ  
う。MHC や腫瘍抗原の発現に乏しい腫瘍に対しては  
NK, NC, LAK がこれを攻撃する。LAK 細胞は自家  
腫瘍細胞を含めて広範囲な腫瘍細胞に破壊性を示す  
が、MHC 抗原の発現の低い腫瘍細胞には、その活性が  
弱いという。NK 細胞は MHC 低抗原性の腫瘍細胞に  
感受性が高い。NC 細胞は NK 細胞に非感受性の腫瘍  
細胞に障害を及ぼす。Mφ は活性化 T<sub>H</sub> 細胞の産生す  
る γ-IFN により活性化され、抗原性の有無にかかわら  
ず腫瘍細胞を広く攻撃する。多様な抗原性をもった腫

\* 第12回卒後教育セミナー・消化器癌の血行性転移に  
関する諸問題

<1988年4月13日受理>別刷請求先：折田 薫三  
〒700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部第  
1外科

瘍細胞から成り立つ癌腫に対して、上述の各種免疫細胞が協力して働き、腫瘍の増殖、転移を抑えているものと考えられる。これら免疫細胞は腫瘍細胞に接着して、腫瘍細胞を破壊するが、その詳細は不明である。NKやLAK細胞などは、tumor necrosis factor ( $\alpha$ ,  $\beta$ )のごとき cytokine を産生放出して、腫瘍細胞を破壊すると考えられている。

## II. 血行性転移に関与する免疫監視機構

発生した癌の抗原性が高ければ、Tc細胞やTh細胞あるいは活性化M $\phi$ が原発巣より解離する少数個の集団よりなる癌細胞を脈管内侵入の直前で防止するであろう。事実、原発巣に円形細胞浸潤の多い癌の予後は、ある程度進行度を越えて良いといわれている。教室の胃癌症例でみても、円形細胞浸潤(LI)の陽性例の予後が優れている<sup>9)</sup>。最近のWiltrout<sup>5)</sup>の報告によると、臓器に定住しているNK細胞が重要であって、癌の転移過程における血管外脱出腫瘍細胞とそれに続く臓器実質内での初期増殖巣に特に作用して臓器転移を抑制すること、さらに末梢血中のNK細胞とは免疫賦活剤などに対する反応性が異なっているため、臓器レベルでのNK活性の増強が転移防止に必要であるという。

他方、脈管内へ移動した腫瘍細胞には末梢血中のNK細胞が働いているという報告が多い<sup>6)</sup>。前もってNK活性を低下させておくと、血流中の腫瘍細胞の生存期間が延長し、腫瘍細胞のT細胞に対する感受性の如何にかかわらず血行性転移が著増する。NK細胞に非感受性の腫瘍細胞は流血中に長く留まり、転移形成の頻度も高いことが知られている。多くの実験腫瘍では血中に入った $10^4 \sim 10^5$ 個の腫瘍細胞のうち1個が生着して、転移巣を形成するといわれているが、大半の腫瘍細胞は上述のNK細胞などにより障害を受けたり、末梢血管から脱出するさいの過伸展により障害を受けて死滅すると考えられている。血行性転移形成には、その過程で腫瘍による血管内塞栓あるいは臓器内血管内皮細胞への定着が重要なポイントとされているが、腫瘍細胞の塞栓や定着が流血中の腫瘍細胞にフィブリンや血小板が凝集することで促進される<sup>7)</sup>。免疫学的にみても、フィブリンや血小板で被覆された腫瘍細胞はNK細胞との密着から回避して生き残り、その上、傷ついた腫瘍細胞は血小板より放出されるgrowth factorにより傷が癒やされて、血管外に脱出して転移形成に至る。

## III. 血行性転移に対する免疫学的予防と治療

血行性転移形成の予防には、臓器内や血流中のNK細胞やT細胞などの数と活性の増強、治療にはいわゆるLAK療法や外からのcytokineの投与などが考えられるが、われわれの行ってきた幾つかを紹介したい。

### 1. 手術前腫瘍内免疫賦活剤(BRM)の局注

BCGをはじめある種の免疫賦活剤を腫瘍内やその周辺に注射すると、腫瘍内円形細胞浸潤(TIL)が誘導され、そのNK活性も上昇し、さらに所属リンパ節でもNK活性の上昇することから、手術前の腫瘍内BRMの注射は、血行性転移やリンパ節転移の予防あるいは治療に有用と考えている<sup>8)</sup>。手術前7~10日にOK-432, 5~10K.E.あるいはPSK 250mgを内視鏡下に胃癌主病巣の内や周囲に数カ所に分けて注射しておくと、70%強の症例に強い円形細胞の浸潤(TIL)や所属リンパ節の反応が増強してくる。TILはT細胞とM $\phi$ が優位である。教室の徳田<sup>9)</sup>は浸潤細胞につき多数のモノクローナル抗体を用いての免疫組織学的検討を行い、OK-432の局注によって、IL-2 receptor 陽性細胞やNK/K細胞, dendritic reticulum cellおよび免疫提示細胞の指標であるS-100蛋白をもった細胞が注射局所に著明に増加することから、OK-432の局注は局所の腫瘍免疫を増強するものと推定している。これらリンパ球の二重蛍光染色による機能分類においても、Ts細胞の出現はほとんどみられず、その多くはTh, TiおよびLeu 2a<sup>+</sup>15c<sup>-</sup>のTc細胞であることを最近明らかにしている。TILの種類は投与賦活剤により差異がみられる。OK-432の局注ではOKT4/OKT8が低下し、Leu 7/OKT4+OKT8が上昇してくる。すなわち、NK前駆細胞とTc細胞が相対的に増加してくる。PSKの局注では両比率に変化がなく、非注射例のそれとほぼ同様であって、各細胞が比較的均一に増加するものと考えられる。リンパ節反応では、OK-432, PSKのいずれにおいてもsinus histiocytosis (SH)とparacortical hyperplasia (PH)が増強し、主病巣に近い第1群リンパ節よりも遠位の第2群, 第3群になる程反応が強く出ている。逆にfollicular hyperplasia (FH)は遠位リンパ節になる程低下してくる。SHはM $\phi$ とT細胞, PHはT細胞優位の反応であり、FHはB細胞優位の反応であることから考えると、OK-432やPSKの局注により所属リンパ節の抗腫瘍性の増強が示唆されよう。切除標本より機械的に分離したTILのK562株細胞や胃癌株MKN細胞に対するin vitroの殺細胞活性は非注射群に比し著明に上昇して

いる。しかも、K562細胞に対してよりもMKN細胞に対してより高い殺作用のみられた点、NK活性の上昇と同時に胃癌細胞に特異なTc細胞の誘導も考えられる。癌細胞への親和性と殺細胞性を同時に測定しうるsingle cell assayにてリンパ節を検索すると、OK-432非注射群ではK562に対する殺細胞活性が2.8%とほとんど皆無であるが、OK-432注射群では6.6%と上昇し、健康者末梢血リンパ球のそれに近い活性を示してくる。第1群リンパ節でキラー活性が上昇している場合、第2、3、4群と遠位のリンパ節のキラー活性の上昇が同時にみられている。通例の胃癌に対する拡大手術R<sub>3</sub>を行っても第4群リンパ節は遺残することになる。この遺残すべきリンパ節に抗腫瘍性が上昇していることは、恐らくは癌の再発、血行転移の抑止に役立つものと考えている。stage III胃癌治癒切除症例で、OK-432局注22例と同時期の非注射19例の累積生存率は図2のごとくで、手術2年後以降よりOK-432の局注効果が大きく出てくるようである。背景因子では、OK-432局注例にむしろn, sにおいて進行したものが多く、その後、教室の関連病院とのrandomized group studyを開始し、OK-432局注群185例、非局注群175例を集積してfollow中である。手術1年後以降にOK-432の局注効果が次第に出てきている。注射局所におけるTILの程度は予後と相関するものごとく、TIL-~+症例に比しTIL++~卅症例の1生率が有意に高くなっている。

## 2. LAK細胞による adoptive immunotherapy

末梢血リンパ球や癌性腹水中のリンパ球をIL-2と3~4日培養すると、新鮮自家腫瘍細胞を含めて他家腫瘍細胞およびNK細胞に抵抗性の株細胞をも広く破壊する。これがLAK細胞(lymphokine activated killer cell)であり、in vivoにおいてはIL-2依存下でキラー活性を発揮する。LAK細胞の大半はNK細胞由来であり、一部がT細胞由来とされている。In vivoに投与されたLAK細胞は肝臓と脾臓に集積し、腫瘍局所への選択性はみられていない。教室の雁木は、LAK細胞の殺腫瘍作用の一つに、LAK細胞がTNFに似た腫瘍細胞障害因子を産生放出することを最近明らかとしている。

数多くの動物実験の後、1985年Rosenbergら<sup>10)</sup>は、進行癌患者を対象に、末梢血単核球を分離し $1.5 \times 10^6$ 個/mlへ $1,000$ U/mlのIL-2を加えて37°C、3~4日培養し、LAK細胞を誘導している。1回のleukapheresisで $5 \times 10^9 \sim 5 \times 10^{10}$ 個の末梢血単核球を採取し、

図2 Accumulative survival rate of complete resected gastric cancer (stage III)

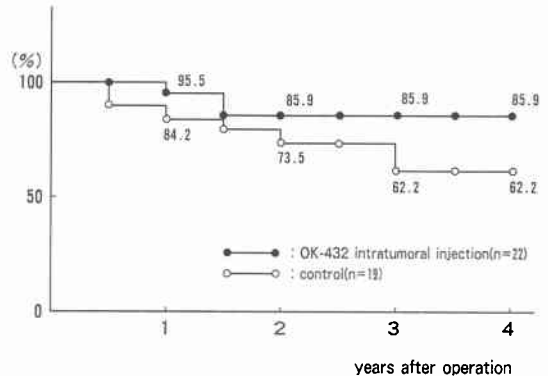


図3 LAK細胞による adoptive transfer のプロトコール

1. IL-2 priming  $1 \times 10^6$ U/日 5日間 i.v.
2. 2日間休養
3. Lenkapheresis 4日間連続  
分離した末梢血単核球 $5 \sim 7 \times 10^6$ /mlをIL-2 1000U/mlとともに3~4日培養
4. LAK細胞の自家投与  
腫瘍の栄養動脈内カテーテルまたは末梢静脈よりLenkapheresis最終日より連続4日間、IL-2  $1 \sim 2 \times 10^6$ U/日 動注または静注2日間

LAK細胞として自家静注している。5日間連続のleukapheresisを1コースとし、1~3コース繰り返している。LAK細胞投与時には $10,000 \sim 100,000$ U/kgのIL-2を8時間ごと併用投与している。対象疾患の中に、大腸癌が9例あるが、直腸癌の肺転移例でPR1、結腸癌の肝転移、肺転移の各症例でPR1をえており、奏効率は33.3%となっている。食道癌の1例ではncである。その後の1987年の同様の症例を増加しての発表では、転移陽性大腸癌26例でCR1, PR2, MR1で奏効率が12%となっている。同様のプロトコールであるが、IL-2を24時間持続点滴静注で投与したOldhamら<sup>11)</sup>の報告では大腸癌13例に有効例を全く認めていない。本邦に多い胃癌、肝癌、膵癌などの消化器癌では本邦の成績が期待されている。われわれは図3のごときプロトコールで、現在までに手術不能原発性肝癌4例、転移性肝癌4例(直腸癌、乳癌、胃癌、平滑筋肉腫、各1例)に対してLAK+IL-2療法を行い、4例に腫瘍の縮小(MR)、3例に腫瘍マーカーの低下をみている。

LAK療法時の副作用であるが、LAK細胞自体の静

注では $10^{11}$ 個以上の大量投与が可能で、静注後数時間、発熱と悪寒をみるのみである。併用する IL-2 投与の毒性が高く、8時間ごとの静注では $10,000\sim 30,000\text{U/kg}$ に大多数の患者は耐えうるものの、コントロールが困難な体液の貯留が時々みられている。発熱、悪寒などはインドメサシンなどの解熱剤の使用により容易にコントロール可能である。

### 3. 抗腫瘍性サイトカインの投与

最近のバイオの進歩に伴い cytokine の大量使用が可能となり、中でも Interferon (IFN), Tumor necrosis factor (TNF) が抗腫瘍性 cytokine として注目を集めている。われわれは、人天然型の IFN- $\alpha$  と人天然型の TNF- $\alpha$  を活動比で 1 : 1 に混合したものと OH-1 標品と称して臨床治験を展開中である。

a. OH-1 の高純度、大量生産：林原生物化学研究所において、免疫抑制を受けた新生仔ハムスターに BALL-1 細胞 (human lymphoblastoid cell line) を皮下移植して 3 週すると、体重と同程度の腫瘤に増殖してくる。数千匹のハムスターより採取した BALL-1 生細胞浮遊液に、HVJ (hemagglutinating virus of Japan) を加えて、 $35^{\circ}\text{C}$ 、18時間培養する。培養上清を集め、まず抗 IFN- $\alpha$  モノクローナル抗体にて IFN- $\alpha$  を分離精製する。残余の上清をカラムを通した後抗 TNF モノクローナル抗体にて TNF- $\alpha$  を分離精製する。得られた IFN- $\alpha$  は  $2\times 10^8\text{IU/mg}$  蛋白、TNF- $\alpha$  は  $1\times 10^9\text{u/mg}$  蛋白と高純度であり、1匹のハムスター当たり IFN- $\alpha$  が  $8.0\times 10^7\text{IU}$ 、TNF- $\alpha$   $2.0\times 10^7\text{u}$  と天然型の cytokine の量産が可能である。

b. OH-1 の基礎研究：In vitro で多数の人腫瘍株細胞を標的として抗腫瘍性を検索したところ、IFN- $\alpha$  と TNF- $\alpha$  を活性比において 1 : 1 に混合した場合、相乗的抗腫瘍性が最も高く、抗腫瘍スペクトラムが大きく広がることも明らかとした<sup>12)</sup>。Nude マウスに人大腸癌細胞株 p4788 細胞を静注して肺転移をつくる in vivo の研究においても、OH-1 は極めて強い相乗的抗腫瘍性を示し、P4788 静注後 3 日目より 21 日間の OH-1 の i.v. で肺転移が完全に防止されている。OH-1 の作用機作についても検討中であるが、IFN- $\alpha$  も TNF- $\alpha$  も cell cycle を S 期で止め、 $G_2$ 、M 期への移行をブロックするが、両者の併用によりさらに強いブロックがかかり S 期に細胞が集積してくる<sup>13)</sup>。したがって S 期依存性の 5-FU や UFT と OH-1 を併用すれば、両者間に相乗的抗腫瘍効果が期待されるが、実験的にも臨床的にも証明される場所である。

c. OH-1 の第 1 相試験<sup>14)</sup>：従来の癌治療法が無効である進行癌患者 23 人を対象に、初回投与量を  $10\times 10^4\text{U/body}$ 、 $20\times 10^4\text{U/body}$  あるいは  $50\times 10^4\text{U/body}$  とし、3 日ごとの間歇投与で増量し、最大投与量を  $2,000\times 10^4\text{U/body}$  とした。なお、OH-1  $100\times 10^4\text{U}$  と言えば、IFN- $\alpha$   $100\times 10^4\text{IU}$  と TNF- $\alpha$   $100\times 10^4\text{u}$  の混合液を意味している。発現頻度の高い副作用は発熱、悪寒であるが、3~5 時間で解熱する。インドメサシン坐薬などの常用解熱剤で容易にコントロールされる。その他、一般血液検査、肝、腎、心機能検査に異常はみられていない。

d. OH-1 の初期第 2 相試験<sup>15)</sup>：初期第 2 相試験の主目的は、OH-1 の単独投与でいかなる種類の癌に有効なのか、その際の投与量、投与期間、副作用の再確認などである。従来の癌治療が無効な進行あるいは再発性の固型癌患者を対象に、前治療後 4 週以上の無治療期間を置いた後から OH-1 を投与するなどの厳しい条件下で治験が進められる。抗腫瘍効果は癌治療学会の「固型がん化学療法直接効果判定基準」に準拠している。OH-1 の投与は、原則として朝・夕 2 回に分けて連日静注される。昨年 1 月末集計の中間検討では、対象の選択条件を満し、OH-1 投与が十二分に行われた完全例は 101 例である。臨床効果は CR1, PR12, MR4 で奏効率は全体で 12.9% (13/101)、MR をも含めると 16.8% である。癌種別にみると、肝癌で PR3、奏効率 25.0%、乳癌で CR1, PR3、奏効率 23.5%、腎癌で PR3、奏効率 42.9%、卵巣癌で PR1、奏効率 50%、縦隔洞腫瘍、脂肪肉腫で各 1 例の PR がえられている。OH-1 の 1 日投与量別に分けると、初期の  $100\times 10^4\text{U/日/body}$  の 39 例では CR, PR はなく、後期の  $200\sim 600\times 10^4\text{U/日/body}$  の 62 例で CR1, PR12 が出ている。その奏効率は肝癌で 42.9% である。胃癌で 1 例に MR がえられている。消化器癌のうち、OH-1 が有効と思われるものは肝癌であるが、OH-1 に 5-FU あるいは UFT を併用すると、いずれも単独投与では無効であった胃癌、大腸癌、膵癌などにも PR 例が多数出ている。

### おわりに

以上、免疫監視機構と血行性転移、その免疫療法の一端について述べたが、未知の点が極めて多い。血液凝固阻止剤使用時の NK 細胞と転移、BRM の腫瘍内注射により LAK 細胞の誘導は可能か、LAK 療法時にいかにして LAK 細胞を病巣へ集めるか、さらには IL-2 で増幅した TIL を用いての養子移入はどうか、そして IFN- $\alpha$  と TNF- $\alpha$  の併用よりもさらに有効な cyto-

kine の組み合わせの検討など、われわれの行っている免疫療法に限ってみても多くの問題点が残されている。消化器癌の血行性転移と免疫に関する研究は、将来性があるものの日常の臨床に組み込むためには、なお時日が必要である。

#### 文 献

- 1) 川口隆憲, 五十嵐誠治, 中村久也: 血行性転移の成立機序. 福島医誌 36: 1-10, 1986
- 2) 折田薫三, 田中紀章: 腫瘍に対する免疫監視機構の展望. 広瀬俊一編. 解説臨床免疫学, 科学評論社, 東京, 1987, p321-345
- 3) 折田薫三: 免疫と再発. 最新医 42: 2546-2556, 1987
- 4) 北川堯之: 胃癌予後因子としての胃癌巣周囲のリンパ球浸潤. 岡山医会誌 94: 599-611, 1982
- 5) Wiltrott RH, Herberman RB, Zhang S-R et al: Role of organ-associated NK cells in decreased formation of experimental metastases in lung and liver. J Immunol 134: 4267-4275, 1985
- 6) Hanna, N: The role of natural killer cells in the control of tumor growth and metastasis. Biochim Biophys Acta 780: 213-226, 1985
- 7) Gasic GJ, Tuszynski G, Gorelik E: Interaction of the hemostatic and immune systems in the metastatic spread of tumor cells. 29: 173-212, 1986
- 8) 折田薫三: 消化器癌の免疫治療法. 岡 博, 三輪剛, 出月康夫ほか編. Annual Review, 消化器, 中外医学社, 東京, 1985, p261-267
- 9) 徳田直彦: 胃癌における浸潤単核細胞の種類に関する研究—免疫組織学的検討—. 岡山医会誌 98: 793-808, 1986
- 10) Rosenberg SA, Lotze M, Muul LM et al: Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. N Engl J Med 313: 1485-1492, 1985
- 11) West WH, Tauer KW, Yannelli JR et al: Constant-infusion recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. N Engl J Med 316: 898-905, 1987
- 12) Orita K, Ando S, Kurimoto M: Synergism between human tumor necrosis factor and human interferon- $\alpha$ : Effects on cells in culture. Acta Med Okayama 41: 155-160, 1987
- 13) Naomoto Y, Tanaka N, Fuchimoto S et al: In vitro synergistic effects of natural human tumor necrosis factor and natural human interferon- $\alpha$ . Jpn J Cancer Res(Gann) 78: 87-92, 1987
- 14) 折田薫三, 淵本定儀: BALL-1細胞由来サイトカインレ OH-1 (nHuTNF- $\alpha$ +nHuIFN- $\alpha$ ) の第1相試験. Biotherapy 1: 92-98, 1987
- 15) 淵本定儀, 折田薫三: 初発および再発性腫瘍に対する OH-1 (natural human TNF- $\alpha$  and natural human IFN- $\alpha$ ) 治療の試み. 日外会誌 88: 1105-1108, 1987