

手術侵襲による胃癌, 大腸癌術後免疫能の低下と術前・ 術後レンチナン投与の及ぼす効果

稲城市立病院外科

高橋 哲也 石井 健嗣 酒井 憲孝
関 学 佐藤 次良 落合 剛

SRL 細胞性免疫課

岩 城 孝 次
慶應義塾大学医学部外科学教室
小 平 進

POSTOPERATIVE IMMUNOSUPPRESSION IN CASES OF GASTRIC AND COLON CANCERS PRODUCED BY SURGICAL OPERATION AND THE EFFECT OF PERIOPERATIVE ADMINISTRATION OF LENTINAN

Tesuya TAKAHAHSI, Taketugu ISHII, Noritaka SAKAI,
Manabu SEKI, Jirou SATO, Takeshi OCHIAI,
Kouji IWAKI¹⁾ and Susumu KODAIRA²⁾

Department of Surgery, Inagi City Hospital

1) Department of Cellular Immunology, Special Reference Laboratories

2) Department of Surgery, School of Medicine, Keio University

胃癌13例, 大腸癌10例の手術症例を対象に術前あるいは術前・術後にレンチナン (Lentinan 以下 LT) を投与し, 術前・術後の免疫能に及ぼす効果を比較検討した。手術侵襲により術後の NK 活性, PHA 幼若化率, Leu7⁺, HLA-DR⁺リンパ球が低下した。術前 LT 投与では手術日の NK 活性, PHA 幼若化率, Leu7⁺, CD8⁺リンパ球が上昇した。術後は対照群と同様な低下を示したが, LT 投与によりその低下は相対的に軽度であった。術前・術後 LT 投与では術後7日目の NK 活性, PHA 幼若化率, Leu7⁺リンパ球は LT 投与前のレベルを維持することができた。術前・術後 LT 投与は有意義と考えられる。

索引用語: 胃癌, 大腸癌術後免疫能の低下, レンチナン, 胃癌, 大腸癌術後 NK 活性の変動,

胃癌, 大腸癌術後の PHA 幼若化率の変動, 胃癌, 大腸癌術後のリンパ球サブセットの変動

I. はじめに

一般に消化器癌の患者では免疫能が低下していることが知られており¹⁾, また従来より手術侵襲による術後免疫能の低下も指摘されている²⁾³⁾, 癌細胞の転移を防御するうえで, 患者の免疫能が重要な役割を果たしていると考えられるが⁴⁾, 術中・術後は手術操作による癌細胞の散布の可能性のため, 通常の状態に比較し転

移をおこしやすい状況にあることが想定される。これより術中・術後の免疫能低下は癌の手術患者にとって不利な条件と考えられ, 癌細胞の転移能と患者の転移防御能の均衡を保つために, 術中・術後の免疫能の低下を防ぐことは重要な意義を有する。また, 癌細胞の転移のみならず, 術後合併症とくに術後感染症予防の観点からも, 術後免疫能の低下を阻止することは重要である。そこで著者らは消化器癌患者の術前・術後の免疫能を比較し, 術後免疫能の低下の有無を検索するとともに, 術中の免疫能を高め, 術後の免疫能の低下

ナル抗体 $50\mu\text{l}$ を加え、永冷下30分間 incubate 後、赤血球溶解剤（塩化アンモニウム）を添加し、室温にて15分間静置した。フローサイトメトリー法による細胞自動分析装置（FCM-1D, 日本分光, Japan）を用いて測定した。間接法ではヘパリン加末梢血を $50\mu\text{l}$ にPBSで最適希釈された精製モノクローナル抗体 $50\mu\text{l}$ を加え、永冷下30分間 incubate 後、BBS(-)にて2回洗浄した。ついで、FITC 標識抗マウス IgG $50\mu\text{l}$ を添加し、氷冷下30分間 incubate 後、PBS(-)にて2回洗浄した。最後に赤血球溶解剤を添加し、以下直接法と同様に測定した。

III. 結 果

1. NK 活性

対照群のNK活性は術前7日前、手術日に比し術後3日目、7日目と徐々に低下し、7日目で最も低い値を示したが14日目ではやや回復がみられた(図1)。術前7日前 (mean+SD (%), 35.5 ± 14.1) と術後7日目 (18.1 ± 6.6) のNK活性の比較では有意差 ($p < 0.05$) を認めた。

一方、LT-1群では術前のLT投与により術前7日前に比べ手術日のNK活性の上昇を認めた。しかしながら、術後3日目、7日目は対照群と同様に徐々に低下し術後14日目でやや回復がみられた。術前7日前 (37.1 ± 19.8) と術後7日目 (22.6 ± 8.7) のNK活性の比較では対照群と同様に有意差 ($p < 0.05$) を認めた。

また、LT-2群のNK活性は術前のLT投与により、LT-1群と同様に術前7日前 (32.3 ± 16.2) に比べ手術日のNK活性 (45.7 ± 10.8) の上昇を認めた ($p < 0.05$)。術後7日目のNK活性 (28.9 ± 13.5) は手術日に比べ低下するが、術前7日前との比較では、LT投与により軽度の減少を認めるにすぎず、術前7日前と術後7日目のNK活性の比較において、対照群、LT-1群で認められた有意差は、LT-2群では認められなかった。

2. PHA 幼若化率

対照群では、術後の比活性はNK活性と同様な傾向を示した(図2)。すなわち、術前に比し3日目、7日目と低下し、7日目で最も低い値を示した後、14日目で術前レベルに回復した。術前7日前 (189.5 ± 94.7) と術後7日目 (53.6 ± 35.8) の比較ではNK活性と同様に有意差 ($p < 0.02$) を認めた。

LT-1群では、術前LT投与により手術日の比活性は術前7日目 (142.8 ± 39.5) に比べ上昇し、その傾向は

図1 NK活性の変動
術前7日前と術後7日後の比較において、対象群、LT-1群では有意 ($p < 0.05$) の低下を認めたがLT-2群ではその差を認めなかった。

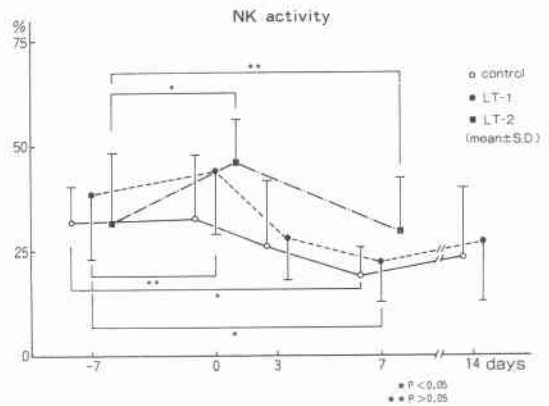
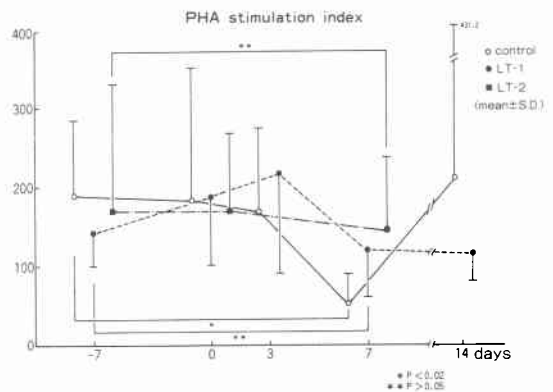


図2 PHA 幼若率の変動
術前7日前と術後7日後の比較において、対象群では有意 ($p < 0.02$) の低下を認めたが、LT-1群、LT-2群ではその差を認めなかった。



術後3日目まで継続した。しかし、術後7日目 (117.8 ± 57.3) には低下し、14日目もほぼ同値を示した。術後7日目、14日目の比活性は、手術日に比較し低下していたが、術前7日目と比較すると、ほぼ同じ値を示し対照群において認められた有意差は示されなかった。

LT-2群では術前7日前、手術日、術後7日目とほぼ一定の値を示し、術後の低下は対照群、LT-1群に比べ軽度であった。術前7日前 (173.1 ± 159.0)、術後7日目 (144.2 ± 92.5) の比較においてもLT-1群と同様に有意差は認めなかった。

3. リンパ球のサブセット

Tリンパ球のマーカーであるCD3⁺リンパ球は対照

図3 CD3⁺リンパ球の変動

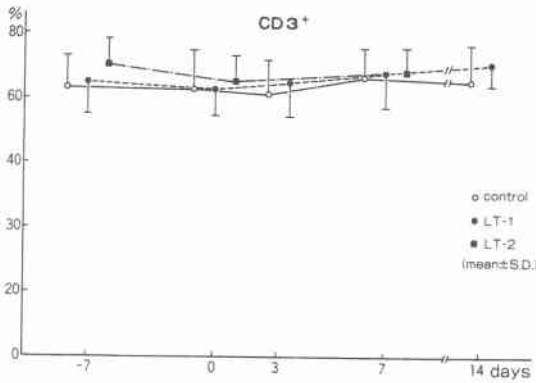


図5 CD4⁺リンパ球の変動

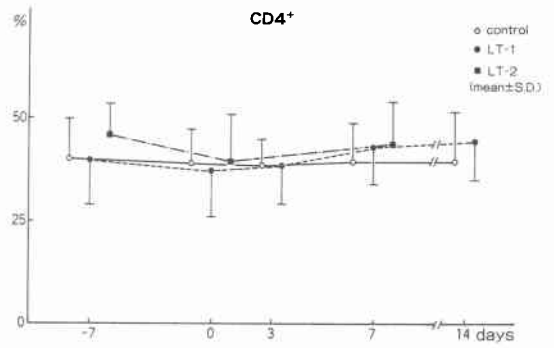


図4 HLA-DR⁺リンパ球の変動

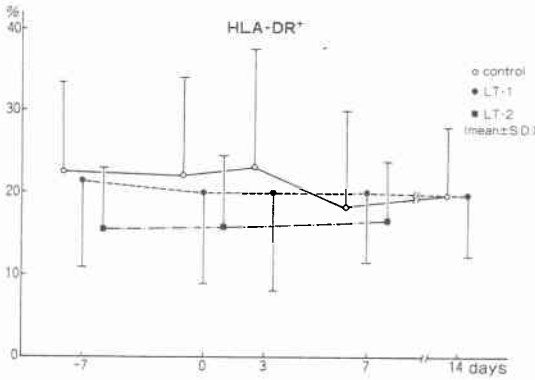
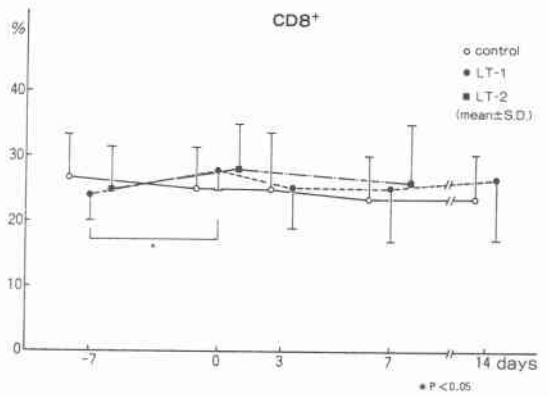


図6 CD8⁺リンパ球の変動



群, LT-1群, LT-2群の3群とも, 術前, 術後の比較において大きな変動はみられなかった(図3)。

HLA-DR⁺リンパ球は対照群で術後3, 7日目にやや減少したが, 術後14日目で術前レベルにはほぼ回復した(図4)。これに対し, LT-1群, LT-2群では術前, 術後ともほぼ一定の値を示し, 大きな変動はみられなかった。

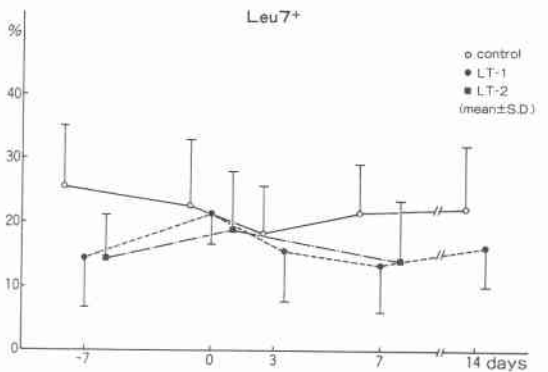
CD4⁺リンパ球は対照群において術前, 術後とも一定の値を示したのに対しLT-1群, LT-2群では術後軽度の上昇を認めた(図5)。

CD8⁺リンパ球は対照群において術前, 術後ともおおきな変動はみられなかった(図6)。LT-1群, LT-2群ではLTの投与により術前7日前に比べ手術日の値は上昇傾向を認め, LT-1群では有意差(p<0.05)を認めた。しかし, 術後3, 7日目は対照群と同様に大きな変動はみられなかった。

Leu7⁺リンパ球は対照群において, 術前7日前, 手術日に比べ術後3日目は減少したが, 術後7, 14日目は

図7 Leu7⁺リンパ球の変動

Leu7⁺リンパ球のNK活性と同様な変動を示した。



回復し, 手術日とはほぼ同値を示した(図7)。LT-1群ではLTの術前投与により術前7日前に比較し手術日のLeu7⁺リンパ球はやや増加した。また術後は, 対照群と同様に減少し術後7日目が最も低値を示した。しかし, 最も低値を示した術後7日目においても, 術前7日前

の値と比較するとほぼ同値を示した。LT-2群では、LT-1群と同様に術前7日目の値に比べ手術日のLeu7⁺リンパ球は上昇し、術後7日目の値は手術日より減少したものの、術前7日目の値と比較するとほぼ同値を示した。

IV. 考 察

消化器癌の手術患者のうち、局所が完全に切除されたと考えられる治癒切除症例においても術後の再発は完全には避けられない。治癒切除がされた術後再発症例の多くは、術前にすでに微小遠隔転移巣が存在していたと考えられるが、しかし症例によっては転移の好機を得やすいと想定される術中・術直後の遠隔転移も否定することはできない。このような遠隔転移を阻止する役割には患者の免疫能が大きく貢献していると考えられ⁹⁾、具体的には活性化マクロファージ、NK細胞、LAK (lymphokine activated killer) 細胞、K細胞、キラーT細胞などがあげられる。免疫能と転移に関してはNK活性についてよく検討されている。Gorelik ら⁹⁾はYAC-1リンパ腫、B16メラノーマ細胞、Lewis肺癌の株をもちいて、またHanna ら⁶⁾⁷⁾はB16、K-1735メラノーマ細胞、UV2237線維肉腫をもちいてNK細胞の転移抑制効果を述べている。一方、消化器固型癌に関してはNK細胞の転移抑制効果の報告は少なく不明の点も多い。しかし、固型癌をもちいた転移実験の困難さ、IL-2で誘導されるLAK細胞の前駆細胞はNK細胞であるとの報告⁸⁾⁹⁾などから転移に関するNK細胞の役割を簡単には否定することはできない。一般に消化器癌患者の免疫能は抑制されており¹⁾、病期の進行に相関するとされる。これらは血清中非特異的抑制物質をはじめ¹⁰⁾、腫瘍由来の抑制物質¹¹⁾¹²⁾、サブレッサーT細胞活性の誘導¹³⁾などさまざまな機序により引き起こされると考えられる。

また一方、従来より手術侵襲による術後の免疫能の低下も知られており²⁾³⁾、この免疫能の低下が術中・術直後の遠隔転移を助長する恐れがある。このような観点より、Cole ら¹⁴⁾は術後の免疫抑制に対し免疫賦活剤の投与の必要性を主張している。実際、手術前後に免疫賦活剤を投与し、術後転移に対する有効性を実証している報告がある。Lundy ら¹⁵⁾は20-methylcholanthrene 誘発肉腫を接種したC57B1/6マウスの後肢を切断し、術後の肺転移率を検索しているが、手術日および術後にthiabendazoleに投与し、肺転移率の減少を報告している。また、Weese らは^{16)~18)}ラットの大腸癌を門脈内に注入する肝転移実験モデルにおいて、

levamisole, recombinant human interleukin-2, およびmaleic anhydride divinyl ether-2 (MVE-2)などを投与する前処置により肝転移率の低下を報告している。以上は動物実験であるが、臨床例では大下ら¹⁹⁾が胃癌症例で術前後のOK432投与によるNK活性への影響を、またWindle ら²⁰⁾は²⁰⁾は大腸癌症例で術後levamisoleの投与による効果を検討している。

本研究においても術後の免疫能の低下が示された。対照群のNK活性は術後3、7日目と低下し7日目に最低値を示した後、術後14日目にほぼ術前値に回復した。この傾向は他の報告²¹⁾²²⁾にほぼ一致している。PHAの幼若化率、NK細胞とK細胞の表面マーカーであるLeu7⁺リンパ球、およびBリンパ球の表面マーカーHLA-DR⁺リンパ球においてもNK活性と同様な手術侵襲による免疫能の低下が示された。CD3⁺、CD4⁺、およびCD8⁺リンパ球はおのおの術後大きな変動は示さなかったが、これらの解析にはさらにtwo color flow cytometryでの分析が必要であると考えられる。

LTは千原らによるシタケより抽出された分子量95~105万の多糖体であるが、マウスにおいてマクロファージ、ヘルパーT細胞、NK細胞の活性化、ヒトにおいてPHA幼若化、免疫グロブリン産生能の促進などが報告されている^{23)~25)}。

LTの術前投与により、手術日のNK活性、Leu7⁺リンパ球、CD8⁺リンパ球の増加、およびPHAの幼若化率の改善がみられ、これらの術後の低下はまぬがれないもののその低下は相対的に軽度であることが示された。また、HLA-DR⁺リンパ球はLT投与による変化はみられないが、術後の低下は防止された。またLTの術中・術後の投与ではその効果が一層明確になり、NK活性、PHAの幼若化率、Leu7⁺リンパ球は術後7日目でもLT投与前のレベルに維持することができた。以上より術前・術後のLT投与は相対的に術後の免疫能の低下を防止することが考えられた。

本研究ははまだ症例数も少なく解析も不十分であるが、今後は病期の進行度、手術時間、輸血の有無²⁶⁾などの観点からも検討しなければならないと考える。また、術後免疫能の低下の予防が臨床上当面に有意義であるか否かを遠隔成績で検討する必要がある、とくに中等度進行癌で治癒切除がなされた症例において検索する価値があると考えられる。

V. ま と め

1) 手術侵襲により術後のNK活性、PHA幼若化

率, Leu7⁺, HLA-DR⁺リンパ球が低下した。これらは術後7日目に最も顕著となり, 術後14日目では回復がみられた。

2) 術前7, 4日目のLT投与では手術日のNK活性, PHA幼若化率, Leu7⁺, CD8⁺リンパ球が上昇した。術後は対照群と同様な低下を示したが, LT投与によりその低下は相対的に軽度であった。

3) 術前7, 4日前・術後1, 4日後のLT投与では術後7日目のNK活性, PHA幼若化率, Leu7⁺リンパ球は手術日と比較すると低下するものの, LT投与前のレベルは維持することができた。

4) 術後の免疫能の低下を予防する一つの手段として術前・術後LT投与は有意義と考えられる。

本論文の要旨は第23回日本癌治療学会総会(札幌), および第31回日本消化器外科学会総会(東京)において発表した。

最後に, 種々の御協力をいただいた稲城市立病院検査室長多田雄一氏をはじめとする各職員に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 漆崎一郎: 癌患者の免疫能, 癌の臨 24: 378-385, 1978
- 2) Roth JA, Golub SH, Grimm BA et al: Effect of operation on immune response in cancer patients: Sequential evaluation of in vitro lymphocyte function. *Surgery* 79: 46-51, 1979
- 3) McLoughlin GA, Wu AV, Saporoschetz I et al: Correlation between anergy and acirculating immunosuppressive factor following major surgical trauma. *Ann Surg* 190: 297-304, 1979
- 4) 野本亀久雄: 転移抑制のメカニズム-転移と生体防御のメカニズム-, 最新医 41: 2243-2247, 1986
- 5) Goerlik E, Wiltrout RH, Okumura K et al: Role of NK cells in the control of metastatic spread and growth of tumor cells in mice. *Int J Cancer* 30: 107-112, 1982
- 6) Hanna N, Fidler I: Relationship between metastatic potential and resistance to natural killer cell-mediated cytotoxicity in three murine tumor systems. *JNCI* 66: 1183-1190, 1981
- 7) Hanna N, Burton RC: Definitive evidence that natural killer(NK) cells inhibit experimental tumor metastasis in vivo. *J Immunol* 127: 1754-1758, 1981
- 8) Itho K, Tilden AB, Kumagai K et al: Leu-11⁺ lymphocytes with natural killer(NK) activity are precursors of recombinant interleukin 2(rIL-2)-induced activated killer(AK) cells. *J Immunol* 134: 802-807, 1985
- 9) Itho K, Tilden AB, Balch CM: Lysis of human solid tumor cells by lymphokine-activated natural killer cells. *J Immunol* 136: 3910-3915, 1986
- 10) 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 8: 423-433, 1980
- 11) Medoff JR, Jegasothy BV, Roche JK: Carcinoembryonic antigen-induced release of a suppressor factors from normal human lymphocytes in vitro. *Cancer Res* 44: 5822-5827, 1984
- 12) Hoagland JG, Scoggin S, Giavazzi R et al: Tumor-derived suppressor factors (TDSFs) in normal and neoplastic colon and rectum. *J Surg Res* 40: 467-474, 1986
- 13) 棚田 稔: がん患者における免疫抑制機序に関する研究, 日外会誌 86: 514-526, 1984
- 14) Cole WH, Humphrey L: Need of immunologic stimulators during immunosuppression produced by major cancer surgery. *Ann Surg* 202: 9-20, 1985
- 15) Lundy J, Lovert EJ, Wolinsky SM et al: Immune impairment and metastatic tumor growth. The need of an immunorestorative drugs as an adjunct surgery. *Cancer* 43: 945-951, 1979
- 16) Weese JL, Gilbertson EM, Syrjala SE et al: Prevention of rat colon cancer metastases by perioperative immunostimulation. *Surgery* 96: 420-426, 1984
- 17) Weese JL, Gilbertson EM, Syrjala SE et al: Reduced incidence of rat colon cancer metastases by perioperative immunostimulation with maleic anhydride-divinyl Ether-2(MVE-2)? *Dis Colon Rectum* 28: 217-221, 1985
- 18) Weese JL, Emoto SE, Sondel PM: Reduced incidence of hepatic metastases by perioperative treatment with recombinant human interleukin-2. *Dis Colon Rectum* 30: 503-507, 1987
- 19) 大下裕夫, 佐治薫豊, 杉山保幸ほか: 胃癌症例における術前NK活性測定の意義と術後NK活性低下に対する非特異的免疫賦活剤術前・術後投与の効果について, 日外会誌 86: 1417-1425, 1985
- 20) Windle R, Wood RFM, Bell PRF: The effect of levamisole on postoperative immunosuppression. *Br J Surg* 66: 507-509, 1979
- 21) 前野原茂穂, 高尾尊身, 愛甲 孝ほか: 消化器癌患者における natural killer (NK) 活性に関する研究, 日消外会誌 18: 1824-1830, 1985

- 22) 田中義憲, 細川友秀, 青池 晟ほか: 胃癌患者における Natural Killer 活性の解析 I. 進行度との関連性と術後経過. 臨免疫 14: 227-236, 1982
- 23) Chihara G, Maeda YY et al: Inhibition of mouse sarcoma-180 by polysaccharides from lentinan edodes (Berk.) Sing. Nature 22: 687-688, 1969
- 24) 秋山由紀雄, 羽室淳爾: 多糖の抗腫瘍性発現の機序と免疫学的性状の特徴—特異的免疫応答に及ぼす効果. 蛋・核・酵 26: 17-32, 1981
- 25) 網野光人, 矢田純一: ヒトリンパ球に対するレンチナンの免疫賦活作用について I. In vitro の検討. 癌と化療 8: 996-973, 1981
- 26) 二宮基樹: 輸血による免疫学的抑制誘導の機序に関する研究. 日外会誌 87: 1380-1390, 1986
-