

## 肝細胞癌に対する N-cws/Lipiodol 動注免疫療法の 安全性と効果について

千葉県がんセンター消化器科, 千葉大学第2外科\*

渡辺 一男 浅野 武秀\* 竜 崇正 坂本 薫  
藤田 昌宏 本田 一郎 渡辺 敏 川上 義弘

肝細胞癌24症例に対して, N-cws/Lipiodol 動注免疫療法を試み, その安全性と治療効果を検討した。

1) 発熱を主とし, 嘔吐, 一過性の血圧低下などあるも, 動脈阻血が無い胃, 十二指腸潰瘍, 胆嚢炎などの合併症はなく, 特に肝障害を全く残さなかった。

2) AFPの低下, 画像上での腫瘍陰影の縮小をもたらし, また投与局所に, リンパ球浸潤, 肉芽腫形成などの反応を惹起し, 同時に主腫瘍や門脈腫瘍栓の壊死をきたすなど宿主介在性と考えられる効果を認めた。

3) 末梢血中のリンパ球サブセットは, 動注加療により Ts 低下, Th/Ts 比の上昇など, 免疫賦活の側へ変動した。

以上の結果より本治療方法は安全であり, 投与した局所に十分な効果が期待できるとともに, その作用機序には, 抗腫瘍性に働く免疫の賦活の関与が示唆された。

**Key words:** intraarterial infusion immunotherapy, nocardia rubra cell wall skelton, hepatocellular carcinoma, lymphocyte subpopulation

### はじめに

近年, 超音波, computed tomography (以下 CT) など画像診断技術の進歩に伴い, 外科的切除の適応となる肝細胞癌症例は年々増加しつつある。しかし, 術後の再発の頻度は依然として高く, また, 合併する肝機能障害により, 切除や再切除の不可能な症例も多い。これらの問題の対策として, 術前術後の transcatheter arterial embolization (以下 TAE)<sup>1)~3)</sup>, 動注化学療法<sup>4)5)</sup>, エタノール局注 (percutaneous ethanol injection therapy: 以下 PEIT)<sup>6)</sup>などが試みられその延命効果も確認されているが, 同時にそれぞれの方法が持つ弱点も明かとなり, 特に TAE については娘結節や門脈腫瘍塞栓には効き難く, また術前の施行も再発を抑える効果には疑問があるなど, その限界も明確になってきた<sup>3)7)</sup>。

一方, 肝癌に対する肝動脈を介しての治療は, 血管造影により診断や治療の適応を確認しつつ施行出来る

ことより, 従来より最も一般的な治療経路であったが, 近年, 埋め込み式リザーバーの開発と合いまって, 治療を容易に繰り返し行えるようになりつつあり, また肝細胞癌の治療が長期の管理を必要とすることからも, この経路による安全で, 効果的な治療方法の開発が待たれている。

そこでわれわれは, 限界の見えてきた, TAE による阻血効果や, 化療による薬理学的効果などとは全く異なった別の機序による抗腫瘍効果を期待して, Lipiodol の drug delivery system (DDS) 機能<sup>8)</sup>と, nocardia rubra cell wall skelton (以下 N-cws) の biological response modifier (BRM) 機能<sup>9)</sup>とを組み合わせた動注免疫療法を試みている。今回, 肝細胞癌 24症例に対して行った, この N-cws/Lipiodol 動注療法について, その安全性と治療効果を検討したので報告する。

### 対 象

昭和59年4月より本年4月末日までに, 当センター消化器外科に入院し, 治療を受けた肝細胞癌患者は65例であった。手術症例は55例あり, 他の10例は高度肝

<1990年1月10日受理>別刷請求先: 渡辺 一男  
〒280 千葉市仁戸名町666-2 千葉県がんセンター  
消化器外科

障害、癌多発、腎障害などの理由により手術不能であった。手術例のうち非切除または明かな姑息的手術に終わった症例は8例であり、他の47例の切除例のうち紹介医にてTAEなど、なんらかの前治療がなされていたものは32例あり、残りの15例は無治療であった。以上の症例の内、前治療無しで紹介された10例に対しては術前に本治療法を施行し、2～4週後に肝切除施行した。また、当科にて本治療をせずに切除した後、再発が確認された症例のうちの9例と、非手術10例中の5例に対して本治療法を施行したので、以上合計24症例を検討の対象とした。対象症例の性別は男18例、女6例、年齢は39～68歳、平均55.8±7.7歳であった。また、切除例および再発例の各1例ずつに、再発巣に対して、それぞれ肺切除と肝再切除を施行した。

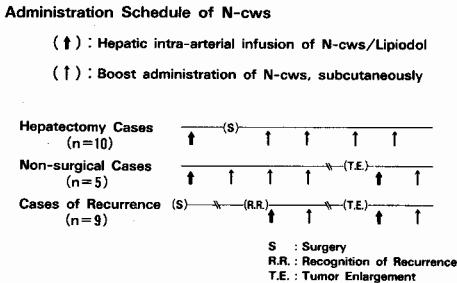
方法

1) N-cws/Lipiodol 動注免疫療法

方法は、N-cws(藤沢薬品 KK)0.2～1.0mg を、60% Urografin (日本シェーリング) 0.4ml に溶解し<sup>10)</sup>、Lipiodol (児玉 KK) 5～10ml に加えて、2本のシリンジ間をピストン移動させて十分混和し、血管造影時に腫瘍支配肝動脈に投与した。切除例では、術前に動注し、その後2～4週目に肝切除術施行、非手術例および再発例では、診断または再発を確認した後動注を施行した。その後は、経過観察し、切除例については再発が疑えるか、確認された時点で同様の動注を繰り返し、その他の例では腫瘍の増大をみる毎に同様の治療、またはその他の治療を追加施行した(Fig. 1)。また、全症例とも、動注後は4週ごとにN-cws 0.4mg を皮内に追加投与した。なお、切除例については、N-cws 術前投与による再発抑制効果を検討するために、再発が確認されるまでは、TAEや化学療法などの治療を行わないこととした。

2) 免疫学的検査

Fig. 1 Schedule of arterial infusion of N-cws/Lipiodol



対象とした全症例について初回の動注施行前、および施行後1～2週目にヘパリン加末梢血を採取し、比重遠沈法にて分離したリンパ球のサブセットの分析を行い比較検討した。リンパ球分析はFACS IV (Beckton-Dickinson 社製)を用い、two-color FCM (flow cytometry)法によって行った。異なった2種の色素、すなわち、FITC(Fluorescein isothiocyanate)およびPE (Phycoerythrin)にそれぞれ標識されたLeuシリーズ (Dickinson Monoclonal Center)のモノクローナル抗体を使用し、シングルレーザー装置により分析を行った。なお、コントロールとして、同時に健常人29名の末梢血リンパ球サブセットの測定を行ない肝細胞癌症例における動注施行前の値と比較した。

成績

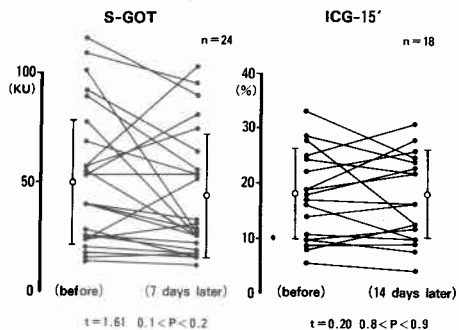
1) 安全性について

N-cws/Lipiodol 動注療法の副作用については、全例とも初回動注の場合に限って検討の対象とした。動注の臨床症状に与える影響としては、動注後12時間以内に最高平均38.8±0.7℃まで熱発し、解熱に平均6.9±4.0日を要した。また、12/24例の50%に1～数回

Table 1 Clinical symptoms induced by arterial infusion of N-cws/Lipiodol and their frequency and duration

	Fever		Vomiting	Hypotensive Episode
	(max./mean) (°C)	(Duration) (Days)		
Hepatectomy Cases (n=10)	38.6±0.67	5.2±2.9	5 / 10	1 / 10
Non-surgical Cases (n=5)	39.0±0.68	8.0±4.8	4 / 5	2 / 5
Cases of Recurrence (n=9)	38.9±0.77	8.1±4.3	3 / 9	3 / 9
Total Cases (n=24)	(38.8±0.71)	(6.9±4.0)	12 / 24	6 / 24

Fig. 2 Changes of liver function profiles by arterial infusion of N-cws/Lipiodol



の嘔吐が見られ、6/24例の25%に脱水および末梢血管抵抗減少によると思われる血圧低下をみたが、特別な治療を要しなかった。(Table 1)。肝機能に対する影響は、transaminaseなどの逸脱酵素についてみると、動注直後一過性の上昇を示すが、S-GOT値でみると前値、平均52.5±32.0KUであるのに対して約7日後には44.3±28.5KUと前値に復している。また、動注後2週間目に施行したICG-15分値も前値平均17.8±8.2%に対し後値17.5±7.9%と有意差を認めなかった(Fig. 2)。

2) α-fetoprotein (以下AFP) 値について

すべての症例について等しく動注の効果を評価する手段として、AFP値の変動をみたが、対象としては、前値が20ng/ml以上の異常値を示した14症例につき初回動注による変化のみについて検討した。それら14例の前値の平均は281.7±9.7ng/mlであったが、動注

約3週後では71.7±8.7ng/mlと有意に低下し、減少率は約75%であった(Fig. 3)。

3) 画像上の評価

非手術例5例については、動注の効果を肝癌化学療法効果判定基準<sup>11)</sup>に従い、画像上の腫瘍陰影の変化を比較計測することにより判定した。結果はTable 2に示すごとく動注後2~8か月間において、3例が63.8~92.5%の著しい縮小率を示し、1例が11.2%と

Fig. 3 Changes of AFP values before and after N-cws/Lipiodol arterial infusion

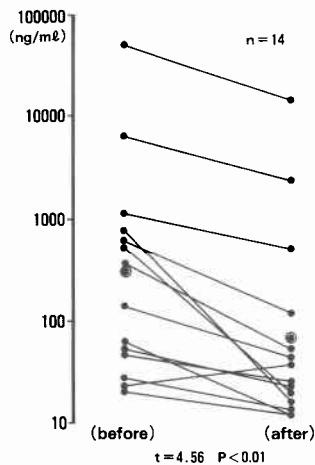


Table 2 Tumor effects induced by arterial infusion of N-cws/Lipiodol (non-surgical cases)

Case No.	Tumor Diameter on Echogram		Observation Period (month)	Diameter aft. inf./initial (%)	Response
	Initial Diam. (cm)	Diam. aft. Inf. (cm)			
11	1.6×1.4	0.7×0.7	8.0	78.1	PR
12	① 4.0×4.0 ② 1.5×1.5	① 2.5×2.5 ② 0.6×0.6	4.0	63.8	PR
13	2.0×2.0	0.5×0.6	3.0	92.5	PR
14	① 3.1×2.6 ② 1.1×1.1	① 3.4×3.0 ② 1.3×1.0	2.0	-24.1	NC
15	① 5.7×5.7 ② 3.3×3.3	① 5.5×5.5 ② 2.3×2.3	2.0	11.2	NC

Table 3 Pathological Findings of surgical specimens treated with this immunotherapy

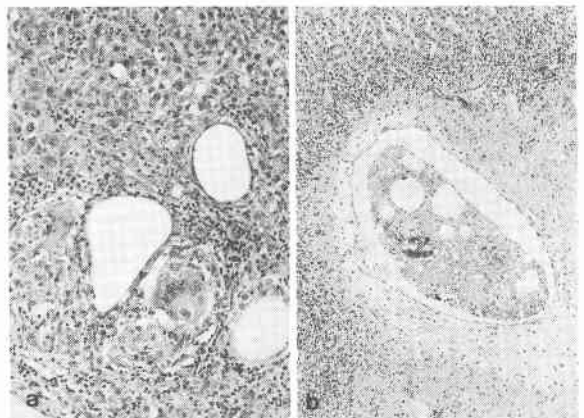
Case No.	Dose of Administration		Surgery	Tumor Diameter (cm) (n)	Pathological Findings			Tumor Emboli
	N-cws (mg)	Lipiodol (ml)			Necrosis (%)	Ep. Cell Gran.	Lymph. Inf.	
1	0.2	3.0	Hr2 (P.A)	4.5×4.5×4.5	3.0	+	+	not found
2	0.4	4.0	HrS (P)	4.0×4.0×3.5	20.0	+	+	"
3	0.6	6.0	Hr2 (P.A)	5.5×5.0×5.0	20.0	+	+	"
4	0.8	8.0	HrS (A)	5.0×5.0×4.5	90.0	-	+	"
5	1.0	8.0	HrS (P)	4.5×4.5×4.2	30.0	+	+	"
6	0.5	5.0	Hr1 (L)	1.3×1.2×1.0	100.0	+	+	"
7	1.0	8.0	Hr2 (P.A)	5.2×4.5×5.5	75.0	+	+	found 100% necrosis
8	0.5	5.0	Hr0 (P)	2.0×1.3×1.3	0	-	-	not found
9	0.8	10.0	HrS (A)	2.7×2.5×2.5	99.0	+	+	"
10	0.5	5.0	Hr1 (P)	2.6×2.5×2.3	0	+	+	"

\* Inappropriate infusion site

Fig. 4 Histological findings of the surgical specimens

(a) Case 3: Granulomatous changes consisting of Epithelioid cells (++) and lymphocytic infiltration (++)

(b) Case 7: Necrosis in the tumor emboli in the portal vein



縮小し、増大したものは1例のみであり、奏功度でしめすと、PR: 3例, NC: 2例と有効であった。

4) 切除例10例における摘出標本の病理組織学的所見

切除例におけるN-cws/Lipiodolの注入量、腫瘍径及び術式については、Table 3に示すごとくである。切除標本の検索より、この方法に特徴的な所見は、Fig. 4aに示すごとく、腫瘍内に巨細胞を含んだ類上皮細胞よりなる肉芽腫の形成が見られること、および変性した腫瘍細胞の周囲にみられる強いリンパ球浸潤の像である。この2つの反応は、ほぼ同時にみられる所見であるが、とくに壊死率との相関は認められない。また、主腫瘍における壊死も特徴的な所見であるが、これらの所見は、投与量の少ない症例(No. 1)、および手技的な問題から腫瘍側に注入できなかった症例(No. 8)などでは、軽度かまたは全く壊死が見られなかったことなどより注入量との相関があるかに見えるが、症例No. 10のごとくN-cws 0.5mg投与にても壊死の見られなかった症例もあり腫瘍の大きさや手技とも関係するものと考えられた。したがって主腫瘍の壊死は、壊

死率100%の症例6より、全く壊死の認められなかった症例10までさまざまであり平均43.7%であった。門脈腫瘍栓については、検索しえた症例は1例(No. 7)のみではあるが、Fig. 4bに示すごとく腫瘍栓の完全壊死を認めた。

5) N-cws/Lipiodol 動注の免疫学的効果

肝細胞癌全症例の初回の動注治療を対象とし、その前後に於ける末梢血リンパ球サブセットの変動を検討した。また、正常対照は健康人29名より求め、それらを肝細胞癌患者の動注前の値と比較した。

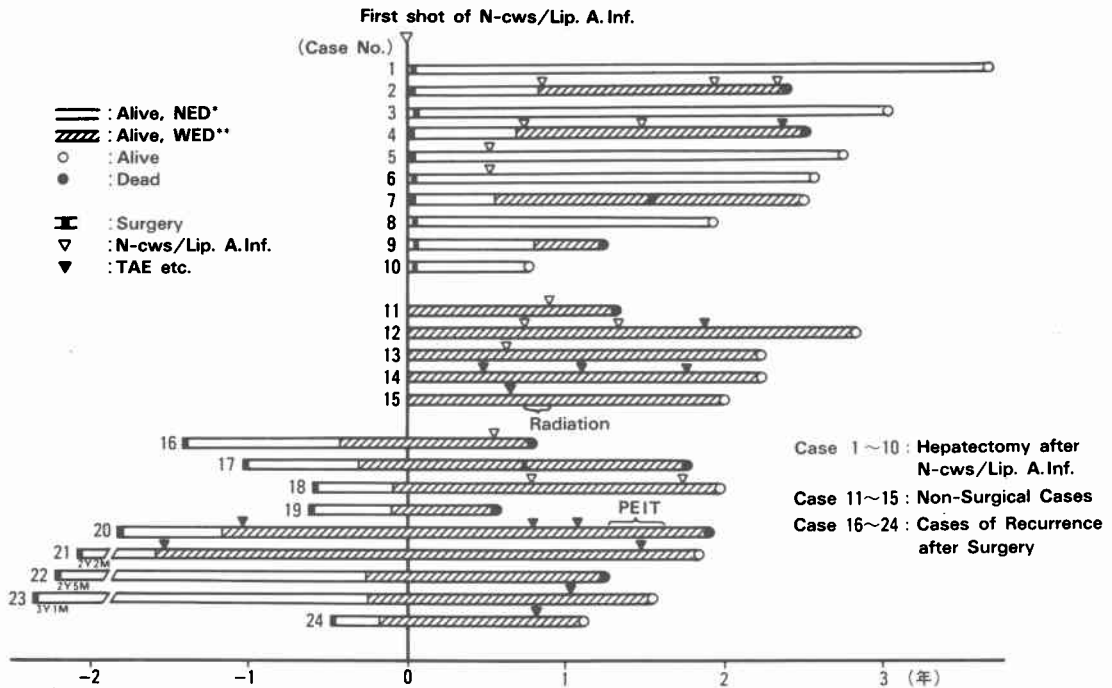
結果はTable 4に示すごとく、肝細胞癌患者の治療

Table 4 Changes of lymphocyte subsets in the peripheral blood

	Tc		Ts		Th		Tc/Ts		Th/Ts	
	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
	%		%		%		%		%	
HCC (n=19)	16.80 ±5.5	16.49 ±4.3	12.74 ±3.9	11.65 ±3.3	13.56 ±6.9	14.33 ±6.8	1.43 ±0.56	1.53 ±0.61	1.22 ±0.61	1.46 ±1.06
Healthy Control (n=29)	18.68 ±5.1		7.45 ±3.6		18.57 ±5.0		3.77 ±3.77		3.59 ±3.34	

\*\* P<0.01

Fig. 5 Clinical course of cases of N-cws/Lipiodol arterial infusion (N-cws/Lip. A. Inf.)



\*no evidence of disease, \*\*with evidence of disease

前と健常人の T 細胞サブセットを比較するに、cytotoxic T cells (Tc; Leu-2a<sup>+</sup>+Leu-15<sup>-</sup>) および helper T cell (Th; Leu-3a<sup>+</sup>+Leu-8<sup>-</sup>) では、肝細胞癌患者では健常人に比べて低値を示したが、suppressor T cell (Ts; Leu-2a<sup>+</sup>+Leu-15<sup>+</sup>) では逆に、健常人の 7.45±3.6% に対して 12.74±3.9% と有意の差を持って高値を示した (p<0.01, Student's t 検定)。Th/Ts 比 (Leu-3a<sup>+</sup>+Leu-8<sup>-</sup>/Leu-2a<sup>+</sup>+Leu-15<sup>+</sup>) および Tc/Ts 比 (Leu-2a<sup>+</sup>+Leu-15<sup>-</sup>/Leu-2a<sup>+</sup>+Leu-15<sup>+</sup>) は高値になるに従って免疫賦活状態を反映していると考えられるが、Table 4 のごとく、肝細胞癌患者では健常人に比して、有意に低値を示し (p<0.01, Cochran-Cox の t 検定)、免疫抑制状態にあることを示唆している。

次に N-cws/Lipiodol 動注前後の値を比較するに、動注治療後は、Th, Tc 値の上昇, Ts 値の減少傾向がみられ、したがって Th/Ts, Tc/Ts 比は前値の 1.22±0.8%, 1.43±0.6% に比べてそれぞれ 1.46±1.1%, 1.53±0.6% と有意ではないが上昇し、動注治療前に比べて免疫抑制状態の改善が示唆された。

#### 6) N-cws/Lipiodol 動注症例の臨床経過:

動注後切除症例 10 例のうち無再発生存例は 6 例で、治療後 10 か月より最長 3 年 7 か月を経過している。再発 4 例はすべて切除後 6 か月より 9 か月にかけて再発しており、1 例 (No. 2) は adult respiratory distress syndrome (ARDS) にて死亡、2 例 (No. 4, 9) は原病死した。他の 1 例 (No. 7) は肺転移再発であったため、肝切除 1 年 6 か月後に肺切除し健在である (Fig. 5)。

非手術例は 5 例で、その内 4 例は担癌のまま最長 2 年 10 か月、平均 2 年 4 か月経過して健在である。他の 1 例 (No. 11) は加療の 1 年 4 か月後に脳出血にて死亡した。肝切除後に再発し本治療の対象となった 9 例の再発確認までの期間は、最長 2 年 10 か月であり、ついで 2 年 2 か月であったが、他の 7 例は 4 か月より 1 年の間にすべて再発確認されている。確認後、本動注加療までの期間は、1 か月より 1 年 7 か月である。これらの内 5 例が原病死し、その動注加療後の生存期間は平均 1 年 3 か月であった。その内 1 例は、動注加療後約 9 か月にて再度肝切除を施行している。他の 4 例は、生存中で、加療後の平均生存期間は 1 年 7 か月である。

#### 考 察

近年、高度肝障害や過進展による切除不能な肝細胞

癌や再発癌に対する治療方法の開発改良には目ざましいものがある。また、これらの方法を術前に施行し、肝切除と組み合わせる集学的治療は、術後の再発を減少させ、根治を期待させるものとして盛んに試みられている<sup>12)13)</sup>。これらの治療方法は、基本的には TAE など癌細胞と肝細胞の動脈血依存性の差を利用した動脈阻血<sup>13)</sup>、経脈管的投与や Lipiodol の DDS 機能を利用した targetting<sup>4)5)</sup>、PEIT などエコー下誘導技術の応用<sup>6)</sup>、および化学療法剤の開発などよりなり、これらの要素を基に組合せ、工夫され、その良好な延命効果も多数報告されている<sup>2)13)</sup>。

しかしながら、動脈血依存性の差を利用した方法は、門脈血依存性の強い腫瘍塞栓や被膜外浸潤、娘結節などにはあまり効果なく<sup>7)</sup>、また術前 TAE の再発抑制効果にも疑問があり<sup>9)</sup>、高度の阻血は当然のことながら肝機能を障害することになる。Lipiodol の DDS 機能は抗癌剤を腫瘍内に送り込む有効な手段であるが、油性造影剤である Lipiodol と既存の抗癌剤との親和性に難があり、さらに工夫が必要である。近年、盛んに行われているエコー誘導下のエタノール局注 (PEIT) は、治療の対象となる腫瘍の大きさと数の上で自ずから効果に限界があると思われる<sup>8)</sup>。また、化学療法剤は、対象となる患者のほとんどが肝障害を合併していることより、肝機能を障害しないことが絶対条件であり、そのため、薬理効果のみでは十分な治療成績をあげ難いのが現状である。これらの治療方法を、より効果的にする上での制限は、それにより加わる肝機能の障害であり、これらの治療機序が効果と肝障害とのバランスの上に成り立っていること自体が、さらに一層の発展を困難にしているように思われる。したがって、今後の課題としては、手術による切除をも含めた、より効果的な集学的治療法を確立することはもとより、さらに新たな、全く異なった機序の治療方法を導入することが待たれている。

1969年、Mathe ら<sup>14)</sup>が小児急性リンパ性白血病に対する BCG 免疫療法の有効性を報告して以来、種々の腫瘍を対象としてこの治療法が試みられて来たが、この流れは最近の細胞工学的手法を用いることによって実用化された数々の BRM 物質との組合せによって発展し、これら宿主介在性の癌の治療方法に期待が寄せられている。

われわれが本研究で用いた N-cws は、東ら<sup>9)</sup>により BCG-cws に代わる BRM として開発、基礎実験がなされた免疫調節剤であり、その生産性、抗腫瘍効果、お

よび副作用の点において BCG-cws より優れているとされる。また、佐藤ら<sup>15)</sup>は、1989年、胃癌患者を対象とした Control-Study の結果、Stage III, IV において、術後に N-cws を皮内投与した群に延命効果のあったことを報告している。

免疫療法により期待される抗腫瘍効果は、宿主を介して発揮される反応であり、従来よりの阻血や、薬理学的作用によるものとは全く異なる上に、BRM は投与された局所において強力な抗腫瘍効果を発揮するとされ<sup>16)</sup>、この点からも、経肝動脈の治療が容易である肝細胞癌への応用が期待される。

そこでわれわれは、限界の見えてきた今までの治療方法には無い、別の機序による効果を期待して、BRM である N-cws を Lipiodol の DDS 機能に乗せて腫瘍に送り込み作用させるところの動注免疫療法を試みてきた。

まず、本治療法の臨床症状に与える影響をみると、初回の動注投与において、ほぼ全例に発熱、半数に悪心嘔吐、1/4に一過性の血圧低下がみられている。

発熱は平均38.8℃、平熱に復するまでに平均6.9日を要したが、これらは TAE, TAE 併用化学療法などと比較して高く、本法に特徴的と考えられた。これは、投与された N-cws が局所に亜慢性的な炎症反応を引き起こし、この際に活性化された macrophage が Interleukin-1 (IL-1) を産生し、それが中枢性に作用して熱発すると考えられている<sup>17)</sup>。このため、発熱とその持続は、macrophage の活性化の程度を反映するものであり、発熱例に有効例が多いとするものもある<sup>18)</sup>。

悪心嘔吐および血圧低下なども同様に IL-1 の放出に伴うものと説明されるが、これらの臨床症状は、われわれの経験よりみても dose-dependent であり、N-cws 0.5mg 以下の投与ではそれらの症状はほとんど問題にならなかった。また、TAE など動脈阻血により効果を期待する治療法において高率に見られる<sup>11)</sup>腹痛などは見られず、同様の理由より胆嚢炎、胃、十二指腸の潰瘍形成や穿孔などの合併症は全く認められなかった。

大多数の肝細胞癌患者がなんらかの肝機能障害を合併していることより、これに対する治療法の肝機能に残す障害は重視されるべきであり、特に術前の合併療法として施行される際には慎重を期さねばならない。長谷川ら<sup>9)</sup>によれば、TAE を術前合併療法として行った症例の、切除後の直死例の検討より、TAE 後、肝切除までの期間を3週以上あけるのが適当としており、

また広橋ら<sup>1)</sup>は、施行後の AFP 値の再上昇および肝機能の回復時期よりして1か月間を必要とすると報告している。本治療法に関しては、7日後の逸脱酵素の血中濃度、および2週後の ICG 排出機能で見ると、その動注加療後に全く障害を残さない。これは本治療法が、TAE とは異なった、阻血以外の機序で効果を発現するためと考えられ、そのため切除例10例は、動注後10~34日、平均18.5日にて、またその内最近の6例については平均12.2日で肝切除を施行しているが、術後はすべて良好に経過している。この肝機能に対する安全性は、本治療法が繰り返し施行しえることを意味し、術前合併療法としてのみならず、残肝再発のごとき肝障害を伴う患者に対して、長期にわたっての治療を行なう際にも有用である。

肝細胞癌に対する治療効果を判断する手段として、AFP 値が良い指標となる。中本ら<sup>13)</sup>は、術前合併療法として TAE を施行した18例について、2~4週後の AFP 低下率を約74%と報告している。

一方、肝動脈を塞栓しない方法として、兼松ら<sup>5)</sup>は Lipiodol/制癌剤 (Adriamycin) による動注治療を施行し、78%に AFP の著減をみたと報告している。しかし園山ら<sup>4)</sup>は、同様に Lipiodol/制癌剤混合液を用いているが、非切および再発例では、AFP の変化で見ると、全く無効であったと報告している。この違いは、園山らの対象とした症例には、A-P shunt の存否による Lipiodol の腫瘍内停滞に差がみられたなど症例側の問題が考えられるが、同時にそれぞれが使用した溶剤の違いによる効果の差も無視できない。ここで用いられた溶剤は兼松らの場合は60%Urografin であり、園山らでは界面活性剤 (Polyoxyethylene Sorbitan Monooleate, Sorbitan Sesquinoate) と異なっており、このことから有効な薬剤をいかに Lipiodol と混合させるかが肝要と思われる。また、藤本ら<sup>6)</sup>は、エタノールの局注において、20例中19例に AFP 値の著減を見た報告しているが、同時に有効な腫瘍の大きさと、技術的な問題点を提示している。我々の動注加療では、治療前の AFP 値が20ng/ml 以上を示した14症例を検討し、施行後約3週間にて約75%の減少率をみた。この値は、上述した他の方法のそれと比べて劣るものではない。

N-cws/Lipiodol 動注加療後の腫瘍における画像上での変化をみると、切除例では、超音波像における腫瘍部の density の変化や CT 像における腫瘍内への Lipiodol の集積などとしてはとらえられるが、切除ま

での期間では腫瘍の縮小をほとんど認めない。また再発例では、本治療以前に TAE などがなされていたり、また再発後治療開始までの期間に差があるなどのため、画像での評価が困難であった。非手術例は 5 例であり、これらの画像上確認できた 7 結節を対象とし検討した。動注後判定までの期間は、2～8 か月と長期に渡っているが、5 例中 4 例に画像上で縮小を認めた。これらの事実は、本治療法の作用機序が、宿主介在性であることからして、効果の発現が遅く、かつ持続的であることを示唆していると思われる。

切除標本の得られた 10 例に対しては、病理組織学的検索を行い効果を検討した。しかし、これらの標本は動注加療後 2～4 週で切除されており、この治療方法がその効果を阻血や薬理作用ではなく、慢性炎症や、免疫学的反応、つまり治療によって高められた生体側の反応に期待することより、効果発現までの時間、反応の強弱など、患者側の要素が大きく、したがって切除の時点で組織学的効果がそのままこの治療方法の効果の評価につながるかは疑問がある。したがって主腫瘍に与える壊死効果が、0～100%、平均 43.7% と大きく開いた背景には、この壊死を生じる機序と切除時期の問題が関与していることが容易に想像される。

門脈腫瘍栓の有無は、肝細胞癌の大きな予後因子であり、これは諸家の一致するところである<sup>720)</sup>。従って、これに対する有効な治療法の開発が急務であるが、門脈腫瘍栓、娘結節、複膜外浸潤など門脈血依存性が高い部位の腫瘍にたいする治療は、TAE などによる動脈阻血の効果が及び難いため、他の機序による治療法の開発が待たれていた。本治療法を施行し、切除された 10 症例の内、腫瘍塞栓が確認されたのは、1 例のみであったが、腫瘍栓の完全壊死を認めたことは注目に値する。Lipiodol が腫瘍栓に取り込まれることは既に報告されており<sup>4)</sup>、または、N-cws 投与部位において、活性化された macrophage 系細胞を中心とした慢性炎症を引き起すため、これが腫瘍を巻き込み、壊死をもたらしたことが、機序として考えられる<sup>21)</sup>。

本治療法に特徴的な組織所見は、腫瘍を取り囲む強いリンパ球浸潤と、それと共存する類上皮細胞よりなる肉芽腫の存在である。従来より、リンパ球浸潤の強い腫瘍は予後がよいとは、諸家の報告の一致するところであり<sup>22)</sup>、これには host の免疫反応の関与が示唆されている。また、類上皮性の肉芽腫は、そこに慢性の炎症性病変が存在することを示すものであり、両者とも本治療法の作用機序としての反応像と考えられるも

のである。

肝細胞癌や肝硬変患者においては、natural killer (NK) 活性や OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup> 比の検討より、健常人に比べて、免疫力の低下が数多く報告されているが<sup>23)</sup>、その方法の多くは、single-color FCM による分析であって、したがって Ts と Tc を区別せずに検討せざるをえず、これらを区別しての検討は少ない。われわれの検索結果では、肝細胞癌患者では、健常人に比べて Ts の比率が著しく高く、そのため免疫状態を反映するとされている Th/Ts、Tc/Ts 比の低下が特徴的であった。このことが悪性腫瘍の発生と関係している可能性は否定できず、またこの状態の持続することは、癌の増殖や切除後の再発および再度の新生(多中心性発癌)などのリスク・ファクターであると考えられる。末梢血での変化がどれほど全身のそれを反映しているかとの議論はあるが、N-cws/Lipiodol 動注によって、Ts の割合は低下し、したがって加療前の免疫抑制状態は動注加療後、健常人に近くなり、改善されたことになる。免疫療法に期待されるものは、まさにこの状態の維持による再度の発癌の防止にあると思われ、その目的でわれわれは月に 1 度の N-cws 0.4mg 皮内投与による boost を行っており、その効果は長期間の経過観察による無再発生存率の改善により評価すべきものと考えている。

現在までの臨床経過は Fig. 5 に示したごとくである。非手術例に対しては、N-cws/Lipiodol 動注の繰り返し以外にも TAE、外照射など組み合わせ治療してはいるが、脳出血による 1 例を除き全例が社会復帰している。これら症例は、高度の肝障害、腎障害などを合併しており、本治療法がそれらを傷害しないことが有利に作用していると思われる。また、本法を再発後に施行する治療法として見る場合、再発後施行した 9 例中、死亡した 6 例の再発後の平均生存期間は 1 年 8 か月、生存中の 4 例では 2 年 2 か月であり、他の治療法の成績<sup>24)</sup>と比べて劣るものではない。また、切除例における再発の時期が、術後 10 か月までに集中しており、その後の再発を認めない点は、この治療方法が再度の発癌の抑制に作用している可能性を示唆するものであり、今後の検討課題として興味深い。

#### 文 献

- 1) 広橋一裕, 酒井克治, 木下博明ほか: 肝動脈塞栓療法施行肝細胞癌症例の臨床的ならびに病理組織学的研究. 日外会誌 86: 555-565, 1985
- 2) 佐々木洋, 今岡真義, 岩永 剛ほか: 肝細胞癌に対

- する新しい動注化学塞栓療法—リビオドール, シスプラチンサンドウィッチ療法—, 日癌治療会誌 21: 647—654, 1986
- 3) 長谷川博: 肝癌に対する集学的治療—Embolizationを併用した肝切除の検討—, 内科 52: 555—559, 1983
  - 4) 園山輝久, 弘中 武, 稲葉征四郎ほか: 肝細胞癌に対するリビオドール・アドリアマイシンエマルジョン動注療法, 日癌治療会誌 21: 773—779, 1986
  - 5) 兼松隆之, 井口 激, 古田斗志也ほか: リビオドール化制癌剤を用いた肝癌の選択的癌化学療法, 肝臓 26: 472—477, 1985
  - 6) 藤本隆史: 小肝細胞癌に対する経皮的超音波ガイド下エタノール局注療法の基礎的, 臨床的検討, 肝臓 29: 52—59, 1988
  - 7) 竜 崇正, 山本義一, 山本 宏ほか: 肝動脈塞栓術併用肝切除例の検討, 日消外会誌 18: 60—65, 1985
  - 8) Konno T, Maeda H, Iwai K et al: Effect of arterial administration of high molecularweight anticancer agent SMANCS with lipid lymphographic agent on hepatoma; a preliminary report. *Eur J Cancer Clin Oncol* 19: 1053—1065, 1983
  - 9) Azuma I, Taniyama T, Yamawaki M et al: Adjuvant and antitumor activities of nocardia cell-wall skeletons. *Gann* 67: 733—736, 1976
  - 10) Kanematsu T, Inokuchi K, Sugimachi K et al: Selective effect of lipiodolized antitumor agents. *J Surg Oncol* 25: 218—226, 1984
  - 11) 山本正之: 癌化学療法効果判定基準—肝癌化学療法効果判定基準: 癌と化療 13: 3081—3092, 1986
  - 12) 富岡 勉, 土屋涼一, 原田 昇ほか: AFP変動による術前TAEの早期効果判定に関する研究, 日外会誌 88: 453—458, 1987
  - 13) 中本 実, 成瀬 勝, 柳沢 暁ほか: 肝癌に対する術前合併療法の評価, 日消外会誌 20: 2339—2345, 1987
  - 14) Mathe G, Amiel JL, Schwarzenberg L et al: Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 1: 697—699, 1969
  - 15) 佐藤 博, 落合武徳, 佐藤裕俊ほか: Randomized Controlled StudyによるN-cwsの胃癌術後免疫療法の臨床的評価, 日外会誌 83: 635—647, 1982
  - 16) 岸本 進, 川瀬一郎: BRMの臨床応用—N-cws—, 最新医 42: 274—282, 1987
  - 17) 坂谷光則, 小倉 剛: N-cwsの癌治療への応用, 螺良英郎 監修, 癌治療の新たな試み, 医業ジャーナル社, 大阪, 1984, p145—159
  - 18) 坂本一夫, 左古正雄, 広田省三ほか: OK-432混和塞栓物質による肝癌の治療, 日癌治療会誌 22: 1373—1384, 1987
  - 19) 春日井博志, 児島淳之介, 亀田正晴ほか: 肝細胞癌に対するリビオドール, シスプラチンを用いた動注化学塞栓療法, 日消病会誌 85: 207—216, 1988
  - 20) 今岡真義, 佐々木洋, 三好康雄ほか: 肝細胞癌切除後の肝内再発形式の相違によるtranscatheter arterial embolizationの効果—組織学的門脈内腫瘍栓との関連において—, 日消外会誌 20: 2336—2338, 1987
  - 21) Ogura T, Hara H, Yokota S et al: Effector mechanism in concomitant immunity potentiated by intratumoral injection of *Nocardia rubra* cell wall skeleton. *Cancer Res* 45: 6371—6375, 1985
  - 22) Black M, Freeman C, Mork T et al: Prognostic significance of microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymphnodes. *Cancer* 27: 703—711, 1971
  - 23) 山本晋一郎, 大元謙治, 山本亮輔ほか: 肝癌におけるOK-432腫瘍内注入前後の末梢血リンパ球サブセットの変動, 癌と化療 13: 1077—1078, 1986
  - 24) 牧 淳彦, 高安 隆, 森敬一郎ほか: 肝細胞癌切除後再発症例に対する集学的治療法の検討, 日消外会誌 22: 779—783, 1989

### Multimodal Treatment Including N-cws/Lipiodol Immunotherapy for Hepatocellular Carcinomas —Its Safety and Therapeutic Efficacy—

Kazuo Watanabe, Takehide Asano\*, Munemasa Ryu, Kaoru Sakamoto, Yoshihiro Fujita,  
 Ichiro Honda, Satoshi Watanabe and Yoshihiro Kawakami  
 Division of Gastroenterology, Chiba Cancer Center Hospital  
 \*Second Department of Surgery, Chiba University, School of Medicine

Intraarterial infusion immunotherapy using *Nocardia rubra* cell wall skeleton—Lipiodol mixture (N-cws/Lip) was attempted in 24 patients with hepatocellular carcinoma and its safety and therapeutic efficacy were evaluated.

1) Frequent fever, vomiting and temporary hypotension developed, but because arterial ischemia was avoided, no gastroduodenal ulcer, cholecystitis, or liver dysfunction was associated with this therapy. 2) With a possible aid of



host-mediated, activated immunity, the treatment decreased the AFP, decreased the size of the tumor on diagnostic imaging, and induced topical infiltration of lymphocytes and formation of granulation tissue with necrosis of the primary tumor, and necrosis of tumor emboli in the portal veins was induced. 3) The lymphocyte subpopulation in the peripheral blood of the patients after therapy consisted of a decreased Ts, and an elevated Th/Ts ratio as seen in the immunoactivated status. This immunotherapy is safe and it was suggested that activation of immunity working against tumor growth was involved in the mechanism of this immunotherapy.

Reprint requests: Kazuo Watanabe Division of Gastroenterology Chiba Cancer Center Hospital  
666-2 Nitona-cho, Chiba, 280 JAPAN

---