

担癌患者における手術侵襲と生体反応

岐阜大学第2外科

杉山 保幸 佐治 重豊 古田 智彦 東 修次
宮 喜一 日下部光彦 山田 誠

手術侵襲による担癌生体の免疫能低下に対する非特異的免疫療法の有用性について検討した。担癌ラットの末梢血単核球 (PBMC) の PHA 幼若化能や NK 活性は手術侵襲の程度の増大に伴って低下し、肺転移も促進されたが、手術侵襲の加わる前に OK-432 を投与しておくこと、それらを防止できた。また、胃癌患者の PBMC の PHA 幼若化能や NK 活性は、手術の翌日より免疫療法を開始しても、術後 1~2 週目には術前に比べて有意に低下したが、術前から治療を施行した場合には低下がみられなかった。さらに、胃切除可能胃癌患者 (ただし stage I のうち m, n₀ を除く) 275 例を対象とした非特異的免疫療法に関する検討において、stage II 症例で術前後免疫療法施行群の生存率が術後免疫療法施行群と比較して有意に優れていた。以上から、手術侵襲により免疫担当細胞の抗腫瘍活性は低下するものの、術前から免疫療法を開始することでそれを防止でき、予後にも好影響を及ぼすことが示唆された。

Key words: surgical stress, cancer patients, nonspecific immunotherapy

1. はじめに

悪性腫瘍の外科的治療は腫瘍量の減少という正の効果をもたらす反面、手術侵襲による生体防御能の低下により¹⁾残存腫瘍の増殖促進という負の効果を生む可能性をはらんでいる。そこで手術侵襲による担癌生体の反応を免疫学的見地、特に免疫担当細胞の機能を中心に解析するとともに、術後免疫能低下に対する非特異的免疫療法の有用性について実験的・臨床的に検討した。

2. 研究方法と対象

1) 実験的研究

実験動物として SD 系ラットを、腫瘍系として同系の可移植性転移腫瘍である MRMT-1 を用いた。まずラットの背部皮下に 200mg の腫瘍片を移植し、移植後 2 週目に腫瘍切除またはこれに 30 分間の開腹を負荷し、処置後 80 日目における肺転移率および処置後 3 日目、7 日目における末梢血単核球 (PBMC) の PHA 幼若化能と NK 活性を測定した。さらに手術的処置の 3, 2, 1 日前の 3 回、OK-432 (中外製薬) を 50KE/kg/日の投与量で大腿筋肉内に左右交互に注射する群

を設定し同様の検討を行った。肺転移率は Wexler 法²⁾に準じて肉眼的に転移の有無を判定し、転移陽性ラット数を全処置ラット数で除することにより求めた。PHA 幼若化能は³H-thymidine uptake 法で、NK 活性は K562 を標的細胞とした 4 時間の⁵¹Cr-release assay にて測定した。

次に 1×10⁶個 (0.5ml の RPMI1640 培地に浮遊) の MRMT-1 細胞をラットの尾静脈内に注入移植し、2 週後の肺転移結節数を調べた。そして腫瘍細胞の静注移植を行う前に、背部皮膚切除 (約 9cm² 切除: 前述の皮下腫瘍切除術と同程度の手術侵襲に相当) のみ、背部皮膚切除と開腹および無処置の 3 群を設定し、2 週後の肺転移結節数を比較した。さらに手術的処置の 3, 2, 1 日前の 3 回、50KE/kg/日の OK-432 を大腿筋肉内に左右交互に注射する群を設定し同様の検討を行った。

2) 臨床的研究

1979年1月より1984年1月までに当科および関連施設に入院した切除可能胃癌症例を、周術期の免疫療法施行の有無や時期により以下の3群に分け、術前および術後 1, 2, 4 週目に PBMC の PHA 幼若化能と NK 活性、さらに血清 IAP, ferritin, α₂-globulin 値を測定した。

*第39回日消外会総会シンポ1・手術侵襲と生体反応
<1992年7月6日受理>別刷請求先: 杉山 保幸
〒500 岐阜市司町40 岐阜大学医学部第2外科

a) 術前後免疫療法群：手術の1週間前よりOK-432 (2.0KE/日の週3回, 隔日筋注)の投与を開始し, 術後も一貫して投与した。なお, 同時期よりPSK(三共) 3.0g/日の内服投与を併用した症例もこの群に含めた。

b) 術後免疫療法群：術後第1病日よりOK-432 (2.0KE/日の週3回, 隔日筋注)の投与を開始し, 継続した。なお術後からPSKの併用内服を開始した症例もこの群に含めた。

c) 非免疫療法群：手術前後を通じて免疫療法剤を一切使用しないで治療を行った。

a), b), c)の3群とも化学療法として, 術後1週目よりMMC(協和醸酵)4mg/日を週2回点滴静注し, 合計40mgを入院中に投与し, 終了後テガフル600mg/dayを連日経口投与した。

さらに1982年11月から1984年12月までの間において, stage Iのうち, m, n₀を除く275例を対象とし, 入院時封筒法にて術前後免疫療法群(79例), 術後免疫療法群(99例)および非免疫療法群(97例)の3群に分けてrandomized trialを施行した。そして各群の背景因子を比較検討した上でその生存曲線を調べた。

次に1985年8月より1986年4月までに当科に入院した胃・大腸癌患者23例を対象として, PBMCのDaudi, K562, KATOIIIを標的細胞とした細胞障害活性を術後経時的に測定した。また1991年1月から1991年12月までに当科に入院した切除可能胃癌17例を対象とし,

手術前未治療時および術後第1, 7, 14病日の末梢血好中球数を算出し, さらに単位好中球数当りの食食能をopsonized zymosanを用いたChemiluminescence法³⁾にて測定した。

3. 結 果

1) 実験的研究

ラットの背部皮下に腫瘍片を移植後2週目に手術侵襲を负荷した場合, 非免疫療法群では腫瘍切除に開腹负荷を加えた際の肺転移率が腫瘍切除単独群に比べて有意に増加した。また開腹负荷群のPHA幼若化能は処置後3日目, 7日目ともに有意に低下し, NK活性に関しては開腹负荷群, 腫瘍切除単独群のいずれも処置後3日目に有意に低下した。しかしOK-432を処置前より投与すると開腹负荷による肺転移率の増加はみられず, また手術侵襲の程度にかかわらずPHA幼若化能やNK活性の低下も認められなかった(Table 1)。一方, 肺転移モデルにおいても肺転移結節数は手術侵襲の程度に比例して促進されたが, OK-432を前投与しておくとも肺転移結節数は無処置群および開腹负荷群では非免疫療法群と比べて有意に減少した(Table 2)。

2) 臨床的研究

切除可能胃癌症例のPHA幼若化能は, 非免疫療法群と術後免疫療法群では術後1, 2週目に著しい低下を認め, 4週目に術前値に回復するパターンを示した。しかし, 術前後免疫療法群では術後1, 2, 4週目とほとんど変動することなく推移した(Fig. 1a), また

Table 1 Effects of surgical stress on either the lung metastasis or immunity of peripheral blood mononuclear cells of tumor bearing SD-rats

Administration of OK-432	(-)		(+)	
	Tumor excision	Tumor excision and Laparotomy	Tumor excision	Tumor excision and Laparotomy
Surgical treatment				
Incidence of lung metastasis	15.0%*	50.0%..	13.3%	11.8%..
PHA-induced blastogenesis (×10 ⁴ cpm)				
NK activity (%)				

*P<0.05 **P<0.005
 ● : before surgical treatment
 ■ : at 3 days after surgical treatment
 ▲ : at 7 days after surgical treatment

Table 2 Effects of surgical stress on lung metastasis in SD-rats given intravenous inoculation of tumor cells

Administration of OK-432	Surgical treatment	Number of metastatic nodules (Mean ± SE)
(-)	None	12.0 ± 3.8
	Skin excision	58.5 ± 18.5
	Skin excision + Laparotomy	185.3 ± 50.7
(+))	None	0.8 ± 0.7
	Skin excision	28.5 ± 21.3
	Skin excision + Laparotomy	41.7 ± 21.4

*P<0.02 **P<0.01 ***P<0.005

術後のNK活性の推移をみると、術後免疫療法群では術前値に比べて術後1、4週目で低下傾向を示し、術後2週目で有意に低下したのに対して、術前後免疫療法群では術後の低下はみられず、術後2、4週目の各

値は術後免疫療法群と比べて有意に高かった (Fig. 1b)。一方、IAPと α_2 -globulin値は術後1週目に増加し、その後漸次低下するパターンを示したが、ferritinは術後2週目で最高値に達した後低下した。ところが術前後免疫療法群と術後免疫療法群とに分けてその変動を比較しても両群間に有意差は認められなかった (Fig. 2)。

Randomized trialにおける各群の背景因子(性別、年齢、切除範囲、リンパ節郭清度、癌の占居部位、腹膜播種、漿膜面浸潤、深達度、肝転移、腫瘍の大きさ、肉眼のおよび組織学的リンパ節転移度、切除胃断端における癌浸潤、浸潤増殖様式、リンパ管侵襲、静脈侵襲、肉眼のおよび組織学的病期分類、組織分類、癌型、肉眼の根治度など)を検討してみたが、いずれの因子についても各群間に差は認められず、統計的検討が可能であった。現在、プロトコルを開始してから約9

Fig. 1 The effects of non-specific immunotherapy on the immunity of peripheral blood mononuclear cells of gastric cancer patients undergoing gastrectomy

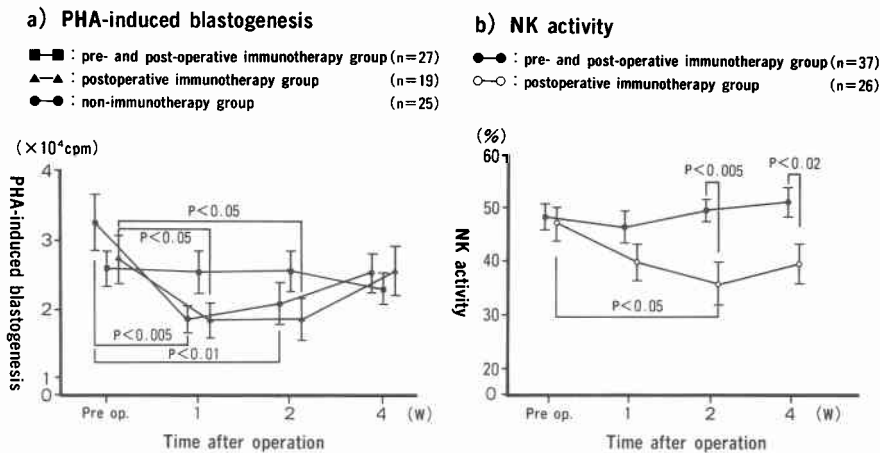


Fig. 2 Postoperative changes of the values of serum IAP, ferritin and α_2 -globulin in gastric cancer patients

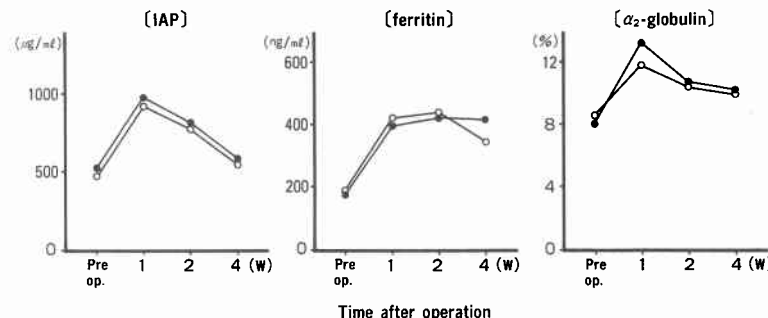
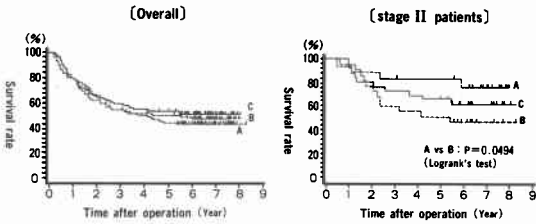


Fig. 3 Survival curves for gastric cancer patients undergoing gastrectomy with pre-and post-operative immunotherapy (A), with postoperative immunotherapy (B) or without immunotherapy (C)



年間に経過したが、各群についてその生存曲線を調べてみると、全例においては有意差は認められなかったものの、stage II 症例において術前後免疫療法群の生存率は術後免疫療法群と比較して有意に優れていた (Fig. 3)。

また PBMC の細胞障害活性はいずれの標的細胞に対しても術後 3 日目に低下し、14~21 日目で術前値に回復後 28 日目に再び低下する傾向がみられた。一方、各患者の PBMC より誘導した LAK 細胞の場合には、術後 3 日目に若干低下後漸増し、4 週目には術前値より高値を示した (Fig. 4)。さらに手術前後の好中球機

Fig. 4 Postoperative changes of cytotoxic activity of immunocytes in cancer patients

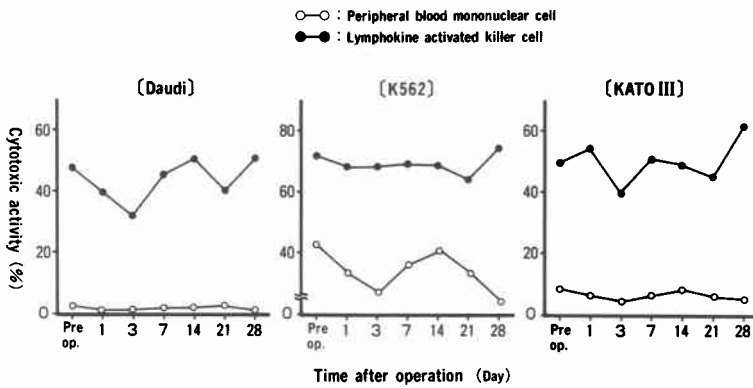
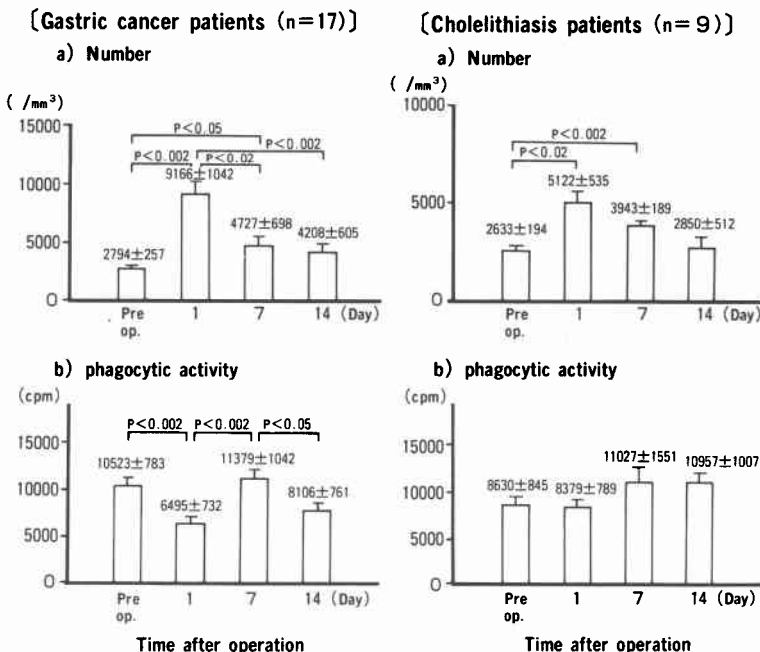


Fig. 5 Postoperative changes of both number and phagocytic activity of peripheral blood neutrophils



能を調べたところ、好中球数は手術翌日に有意に増加しその後減少したものの、術後7日目においても術前値と比べて有意に高値を呈していた。そして術後14日目でもようやく術前と比較して有意差のみられない程度にまで減少した。一方、単位好中球あたりの貪食能は術翌日には有意に低下し、7日後には回復するものの14日後には再び低下した。なお対照として用いた9例の胆石症患者の場合、好中球数については胃癌症例と同様の変動パターンを示したが、単位好中球あたりの貪食能については術後第1病日の低下はみられなかった (Fig. 5)。

4. 考 察

手術侵襲が加わると生体は、栄養代謝系、神経系、内分泌系、免疫系などの種々の面でそのストレスに反応しホメオスタシスを維持しようとすることは周知の事実である。ところが悪性腫瘍の手術においては、腫瘍量を減少させる目的での手術侵襲が逆に生体の抗腫瘍免疫能を低下させ、結果的に残存腫瘍の増殖促進や流血中にこぼれた腫瘍細胞の標的臓器への着床、転移形成の促進をもたらす可能性が十分に考えられる。外科的切除が最も確実な悪性腫瘍の治療と考えられている現況では、このような担癌生体にとって負となる面をも十分に考慮し治療に取り組むことが肝要である。このような観点から非特異的免疫賦活剤を用いた治療に着目し、その有効な投与方法について検討を行った。まず、SD系ラットを用い手術侵襲の程度が担癌生体の免疫能に及ぼす影響を検討するため、担癌ラットの皮下腫瘍切除に加えて開腹処置という侵襲を加えてみた。その結果、開腹負荷群では腫瘍切除単独群に比べPHA幼若化能、NK活性とも処置後に有意に低下し肺転移率は増加したが、OK-432を処置前より投与すると開腹負荷による低下はみられず、肺転移率の増加も防止された。

次に静脈内注入移植モデルを用い、原発巣の関与しない手術侵襲そのものの肺転移への影響を検討したところ、肺転移は手術侵襲の程度に比例して促進された。しかしこの肺転移モデルにおいてOK-432をあらかじめ投与した場合には、肺転移結節数の有意の減少が認められた。以上の実験的検討から、手術侵襲による抗腫瘍免疫能の低下は、手術前よりの免疫賦活剤の投与により防止できる可能性が示唆された。

一方、胃癌症例を対象とした臨床的検討においても手術侵襲によりPHA幼若化能やNK活性は低下した。また感染免疫のみならず腫瘍免疫の分野において

も近年注目を集めている好中球機能も、手術侵襲により低下しその後回復するパターンがみられた。ところが、このPHA幼若化能やNK活性の低下は、手術前より非特異的免疫療法を施行することで防止することが可能であった。さらに、この術後の非特異的細胞性免疫能の低下および周術期の免疫療法が予後に及ぼす影響を術後の生存期間から検討してみたところ、stage II症例において術前後免疫療法施行群が術後施行群に比べて有意差をもって優れていた。

以上の結果より、手術前から非特異的免疫療法を施行することで少なくとも手術侵襲による影響は軽減できることが証明されたわけであるが、免疫療法特に非特異的免疫賦活剤を用いた治療においては、宿主側要因や腫瘍側要因を十分に考慮することが重要である。すなわち教室での胃癌症例を用いた検討から、術前の血清IAP値が $580\mu\text{g/ml}$ 以下の群では脾摘の有無にかかわらず、免疫化学療法群が化学療法単独群に比べて優れていたのに対して、 $580\mu\text{g/ml}$ 以上でかつ脾を温存した場合には逆に化学療法単独群の方が免疫化学療法群よりも生存曲線が優れていたという結果が得られており⁴⁾、やみくもな免疫療法の適用が逆効果を生み出す可能性も否定できないからである。したがって非特異的免疫療法の施行に際しては、そのresponderとnonresponderの選択がKey pointと思われ、それが临床上簡便な方法で決定できるようになれば理想的である。教室では、手術前未治療時の消化器癌患者に対してPSKの単回経口投与を施行し、その前後での患者末梢血単核球中のIL-6遺伝子発現の状況を検討している。この研究はまだ端緒についたばかりであるが、PSKの投与前においても癌の進行程度や発生臓器等とは無関係にIL-6遺伝子の発現が認められる例とそうでない例とがあり、またPSK投与6時間後においてIL-6遺伝子の発現の誘導または増強が観察される症例と観察されない症例とに別れ、しかも前者の場合その発現程度は一律ではないというデータが得られている⁵⁾。すなわちPSKに対する担癌生体側の反応に差があるわけで、この反応の程度が大きい症例がPSKの投与適応症例になりうるのであろうという仮定のもとに、現在PSK刺激による患者末梢血単核球中の各種サイトカイン遺伝子発現誘導の程度やサイトカイン産生量の多寡を検討中である。

文 献

- 1) Slade MS, Simmons RL, Yunis E et al: Immunodepression after major surgery in normal

- patients. *Surgery* 78 : 363—372, 1975
- 2) Wexler H: Accurate identification of experimental pulmonary metastases. *J Natl Cancer Inst* 36 : 641—646, 1966
 - 3) Allen RC, Stjernholm RL, Steele RH: Evidence for the generation of an electronic excitation state (s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. *Biochem Biophys Res Commun* 47 : 679—684, 1972
 - 4) 佐治重豊, 種村廣巳, 国枝克行ほか: 胃癌術前術後免疫療法の現況とその問題点. *日外会誌*, 92 : 1221—1224, 1991
 - 5) 杉山保幸, 山田 誠, 梅本敬夫ほか: PSK 投与によるサイトカイン産生誘導効果に関する実験的・臨床的検討. *Biother* 6 : 333—334, 1992

Immunological Response to Surgical Stress in Cancer Patients

Yasuyuki Sugiyama, Shigetoyo Saji, Tomohiko Furuta, Shuji Azuma, Kiichi Miya,
Mitsuhiko Kusakabe and Makoto Yamada
Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine

The efficacy of nonspecific immunotherapy for immunosuppression caused by surgical stress was studied. As the degree of surgical stress increased, both PHA-induced blastogenesis and natural killer (NK) activity of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of tumor bearing rats were reduced, followed by facilitation of lung metastasis. Administration of OK-432 prior to surgical stress, however, prevented the reduction of immunity of PBMC and the facilitation of lung metastasis. In gastric cancer patients, the values of PHA-induced blastogenesis and NK activity of PBMC 1~2 weeks after gastrectomy were significantly lower than those measured before surgery. Pre- and postoperative immunotherapy prevented the reduction of immunity of PBMC, while postoperative immunotherapy did not. Furthermore, to evaluate the efficacy of nonspecific immunotherapy, a total of 275 gastric cancer patients were randomly divided into the following 3 groups; a pre- and postoperative immunotherapy group, a postoperative immunotherapy group and a group without any immunotherapy. The patients whose cancers were histologically classified as stage I because of both m and n_0 were excepted from the study. When the patients classified as having stage II cancer were statistically analyzed, the survival of the pre- and postoperative immunotherapy groups was significantly longer than that of the postoperative immunotherapy group. The results indicate that nonspecific immunotherapy which is started prior to surgery should be effective against the immunosuppression caused by surgical stress and should prolong survival.

Reprint requests: Yasuyuki Sugiyama Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine
40 Tsukasa-machi, Gifu, 500 JAPAN