マイクロカプセル化学塞栓療法における
末梢血細胞性免疫能佐藤一成・阿部良悦・守山正胤・加藤哲郎^{*1)}、海野勝男^{*2)}*Cellular immunity of peripheral blood in arterial embolization with microencapsulated anticancer drugs*

Cellular immune parameters in peripheral blood were monitored for 4 weeks after chemoembolization with microencapsulated anticancer drugs, in order to investigate possible immune consequences after the therapy.

The number and median age of the subjects were 30 and 63 (48-79), respectively. The subjects all had urological malignancies including 7 renal cell carcinomas, 3 renal pelvic carcinomas, 13 bladder carcinomas and 7 prostatic carcinomas.

Natural killer (NK) cell activity and CD4/8 ratio were augmented in 60% and 77% of the cases after chemoembolization respectively. Mature NK cell population (Leu7-CD16⁺) in these cases also showed a trend of continuous increase for more than 4 weeks. On the other hand, a small number of the patients showed an augmentation of CD3⁺ cells, I a-1⁺ cells or response to phytohemagglutinin.

These findings suggest that enhanced natural killer cell activity could be anticipated in more than a half of cases after chemoembolization.

Kazunari Sato・Ryoetsu Abe・Masatsugu Moriyama・Tetsuro Kato^{*1)}, Katsuo Unno^{*2)}

key words : natural killer cell activity, chemoembolization, cellular immune parameter, microcapsule, targeted chemotherapy

筆者らは、ターゲティング化学療法の原型として、抗癌剤マイクロカプセルを開発し、各種悪性腫瘍に術前補助療法として応用してきた¹⁾。そして、本法施行後に手術を行った stage 2~3 の腎癌

ならびに膀胱癌では、本法を行わずに手術した対照群に比較して、予後の改善がみられることを報告してきた^{2,3)}。このような局所浸潤癌では、微小転移、手術時腫瘍細胞播種の危険性があり、最終的にはこれら微小癌病巣の進展によって予後が規定されることから、化学塞栓療法による手術成績の向上は本療法に微小癌病巣を抑制するなんらかの作用があることを推察させる。

これを宿主防御機構の面からみるため、化学塞栓療法前後で NK 活性を中心とした末梢血中細胞性免疫の変化を検討してみた。

対象と方法

対象は腎癌 7 例、腎盂癌 3 例、膀胱癌 13 例、前立腺癌 7 例の合計 30 例であった。年齢中央値は 63 歳 (48~79)、男性 23 例、女性 7 例であり、腫瘍進行度はまちまちであったが、全例 1 日の 50% 以上起床可能で performans status 2 以下であった。抗癌剤マイクロカプセルは、mitomycin C 18 例、cisplatin 5 例、peplomycin 1 例、ならびにそれら併用 6 例であり、投与量中央値はマイトマイシン C 20 mg、シスプラチン 100 mg、ペプロマイシン 80 mg であった (表 1)。

化学塞栓療法前、3 日後、1 週、2 週、3 週、4 週後に患者末梢血を採取し、K-562 細胞を標的とした natural killer (NK) 活性ならびに phytohemagglutinin (PHA) 刺激によるリンパ球幼若化能を測定した。また、Ortho 社および Becton Dickinson 社モノクローナル抗体を用い、flow cytometric analysis を行った。用いた抗体は CD 3 (pan-T cell)、CD 4 (helper/inducer T cell)、CD 8 (suppressor/cytotoxic T cell)、CD 16 (NK cell)、I a-1 (HLA-DR) ならびに Leu 7 (NK/K

^{*1)} Department of Urology, Akita University School of Medicine 秋田大学医学部泌尿器科学教室

^{*2)} Department of Pharmacy, Akita University School Hospital 秋田大学医学部付属病院薬剤部

表 1 patient characteristics and microcapsule therapy

patient :	
No. Pts.	30
age* (Range)	63 yrs. (48~79)
sex (M : F)	23 : 7
PS, grade	I-23, II-7
tumor :	
renal cell Ca.	7
renal pelvic Ca.	3
urinary bladder Ca.	13
prostatic Ca.	7
microcapsule	
dose (mg)	
mitomycin C	20
cisplatin	100
peplomycin	80

* median

cell)である。なお、当観察期間には、他の治療は行わなかった。また、治療前後の免疫パラメーターの変動を実測値をもとに paired t test により検定した。

結 果

末梢血 NK 活性を化学塞栓療法前値との比としてあらわすと、NK 活性の変動は患者ごとに大きなばらつきがみられた(図1)。治療後5回の測定のうち、連続する3回以上の測定値が治療前値を上廻るものと(図1中の実線)、それ以外のもの(点線)に大別してみた。その結果、前者は30例中18例、後者は12例であり、これら2群の平均値の変化を検討した。便宜上、前者をタイプA、後者をタイプBとすると、タイプAは免疫活性の増強を、タイプBは免疫活性の低下を示すと考えられる。以下、他の免疫パラメータについても同様に取り扱い、NK 活性はタイプA群では3日目に一旦低値となるが、1週間後に1.59倍と有意に上昇し($P < 0.05$)、以後徐々に低下したが、4週間後でもわずかに治療前値を上廻っていた(1.28倍)。これに対して、タイプB群では3日目に最低値を示し、4週後も治療前値に回復しなかった(図2)。また、腫瘍別のNK 活性の反応をみると、腎細胞癌では7例中3例41%がタイプAであるのに対し、腎盂癌、膀胱癌前立腺癌では半数以上がタイプAを示していた。つぎに、抗腫瘍効果が

図 1 natural killer activity after chemo-embolization

Solid lines represent cases whose serial three post-treatment values of NK cell activity are higher than its pretreatment value, and dotted lines represent the remainings.

図 2 natural killer activity after chemoembolization

These curves show changes of mean proportions of NK activity between pre- and post-treatment. Vertical bars indicate standard deviation. Type A or B stand for NK activity augmented after chemoembolization or not, respectively.

判定できた21例について、NK 活性の変化との相関をみた。NK 活性がタイプAを示したのは、MR 以上では15例中8例53%、MR 未満では6例中2例33%であり、例数は少ないが抗腫瘍効果がみられた群に NK 活性増強例が多い傾向がみられた。

図3 Leu7-CD16⁺ lymphocyte population
Type A or B stand for the population augmented after chemoembolization or not, respectively.

この間の NK サブセット (Leu7⁻ CD16⁺) の変動をみると、タイプA群は 29 例中 17 例 59% で、1 週から 4 週にかけて CD16⁺ Leu7⁻ 陰性細胞が持続的に増加する傾向がみられ、成熟 NK 細胞比率が増加していた。また、NK 活性がタイプAを示した症例の 82% が CD16⁺ 陽性細胞比率の変化においてもタイプAを示した (図3)。

CD4/8 比は治療後 22 例中 17 例 77% で反応の増強がみられた。タイプA群では治療後早期に最も高く、その後は徐々に低下するものが多かった。また、NK活性がタイプAを示した症例の 83% が CD4/8 比も同じくタイプAを示した (図4)。

CD3 陽性細胞比率では、治療後のタイプA群とタイプB群の例数が同程度で、経時的変動はほとんどみられなかった。また、Ia-I 陽性細胞には治療前後で明らかな変化はみられなかった。

PHA 刺激下リンパ球幼若化反応の stimulation index (S. I.) がタイプAを示しものは 25 例中 10 例のみで、15 例がタイプBに分類された。タイプAでは治療後リンパ球 S. I. が治療前の数倍に亢進するものがあり、全体として大きな fluctuation を示したが 4 週でも高値を持続した。

考 察

本研究では、マイクロカプセル化学塞栓療法による各症例の免疫能の変化に注目するため、免疫パラメーターを治療前後の相対値で表示し、かつ 3 測定期間以上にわたって治療前値を上回るものを反応増強と判定した。その結果、T-cell 数と

図4 OKT4/8 ratio after chemoembolization
Type A or B stand for the ratio augmented after chemoembolization or not, respectively.

PHA 刺激反応では器械的動脈塞栓療法における諸家の報告⁴⁻⁶⁾と同様に、明らかな活性の増強を認めなかった。しかし、NK 活性は化学塞栓療法後に 60% の例で増強し、かつ、それらの NK 活性平均値は 4 週後でも治療直前に比較して、高値を示していた。また、この期間は NK 細胞サブセットのなかで、Leu7⁻ CD16⁺ 細胞が、59% の症例で持続的に増加する傾向がみられた。NK 細胞の分化・成熟は、Leu7⁻ Leu11⁻ (CD16) → Leu7⁺ 11⁺ → Leu7⁻ 11⁺ という過程をとるとされることから^{7,8)}、化学塞栓療法後には NK 細胞の分化・成熟が促進されることが示された。

化学塞栓療法後の NK 活性増強の機序を考えるうえで、Johnson & Kalland⁹⁾ の実験が興味深い。彼らは、マウス腎に同種または異種腫瘍を移植し、5 日後に腎動脈を結紮した結果、いずれの腫瘍を持つマウスでも脾細胞の NK 活性が増強することを認めた。健常腎の腎動脈結紮では、NK 活性の増強がなかったことから、前者の免疫賦活機序を腫瘍梗塞によってリンパ組織や血液中に大量の腫瘍抗原が放出された結果によると推察した。ヒトでは動脈塞栓術後に特定の腫瘍抗原が放出されるかどうかは不明であるが、所属リンパ節には種々の刺激反応がみられ、腫瘍間質には Mφ を主とした細胞浸潤が認められている^{9,10)}。このような部位では、Mφ を主体とした抗原提示細胞が壊死巣からの抗原を処理し、CD4⁺ T-cell を介した細胞性免疫の賦活へ進みうるものと推察できる。この際、活性化した Mφ と T-cell は、いく

つかの cytokine を放出するが、NK 細胞はそれらのうち IFN と IL-2 によって活性化されることが知られている^{8,11)}。さらに、腫瘍壊死組織から直接 NK 活性を増強する可溶性物質が放出される可能性も指摘されている¹⁰⁾。

化学塞栓療法は、カプセルの塞栓と抗癌剤徐放作用を利用したターゲティング療法であり、通常の動注療法、器械的塞栓あるいは両者の併用に比較して抗腫瘍効果にすぐれている¹⁾。したがって、それだけ腫瘍抗原の放出も大きいと考えられ、上述したような NK 活性増強がより起こりやすい状況になっていると推察できる。NK 活性増強例に MR 以上の反応が多かったこと、化学塞栓療法に対して抵抗性を示す腎癌¹²⁾に比して膀胱癌、前立腺癌に NK 活性増強例が多い傾向があったことは、その間接的な裏付けと考えられる。

一般に、抗癌剤は免疫担当細胞を産生する骨髄を抑制するが、本療法では全身循環血中の抗癌剤は低濃度に留まり、骨髄抑制は少ない²⁾。このような特徴は NK 活性を含む免疫活性の増強に有利と考えられる。また、抗癌剤が suppressor T-cell を抑制する場合ははじめとして、特定の条件下では抗癌剤が免疫系に賦活効果を及ぼしうることが報告されている^{3,14)}。本療法の後には、CD 4/8 と NK 活性の増強を同時に示す例が多かったことから、循環血中の低濃度抗癌剤が免疫活性の増強に作用した可能性も否定できない。

NK 細胞は、初期癌や転移形成の過程に対して抑制効果を持つと考えられている¹¹⁾。NK 活性が遠隔成績とよく相関する¹⁵⁾という報告は、一つの証拠とされる。化学塞栓療法後にみられた NK 活性の増強も、同時に所属リンパ節や遠隔部の微小転移巣になんらかの抑制効果を発揮している可能性がある。また、筆者らは、NK 活性が高値に維持される化学塞栓療法後の 3～4 週間後に手術を施行しているが、このことが手術時の腫瘍播種による転移形成を抑制することも推察される。このような免疫学的機序が局所浸潤性腎癌と膀胱癌にみられた術後再発の抑制と予後の改善^{2,3)}に多少とも反映されているのではなかろうか。

結 論

マイクロカプセル化学塞栓療法後の免疫パラ

メータは、症例により大きな較差がみられた。しかし、過半数では NK 活性(60%)、CD 4/8(77%)比の増強がみられ、このような例では同時に成熟型 NK 細胞比率が上昇する傾向がみられた。CD 3 または Ia-1 陽性細胞比率と PHA 幼若化能では増強パターンを示す例は多くなかった。

以上の結果、抗癌剤マイクロカプセル化学塞栓療法後には、約半数の症例で NK 活性を中心とした細胞性免疫機構による補助的効果が期待できることを示唆する。

文 献

- 1) Kato, T.: Encapsulated drugs in targeted cancer therapy. Controlled drug delivery. vol. 11. Clinical Application. CRC Press, Florida, 1983 p 189-240.
- 2) 阿部良悦, 加藤哲郎, 森 久, 佐藤一成, 守山正胤: 腎癌に対するマイトマイシンCマイクロカプセル術前補助療法. 日癌治誌 20(3): 535-541, 1985.
- 3) 佐藤一成, 加藤哲郎, 守山正胤, 阿部良悦, 土田正義: 膀胱癌に対するマイクロカプセル手術補助療法. 日泌尿会誌 79(12): 2002-2011, 1988.
- 4) Nakano, H., Nihira, H., Toge, T.: Treatment of renal cancer patients by transcatheter embolization and its effects on lymphocyte proliferative responses. J. Urol. 130: 24-27, 1983.
- 5) Carmignani, G., Belgrano, E., Puppo, P., Cornaglia, P.: T and B lymphocyte levels in renal cancer patients: influence of preoperative transcatheter embolization and radical nephrectomy. J. Urol. 118: 941-943, 1977.
- 6) 大崎往夫, 清水達夫, 伊藤克彦, 樋口 拓: 肝細胞癌に対する動脈塞栓療法における免疫学的パラメータの変動—NK, ADCC 活性を中心に—. 消化器と免疫 No. 14, 日本医学館, 1985, p 216-220.
- 7) Pizzolo, G., Semenzato, G., Chilossi, M., Morittu, L., Smbrosetti, A. et al.: Distribution and heterogeneity of cells detected by HNK-monoclonal antibody in blood and tissues in normal, reactive and neoplastic conditions. Clin. Exp. Immunol. 57: 195-206, 1984.
- 8) 安保 徹, 伊藤公志, 沢田秀明: NK 細胞をめぐる一最近の知見から. 臨床免疫 19(5): 361-376, 1987.
- 9) Johnson, G., Kalland, T.: Enhancement of mouse natural killer cell activity after dearterialization of experimental renal tumors. J. Urol. 132: 1250-1253, 1984.
- 10) Bakke, A., Gothlin, J. H., Haukaas, S. A., Kalland, T.: Augmentation of natural killer cell activity after arterial embolization of renal carcinomas. Cancer Res. 42: 3880-3883, 1982.
- 11) Hanna, N.: The role of natural killer cell in the control of tumor growth and metastasis. Biochimica et Biophysica Acta 780: 213-226, 1985.

- 12) 佐藤一成, 守山正胤, 阿部良悦, 加藤哲郎, 加藤敏郎・
他: 抗癌剤マイクロカプセル化学塞栓療法の臨床成績. DDS 4 (1): 15-19, 1989.
- 13) 沼崎洋三, 岩野勝行, 菊地幹雄, 石田名香雄: Neocarzinostatin(NCS)のマクロファージ活性化作用. 医学のあゆみ 123(11): 992-994, 1982.
- 14) 岩本昭彦, 咲田雅一, 畑 幸樹, 萩原明彦, 高橋俊雄・
他: 活性炭吸着マイトマイシンによる腹腔内マクロファージの活性化について. 日癌治誌 22(8): 634, 1987.
- 15) 田中義憲, 細川友秀, 青池 晟: 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の経過. 臨床免疫 14: 227-236, 1982.