頭頸部悪性腫瘍患者の免疫学的指標について

田 辺 均・伊 田 正 道・福 田 てる代・中 島 嘉 助
篠 崎 文 彦

The immunological parameters in the patient with malignant tumor of head and neck region

Hitoshi TANABE・Masamichi IDA・Teruyo FUKUDA
Kasuke NAKASHIMA・Fumihiko SHINOZAKI

Abstract: Concerning 23 patients diagnosed as having head and neck region malignant tumor, we studied PPD, PHA, Su-PS skin reaction, and the change of blood lymphocytes subpopulation using the OK series monoclonal antibody.

Skin reactions showed tendencies of decrease in the following order: good prognostic cases, cancerous cases, and death cases.

In regard to OKT-3⁺, OKT-4⁺, OKT-4⁺/OKT-8⁺, they showed tendencies of decrease in the following order; good prognostic cases, cancerous cases, and death cases.

We didn't get a significant correlation coefficient from OKT-8⁺, OKIa1⁺.

The OKT-4⁺/OKT-8⁺ decreased in the case of operation, and irradiation therapy.

Key words: malignant tumor, skin reaction, OK series

1. は じ め に

担癌生体において、免疫調節機構の異常は、その主体が細胞性免疫であり、中心となっているのが胸腺由来のT-cellであることが知られている¹⁾。現在種々の方法による免疫パラメーターの測定がなされており、とくに癌腫をはじめ、種々の悪性腫瘍はその発育に伴い細胞性免疫能が低下することが多くの人たちによって報告されている^{2~7)}。われわれも従来より頭頸部悪性腫瘍患者を中心に、細胞性免疫能を調べ、治療効果の判定や予後の推測などの目安としている。

今回その一環として PPD, PHA, Su-PS, 皮内反応とともに、ヒトリンパ球サブセットを識別する OK シリーズモノクローナル抗体を用いて頭頸部悪性腫瘍患者末梢血リンパ球の解析を行ったので、その概要を報告する。

2. 対 象

対象は山口大学医学部付属病院歯科口腔外科を受診し、悪性腫瘍と診断された23症例で、病理組織診断で、扁平上皮癌22例、腺様囊胞癌1例であった。

年齢は42~83歳で平均年齢は63.3歳、性別では男性10例、女性13例とやや女性に多い傾向がみられた。原発部位では、上顎洞1例、歯肉1例、口底3例、舌2例、頬粘膜2例、下顎骨2例で、T分類では、T1; 1例、T2; 6例、T3; 6例、T4; 10例で、Stage分類では、StageⅡ; 2例、StageⅢ; 9例、StageⅣ; 12例であった。これら23症例をさらに、一次治療終了後、臨床的にtumor freeの経過良好例10例、現在治療中ならびに再

表 1 T分類および Stage 分類

T分類	Stage 分類
T1: 2例	Stage I: —
T2: 6例	Stage II: 2例
T3: 5例	Stage III: 10例
T4: 10例	Stage IV: 11例

山口大学医学部歯科口腔外科学教室

(主任: 篠崎文彦教授)

Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
School of Medicine, Yamaguchi University (Chief:
Prof. Fumihiko Shinozaki)

受付日・昭和61年9月22日

表 2 経過良好例：10例

氏 名	年齢	性別	原発部位	TNM 分類	Stage 分類	療 法
1. [redacted]	56	♀	下顎歯肉	T1N1M0	Ⅲ	化, 手
2. [redacted]	56	♂	下顎歯肉	T2N1M0	Ⅲ	化, 手
3. [redacted]	73	♀	下顎歯肉	T4N1M0	Ⅳ	化, 手
4. [redacted]	74	♀	上顎歯肉	T2N0M0	Ⅱ	化, 手, 放
5. [redacted]	78	♀	下顎歯肉	T2N1M0	Ⅲ	化, 手, 放
6. [redacted]	64	♀	口底	T3N0M0	Ⅲ	化, 手, 放
7. [redacted]	72	♀	口底	T3N1M0	Ⅲ	化, 手
8. [redacted]	48	♀	舌	T2N1M0	Ⅲ	化, 手
9. [redacted]	61	♀	上顎洞	T3N0M0	Ⅲ	化, 手, 放
10. [redacted]	45	♂	頬粘膜	T3N1M0	Ⅲ	化, 手

表 3 担癌例：9例

氏 名	年齢	性別	原発部位	TNM 分類	Stage 分類	療 法
1. [redacted]	42	♀	上顎洞	T4N2M1	Ⅳ	化**
2. [redacted]	75	♀	上顎洞	T3N2M1	Ⅳ	化, 手, 放
3. [redacted]	83	♀	上顎洞	T4N1M0	Ⅳ	化, 放
4. [redacted]	51	♂	下顎骨	T4N1M0	Ⅳ	化, 放
5. [redacted]	64	♀	下顎骨	T4N1M0	Ⅳ	化, 手, 放
6. [redacted]	65	♂	下顎歯肉	T4N2M0	Ⅳ	化, 手, 放
7. [redacted]	70	♂	下顎歯肉	T2N0M0	Ⅱ	化, 手, 放
8. [redacted]	55	♂	口底	T4N1M0	Ⅳ	化, 手, 放
9. [redacted]	69	♀	舌	T1N1M0	Ⅲ	化, 手, 放

** Adenoid cystic carcinoma

表 4 死亡例：4例

氏 名	年齢	性別	原発部位	TNM 分類	Stage 分類	療 法
1. [redacted]	50	♂	上顎洞	T4N2M0	Ⅳ	化, 手, 放
2. [redacted]	56	♂	上顎洞	T4N1M0	Ⅳ	化, 放
3. [redacted]	72	♂	上顎洞	T4N1M0	Ⅳ	化
4. [redacted]	75	♂	頬粘膜	T2N1M0	Ⅲ	化, 手, 放

発を認めた担癌例 9 例, 悪性腫瘍を原因とした死亡例 4 例について検索を行った (表 1).

経過良好例 10 例では, 年齢は 45~74 歳, 平均年齢 62.7 歳, 原発部位は歯肉 5 例, 口底 2 例, 上顎洞 1 例, 頬粘膜 1 例, 舌 1 例. Stage 分類では Stage Ⅱ ; 1 例, Stage Ⅲ ; 8 例, Stage Ⅳ ; 1 例であった (表 2).

担癌例 9 例では, 年齢 42~83 歳, 平均年齢 63.8 歳, 原発部位は上顎洞 ; 3 例, 下顎骨 ; 2 例, 歯肉 ; 2 例, 口底 ; 1 例, 舌 ; 1 例. Stage 分類では Stage Ⅱ ; 1 例, Stage Ⅳ ; 8 例であった (表 3).

死亡例 4 例はいずれも男性で, 50~75 歳, 平均年齢

63.3 歳, 原発部位は, 上顎洞 3 例, 頬粘膜 1 例で, Stage 分類では, Stage Ⅱ ; 1 例, Stage Ⅳ ; 3 例であった (表 4).

3. 免疫能の検査法

1) 皮内反応

PPD 皮内反応には, 一般診断用精製ツベルクリン液 (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 日本 BCG 社製) を 0.1 ml 用い 48 時間後に判定した.

PHA 皮内反応には purified PHA 5 $\mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ (中外

図 1 PPD 皮内反応

図 3 Su-PS 皮内反応

図 2 PHA 皮内反応

表 5 各種皮内反応の陽性率

	良好例	担癌例	死亡例
PPD	70% (7/10)	33% (3/9)	25% (1/4)
PHA	70% (7/10)	33% (3/9)	25% (1/4)
Su-PS	70% (7/10)	33% (3/9)	0% (0/4)

2) リンパ球モノクローナル抗体について

モノクローナル抗体による末梢血リンパ球サブセットについては、ヘパリン加末梢血 2 ml を採取の後、Ficol 法にてリンパ球を分離し、FITC 標識モノクローナル抗体（オーソ社製）OK シリーズ（OKT-3, OKT-4, OKT-8, OKIa 1）を用い細胞解析は flow cytometry にて行った。

症例によって治療実日数，治療法，測定回数が異なっているため，今回は最近の測定回数 3 回以上 6 回までの平均値をプロットした。

4. 結 果

1) 皮内反応について

PPD 皮内反応については，経過良好例 10 例の平均値 17.7 mm，担癌例 9 例の平均値 8.7 mm，死亡例 4 例の平均値 6.1 mm と病態の進行とともに低下傾向を認め

製薬製）を用い 24 時間後に判定した。

Su-PS 皮内反応には，溶連菌 Su 株より抽出したポリサッカライド 20 μ g/0.1 ml（中外製薬製）を用い 24 時間後に判定した。

皮内反応の判定は，発赤斑の長径と短径の和の skin reaction としてプロットした。なお，陽性判定は PPD, PHA, Su-PS すべて 10 mm 以上とした。

図 4 各症例における OKIa-1 陽性細胞のしめる割合

図 6 各症例における OKT-4 陽性細胞のしめる割合

図 5 各症例における OKT-3 陽性細胞のしめる割合

た (図 1)。

PHA 皮内反応でも経過良好例 13.2 mm, 担癌例 9.8 mm, 死亡例 6.1 mm と同様の傾向を認めた (図 2)。

Su-PS 皮内反応でも同様に経過良好例 17.7 mm, 担癌例 8.7 mm, 死亡例 4.0 mm と病態の進行に従って負の相関関係を示した (図 3)。

各種皮内反応の陽性率を比較検討すると、経過良好例では、PPD, PHA, Su-PS, 各 70%, 担癌例は各 33%, 死亡例では PPD, PHA は 25%, Su-PS は全て陰性であった (表 5)。

2) ヒトリンパ球モノクローナル抗体の検索

OKIa-1 ; B リンパ球, 単球, 活性化 T リンパ球については経過良好例, 担癌例, 死亡例ではその経過で著明な変動はみられなかった (図 4)。

OKT-3 ; T リンパ球については、経過良好例 10 例の平均値 65.7%, 担癌例 9 例の平均値 64.2%, 死亡例 4 例の平均値 56.7% とわずかながら病態の進行とともに低下傾向を示した (図 5)。

OKT-4 ; helper inducer T-cell については経過良好例, 担癌例, 死亡例の順にその平均値は 41.9%, 36.2%, 24.4% と低下傾向を示した (図 6)。

OKT-8 ; suppressor cytotoxic T-cell については、ほとんどの症例で著明な変動はみられなかった。平均が 28.4 (良好例), 33.0% (担癌例), 26.0% (死亡例) で

図 7 各症例における OKT-8 陽性細胞のしめる割合

図 8 各症例における OKT-4 陽性細胞と OKT-8 陽性細胞の比率

大差は見られず、担癌例が若干高い傾向を示した(図 7)。

免疫調節機能を最もよく表し、担癌生体では低下が見られるといわれている OKT-4⁺/OKT-8⁺ は、良好例 1.7, 担癌例 1.3, 死亡例 1.2 の順にその平均値は低下し病状を比較的良好に反映していた(図 8)。

また、手術と放射線治療の影響について 9 症例の、OKT-4⁺/OKT-8⁺ の変動を検索した結果、術後あるいは放射線療法後(2~3 週後)は全症例が低下していたが、1 か月半~2 か月後には 9 症例全部がほぼ治療前の状態に復していた(図 9)。

5. 考 察

近年、担癌生体において、その臨床経過と細胞性免疫能との間には相関性があるといわれている¹⁾。細胞性免疫能の状態を把握することにより予後を推定することも可能であり、免疫パラメーターの動態が有力な手がかりになることが示されている^{1~6)}。現在多くの免疫学的機能検査が行われているが^{2~7)}、測定手技の複雑なことや、機器が高価なこともありすべての検査がどこの施設でもできるというわけではない。その中で PPD, PHA, Su-PS 等の皮内反応は比較的簡単で、しかも病態をある程度把握することができ^{8~10)}、有用と思われる。

図 9 OKT-4 陽性細胞と OKT-8 陽性細胞の比率の推移

PPD は結核菌を培養した合成培地からトリクロル酢酸で沈殿させて調製した可溶性タンパク質で、結核菌による感作または感染に対する診断試薬として用いられてきた。しかし、担癌生体においては陽性率が低下し、各種癌治療や免疫療法により陽転する例が見られることや、他の免疫学的パラメーターとよく相関する¹⁰⁾ことなどにより多くの施設で利用されている。

PHA はウズラマメの種子から抽出したタンパクで T-cell の強力な mitogen であるが、PPD, Su-PS と違って感作、感染の有無に対する心配がなく、病態の進行に従って陽性率が低下するといわれている⁹⁾。

Su-PS は *Streptococcus pyogenes* A 群Ⅲ型 Su 株を培養後トリクロル酢酸にて抽出したポリサッカライドで、PPD 皮内反応同様に recall antigen による遅延型皮膚反応を起こす。Su-PS は健康人では大部分陽性を呈すが、進行癌患者では反応の低下がみられ、また OK-432 による免疫療法においてその臨床効果をよく反映しているといわれる^{11,12)}。

今回われわれの検索した各種皮内反応は、いずれも良好例、担癌例、死亡例の順に低下傾向を示し、陽性率も良好例では 70%、担癌例 33%、死亡例では PPD, PHA 各 25%、Su-PS 0% と低下傾向を示している。しかし Su-PS は、前述のように recall antigen であり、OK-432 によく反映するが、全症例に OK-432 投与を施行しているわけではなく幾分問題点が残る。けれども、いずれにしても各皮内反応は病態の進行とよく相関しているように思われた。

1975年、Kohler と Milstein¹³⁾ はマウス骨髄腫の細胞とある抗原 X で感作されたマウスの脾臓細胞を融合させ、そのある抗原 X に対する抗体だけを無限に造り続ける培養細胞を得ることに成功し、単クローン性抗体産生の技法を確立した。以来種々のモノクローナル抗体が開発されるようになり、各種自己免疫疾患をはじめ多くの疾患の解析¹⁴⁾に役立っている。

細胞性免疫の主体をなす T リンパ球の細胞膜抗原を認識するモノクローナル抗体には、OK シリーズ、Leu シリーズ、T シリーズなど⁷⁾をはじめいくつかの方法があり細胞性免疫能の検索が可能になってきた。

今回われわれが OK シリーズ・モノクローナル抗体を用いて検索した限りでは、OKIa 1; B リンパ球、単球、活性化 T リンパ球については経過良好例、担癌例、死亡例では特異的な変動は見られなかったが、OKT-3; T リンパ球では、病態の進行に従ってわずかではあるが低下傾向が見られた。また OKT-4; helper-inducer T 細胞は、経過良好例、担癌例、死亡例の順に低下傾向を示し、OKT-8; suppressor-cytotoxic T 細胞は病態との相関は得られなかったが、OKT-4 陽性細胞と OKT-8 陽性細胞とは互いに相補的關係にあり、OKT-4 陽性細胞は少数で helper 活性を示すが、その数が多くなるとか

えて helper 活性が悪くなるといわれ¹⁵⁾ており、OKT-4⁺/OKT-8⁺ は 1.5 前後の値が健常者の平均値とされている。われわれが検索した限りでも、経過良好例; 1.7, 担癌例; 1.3, 死亡例; 1.2 と病態の進行順に低下を認めるが、これは OKT-4 陽性細胞の低下によるものが多いと考えられる。

OKT-4⁺/OKT-8⁺ は、その細胞性免疫能をよく反映しており、手術、放射線療法など全身的なダメージを受けるような治療において低値を示すといわれている¹⁹⁾。われわれも 9 症例について、放射線療法、手術療法前と療法後における比較を行ったところ、すべての症例で一過性の低下を認め、全身状態の回復に伴って治療法前の値に戻る傾向を示した。しかし、OKT-4⁺ 細胞は放射線照射により helper 機能が失われるともいわれており¹⁵⁾、放射線療法を行った患者では、helper/suppressor は実際の数値よりもさらに低い値を示すのではないかと考えられる。

現在、リンパ球サブセット測定に関しても数多くのモノクローナル抗体が開発されており、細胞性免疫能の低下を明らかにするのに helper, suppressor だけでなく killer, natural killer T 細胞も測定可能となっており種々の疾患の解明に応用されつつある。われわれの領域でも口腔の癌腫や、唾液腺にみられる悪性リンパ腫など種々の疾患について検索がなされており、治療法や予後を推定するのになくはならぬ検査の一つになりつつある。また NK 細胞については癌腫の転移形成に対して抑制的な働きを示すなどの報告²⁰⁾もあり、今後の検討の課題とされるところである。

6. ま と め

1. 頭頸部悪性腫瘍患者と診断された 23 例（経過良好例 10 例、担癌例 9 例、死亡例 4 例）について、PPD, PHA, Su-PS 皮内反応と末梢血リンパ球サブセットの変動を OK シリーズモノクローナル抗体を用いて検索した。

2. 各皮内反応は良好例、担癌例、死亡例の順に低下傾向を示した。

3. OKT-3, OKT-4, OKT-4/OKT 8 については、良好例、担癌例、死亡例の順に低下傾向を示した。

4. OKT-8, OKIa 1 については、著明な相関関係は得られなかった。

5. 手術と放射線治療により OKT-4/OKT-8 の一過性の低下を認めた。

本論文の要旨は、第 30 回日本口腔外科学会総会（1985 年、9 月 24 日、25 日 東京）において発表した。

引用文献

- 1) 藤林孝司：口腔癌における細胞性免疫反応に関する研究。口科誌 32: 657-695 1983.
- 2) Hughes, L.E. and MacKay, W.D.: Suppression of the tuberculin response in malignant disease. Br Med J 4: 1346-1348 1965.
- 3) Eilber, F.R., Morton, D.L., et al.: Immunologic abnormalities in head and neck cancer. Am J Surg 128: 534-538 1974.
- 4) 瀬山 淳：顎・口腔領域癌腫患者の細胞性免疫能に関する研究。第1編 末梢リンパ球の幼若化能と初診時病態との関係, 廣大歯誌 14: 156-166 1982.
- 5) 折田薫三, 三輪努昭, 他：リンパ球芽球化現象から, 癌の臨床 24: 941-947 1978.
- 6) 黒川英雄, 梶山 稔, 他：顎・口腔領域における悪性腫瘍患者の細胞性免疫反応に関する検討—PPD 皮内反応について—, 口科誌 33: 563-573 1985.
- 7) 水越正信, 田沢裕光, 他：モノクローナル抗体によるリンパ球サブセット・フローサイトメトリー全血測定法の検討, 臨床病理 32: 809-813 1984.
- 8) 花上 仁, 野本信之助, 他：癌免疫療法における免疫学的パラメーターと予後について, 日消外会誌 16: 1374-1379 1983.
- 9) 亀井秀雄：各種パラメーターの相関性, 癌の臨床, 24: 949-955 1978.
- 10) Nicholls, E.M.: Aggregation of buffy coat leucocytes—a simple, sensitive assay for cell-mediated immunity. Clin Exp Immunol 17: 673-680 1974.
- 11) 渡辺洋宇, 山田哲司, 他：OK-432 による免疫療法に際しての SU-ポリサッカライド皮膚反応の意義, 癌と化学療法 8: 1068-1083 1981.
- 12) 小谷 勝, 熊谷茂宏：口腔癌患者に対する術後 OK-432 療法と Su-PS 皮内反応の推移, 診療と新薬 21: 416-421 1984.
- 13) Kohler, G. and Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256: 495-497 1975.
- 14) 矢田純一：モノクローナル抗体によって同定される T 細胞亜群とその疾患における変動, 臨床免疫 13: 891-899 1981.
- 15) Thomas, Y., Sosman, J., et al.: Functional analysis of human T cell subsets defined by monoclonal antibodies. I) Collaborative T-T interactions in the immunoregulation of B cell differentiation. J Immunology 125: 2402-2408 1980.
- 16) Bach, M. and Bach, J.: Imbalance in T cell subsets in human diseases. Int J Immunopharmac 3: 269-273 1981.
- 17) 諸山隆生, 遠藤邦彦, 他：顎・口腔領域扁平上皮癌患者の末梢血リンパ球サブセットの変動, 癌の臨床 31: 117-121 1985.
- 18) 林 良夫, 佐藤光信, 他：頭頸部癌患者末梢リンパ球サブセットの異常—単クローン抗体による解析—, 医学のあゆみ 128: 507-508 1984.
- 19) 領家利男, 森田ますみ, 他：口腔癌患者の末梢血リンパ球サブセットの検討, 口科誌(会) 33: 819 1985.
- 20) 内田温士, 星野 孝, 他：NK 細胞と癌, Oncologia 6: 33-42 1983.