頭頸部癌患者における NK, LAK 活性の動態

加地 亮詞・岡本 正人・板東 高志・張木 宏一
 総谷 啓史・井川 雅典・瀬尾 重博・由良 義明
 梁川 哲雄*・吉田 秀夫・佐藤 光信

Dynamic changes of NK and LAK activity in head and neck cancer patients

Ryoji KAJI・Masato OKAMOTO・Takashi BANDO Hirokazu HARIKI
 Hirofumi KASETANI・Masanori IKAWA・Shigehiro SEO・Yoshiaki YURA
 Tetsuo YANAGAWA*・Hideo YOSHIDA・Mitsunobu SATO

Abstract: Natural Killer (NK) and lymphokine-activated killer (LAK) activity as well as surface markers of peripheral blood lymphocytes (PBL) in head and neck cancer patients are investigated with regard to the prognosis of patients. Patients (n=31) were grouped as follows: (1) untreated (UT) group (n=29), (2) treated, disease-free (TDF) group (n=21), and (3) group with recurrent disease (RD; n=6). NK and LAK activities were assayed by ^{51}Cr release method using K-562 cells in NK assay or Daudi cells in LAK assay as targets. Also LAK induction rate from PBL by interleukin-2 (IL-2) was measured. Analysis of surface markers of PBL (Leu 2, Leu 3, Leu 4, Leu 7, Leu 11, HLA-DR, and M1) including two color analysis (Leu 4 $\times$ HLA-DR, Leu 2 $\times$ Leu 15, Leu 3 $\times$ Leu 8, and Leu 7 $\times$ Leu 11) were performed using flow cytometry system.

NK activity ($P<0.01$) or LAK induction rate ($P<0.01$) in the TDF group was significantly increased as compared with the UT group. LAK activity in PBL without IL-2 treatment were not statistically different among TDF, RD, and UT groups. In the study of surface markers of PBL, a significant decrease in the percentage of Leu3 $^{+}$ ($P<0.01$) or Leu 3 $^{+}$ 8 $^{+}$ ($P<0.01$) cells, and significant increase in the percentage of HLA-DR $^{+}$ ($P<0.01$), Leu 4 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$ ($P<0.05$), or Leu 3 $^{+}$ 8 $^{-}$ ($P<0.05$) cells in TDF group were observed as compared with each corresponding immunological parameter in the UT group. In the RD group, the percentage of Leu 3 $^{+}$ ($P<0.001$) or Leu 4 $^{+}$ ($P<0.05$) cells was significantly decreased and the percentage of HLA-DR $^{+}$ ($P<0.01$), Leu 7 $^{+}$ ($P<0.05$), Leu 11 $^{+}$ ($P<0.05$), or Leu 2 $^{+}$ 15 $^{+}$ ($P<0.05$) cells was significantly increased, when compared with the UT group. However, the difference between each pair of UT, TDF and RD groups with regard to the percentage of M1 $^{+}$, Leu 7 $^{+}$ 11 $^{-}$, Leu 7 $^{+}$ 11 $^{+}$, or Leu 7 $^{-}$ 11 $^{+}$ cells in PBL was not significant.

Key words: NK activity (NK 活性), LAK activity (LAK 活性), head and neck cancer (頭頸部癌)

徳島大学歯学部口腔外科学第2講座
 (主任: 佐藤光信教授)

* 大阪警察病院歯科口腔外科
 (主任: 梁川哲雄部長)

The Second Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Tokushima University School

of Dentistry (Chief: Prof. Mitsunobu Sato)

* Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Osaka Police Hospital (Chief: Dr. Tetsuo Yanagawa)

受付日: 平成3年10月4日

結 言

一般に癌患者の免疫能は、健常人に比べて低下した状態にあると考えられる^{1,2)}。癌の治療法である手術療法、化学療法、放射線療法は癌患者の免疫能に影響を与え、予後にも関与する。最近、抗腫瘍に働くエフェクター細胞として natural killer (NK) 細胞^{3,4)}、抗体依存性細胞傷害活性 (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) に働く killer (K) 細胞⁵⁻⁷⁾、インターロイキン 2 (interleukin-2: IL-2) などのリンホカインにより活性化される lymphokine-activated killer(LAK) 細胞⁸⁻¹⁰⁾の、いわゆる null 細胞の範疇に属する細胞が注目を集め、これらの細胞の活性化の動態と IL-2 やインターフェロン (IFN) のようなリンホカイン、ならびに他のリンパ球亜群との関連性が示唆されている¹¹⁻¹⁵⁾。しかし、担癌生体において、これらのキラー細胞群の活性化と癌の増殖、退縮との関連性は不明な点が多く、担癌生体でのこれらのキラー細胞により発揮される活性を患者の予後との関連性より検討することは重要と考えられる。以前、われわれは ADCC 活性を発揮する K 細胞が健常人に比べて頭頸部癌患者で低下していることを報告している^{12,15)}。

今回、頭頸部癌患者の末梢血リンパ球の NK, LAK 活性を two-color 解析を含めた末梢血リンパ球亜群の解析とともに、患者の予後との関係より検討したので報告する。

対 象 と 方 法

対 象：本研究には31例（平均年齢：65.7±13.3歳）の頭頸部癌患者を対象とした。患者の部位別、組織別および Stage 別の内訳を表1に示す。患者は初診時での未治療群、治療後1年以上再発を認めない経過良好群および再発群に分け解析を行った。すなわち、未治療群は29例（平均年齢：65.9±13.3歳）、経過良好群は21例（平均年齢：65.7±12.9歳）、再発群は6例（平均年齢：60.8±11.3歳）であった。

末梢血単核球分離法：末梢血単核球は Böyum の方法¹⁶⁾に準じた比重遠心法にて分離した。すなわち、患者あるいは健常人より採血したヘパリン添加末梢血に等容量の Ca^{2+} 、 Mg^{2+} を含まないリン酸緩衝生理食塩水 [PBS(-), pH 7.2] を加えた。この末梢血標品を 1/2 容量の Ficoll-Conray 溶液 (Histopaque® -1,077; Sigma Chemical Co.) 上に重層して、室温で 400×g にて 30分間遠心した。この遠心操作により形成された単核球層を、パスツールピペットで採取した後、PBS(-) で 3 回遠心洗浄し、末梢血単核球標品とした。

NK および LAK 活性の測定法：NK および LAK

表 1 頭頸部癌患者の内訳
(部位別の内訳)

部 位	患 者 数
舌	11
歯槽歯肉	7
頬粘膜	2
口底	2
口蓋	2
上顎洞	6
咽頭	1
計	31

(組織型の内訳)

組 織 型	患者数
扁平上皮癌	26
腺様嚢胞癌 (口蓋, 口底)	2
腺癌 (舌)	1
悪性多形性腺腫 (歯肉)	1
悪性黒色腫 (口蓋)	1
計	31

(扁平上皮癌の Stage 別の内訳)

Stage	患者数
I	3
II	3
III	11
IV	9
計	26

活性は ^{51}Cr 遊出法にて測定した。標的細胞として、NK 活性測定には、NK 細胞に感受性を示す細胞株である K-562 細胞を、LAK 活性測定には NK 細胞に抵抗性を示す細胞株である Daudi 細胞を用いた。エフェクター細胞は患者より調製した末梢血単核球を用いた。また、LAK 誘導活性の測定には、最終濃度 1,000 U/ml の遺伝子組換え型 IL-2 (rIL-2; シノノギ製薬) と 5% ヒト AB 型血清を含む RPMI 1,640 培養液に末梢血単核球を 10^6 個/ml の割合に調製し、3～4日間培養することで LAK 細胞を誘導し、この LAK 細胞を誘導活性測定のエフェクター細胞として用いた。 ^{51}Cr 遊出法は以下のように行った。すなわち、標的細胞 10^6 個を $100 \mu\text{Ci}$ $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ で 37°C 、90 分間反応させて ^{51}Cr で標識した後、PBS (-) で 3 回遠心洗浄し、RPMI 1,640 培養液に浮遊させた。この細胞浮遊液を 96 穴丸底マイクロタイタープレート中に 1 穴あたり 10^4 個/ $100 \mu\text{l}$ の

割合で植え込んだ後、RPMI 1,640 培養液で調製したエフエクター細胞 2×10^5 個/100 μ l を加え、37°C で 4 時間培養した。この後、エフエクター細胞の細胞傷害活性により標的細胞が破壊されることで遊出した ^{51}Cr を含む培養上清を Supernatant Collection System (Flow Laboratories, McLean, VI, USA) を用いて採取し、放射活性を γ -カウンター (Model Gamma 8000; Beckman Instruments, Inc., Fullerton, CA, USA) で測定した。NK および LAK 活性は % 細胞傷害能で表わし、下記の公式により算出した。

$$\% \text{細胞傷害能} = \frac{\left(\frac{\text{各標品の}}{\text{カウント}} \right) - \left(\frac{\text{バックグラウンドの}}{\text{カウント}} \right)}{\left(\frac{\text{全体の}}{\text{カウント}} \right) - \left(\frac{\text{バックグラウンドの}}{\text{カウント}} \right)} \times 100$$

末梢血リンパ球亜群の解析：末梢血リンパ球亜群の解析に用いたリンパ球表面抗原に対する単クローン抗体として、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識抗体として、Leu 2a, Leu 3a, Leu 4, Leu 7, Leu 11a (Becton Dickinson Inc. Sunnyvale, CA, USA) を、Phycoerythrin (PE) 標識抗体として Leu 8, Leu 11, Leu 15, Leu 19, HLA-DR (Becton Dickinson) を用いた。非標識抗体として OKM1 (Orth Pharmaceutical Corp., Raritan, NJ, USA) を用いた。細胞表面マーカーの染色に際しては、単クローン抗体 40 μ l と末梢血単核球 10^6 個を 4°C、30 分間インキュベートした。OKM1 の場合、2 次抗体として FITC 標識抗マウス IgG (Cappel Laboratories, Cohranville, PA, USA) を用いた。抗体との反応を行った単核球は PBS (-) で 3 回洗浄した後、フローサイトメトリー (CS-20 S; 昭和電工(株), 東京) で解析した。Two-color 解析として、Leu 4 $\times$ HLA-DR, Leu 2 $\times$ Leu 15, Leu 3 $\times$ Leu 8, Leu 7 $\times$ Leu 11 の FITC 標識抗体と PE 標識抗体の組み合わせで解析した。スキャッターゲートはリンパ球分画に設定し、リンパ球 10^4 個のカウントより陽性細胞率を算出した。

統計解析法：データの有意差検定は Mann-Whitney U Test により行った。

結 果

1. 治療に伴う NK, LAK 活性の動態

表 2 に治療に伴う NK, LAK 活性の動態を示す。NK 活性では未治療群 $28.9 \pm 9.9\%$ ($n=29$) に比べて、経過良好群 $39.4 \pm 11.3\%$ ($P<0.01$, $n=21$) と有意に上昇を認めた。再発群は $26.7 \pm 5.2\%$ ($n=6$) と未治療群との間に有意差を認めなかった。一方、LAK 活性では、IL-2 で誘導しない非誘導活性では各群の間に有意差を認めなかったが、誘導活性では経過良好群が $59.2 \pm 10.1\%$ ($P<0.01$, $n=21$) と未治療群 $45.7 \pm 15.5\%$ ($n=29$) に比べ有意に上昇を認めた。

2. 治療に伴う末梢血リンパ球亜群の動態

未治療群、経過良好群および再発群の末梢血リンパ球亜群の動態について解析した (表 3)。経過良好群の白血球数 ($4,770.0 \pm 1,466.9/\text{mm}^3$, $P<0.05$, $n=21$) およびリンパ球数 ($1,723.1 \pm 595.4/\text{mm}^3$, $P<0.05$, $n=21$) は未治療群 (白血球: $6,183.3 \pm 2,094.3/\text{mm}^3$, $n=29$; リンパ球: $2,237 \pm 847.6/\text{mm}^3$, $n=29$) に比較して、有意に低下していた。また、Single-Color 解析で、経過良好群の Leu 3⁺ 細胞 ($34.7 \pm 8.3\%$, $P<0.01$, $n=21$) は未治療群 ($41.2 \pm 7.3\%$, $n=29$) に比較して有意に低下を示し、経過良好群の HLA-DR⁺ 細胞 ($39.4 \pm 11.2\%$, $P<0.01$, $n=21$) は未治療群 ($30.3 \pm 7.9\%$, $n=29$) に比較して有意に増加していた。再発群での Leu 4⁺ 細胞 ($50.5 \pm 7.3\%$, $P<0.05$, $n=6$)、Leu 3⁺ 細胞 ($28.8 \pm 4.4\%$, $P<0.001$, $n=6$) は未治療群 (Leu 4⁺ 細胞: $63.4 \pm 10.0\%$, $n=29$; Leu 3⁺ 細胞: $41.2 \pm 7.3\%$, $n=29$) と比較して有意に低下し、再発群の HLA-DR⁺ 細胞 ($39.3 \pm 3.9\%$, $P<0.01$, $n=6$)、Leu 7⁺ 細胞 ($33.7 \pm 11.3\%$, $P<0.05$, $n=6$)、Leu 11a⁺ 細胞 ($30.8 \pm 8.5\%$, $P<0.05$, $n=6$) は未治療群 (HLA-DR⁺ 細胞: $30.3 \pm 7.9\%$, $n=29$; Leu 7⁺ 細胞: $21.7 \pm 8.1\%$, $n=29$; Leu 11a⁺ 細胞: $19.7 \pm 7.1\%$, $n=29$) に比較して有意に増加していた。

Two-Color 解析では、経過良好群の活性化 T 細胞を示す Leu 4⁺ HLA-DR⁺ 細胞 ($16.2 \pm 9.9\%$, $P<0.05$,

表 2 治療に伴う NK, LAK 活性の動態

各パラメーター値は各群での mean $\pm$ SD を示す。*: 未治療群との間に有意差を認める ($P<0.01$: Mann-Whitney U Test)。

活 性	未治療群 (n=29)	経過良好群 (n=21)	再 発 群 (n=6)
NK 活性 (%)	28.9 $\pm$ 9.9	39.4 $\pm$ 11.3*	26.7 $\pm$ 5.2
LAK 活性 非誘導 (%)	3.5 $\pm$ 3.4	4.3 $\pm$ 4.3	4.7 $\pm$ 1.9
誘導 (%)	45.7 $\pm$ 15.5	59.2 $\pm$ 10.1*	49.0 $\pm$ 11.3

表 3 治療に伴う末梢血リンパ球亜群の動態

各パラメーター値は各群での mean±SD を示す。未治療群と経過良好群あるいは未治療群と再発群との間に有意差を認める (* : P<0.05, ▲ : P<0.01, * : P<0.001 ; Mann-Whitney U Test),

	未治療群 (n=29)	経過良好群 (n=21)	再発群 (n=6)
WBC (/mm ³)	6,183.3±2,094.3	4,770.0±1,466.9*	5,383.3±2,441.7
Lymphocyte (/mm ³)	2,237.1±847.6	1,723.1±595.4*	1,707.2±780.6
Leu 4 ⁺ (%)	63.4±10.0	62.3±12.0	50.5±7.3*
Leu 3 ⁺ (%)	41.2±7.3	34.7±8.3▲	28.8±4.4*
Leu 2 ⁺ (%)	24.1±7.7	29.0±10.1	28.9±14.2
HLA-DR ⁺ (%)	30.3±7.9	39.4±11.2▲	39.3±3.9▲
Leu 7 ⁺ (%)	21.7±8.1	27.8±11.0	33.7±11.3*
Leu 11 ⁺ a (%)	19.7±7.1	23.3±8.6	30.8±8.5*
M1 ⁺ (%)	26.1±11.7	31.4±14.1	33.9±10.1
Leu 4 ⁺ HLA-DR ⁺ (%)	10.7±6.7	16.2±9.9*	13.7±5.5
Leu 3 ⁺ 8 ⁻ (%)	15.4±6.3	19.5±5.4*	12.2±3.4
Leu 3 ⁺ 8 ⁺ (%)	27.0±8.8	19.1±6.8▲	21.6±4.2
Leu 2 ⁺ 15 ⁻ (%)	18.7±7.1	21.0±7.7	19.0±8.6
Leu 2 ⁺ 15 ⁺ (%)	6.1±3.7	7.6±4.0	10.9±3.7*
Leu 7 ⁺ 11 ⁻ (%)	14.7±8.3	17.3±6.9	14.8±3.2
Leu 7 ⁺ 11 ⁺ (%)	13.0±7.9	13.7±7.6	15.9±6.9
Leu 7 ⁻ 11 ⁺ (%)	3.6±2.8	4.6±2.0	5.1±3.5

n=21) とヘルパー T細胞を示す Leu 3⁺ 8⁻細胞 (19.5 ±5.4%, P<0.05, n=21) は未治療群 (Leu 4⁺ HLA-DR⁺ 細胞 : 10.7±6.7%, n=29 ; Leu 3⁺ 8⁻細胞 : 15.4 ±6.3%, n=29) に比較して有意に増加していた。一方、経過良好群のインデューサー T細胞を示す Leu 3⁺ 8⁺ 細胞 (19.1±6.8%, P<0.01, n=21) は未治療群 (27.0±8.8%, n=29) より有意に低値を示した。再発群のサプレッサー T細胞を示す Leu 2⁺ 15⁺ 細胞 (10.9 ±3.7%, P<0.05, n=6) は未治療群 (6.1±3.7%, n=29) に比較して有意に増加していた。一方、未治療群、経過良好群および再発群におけるそれぞれの二者間での Leu 7⁺ 11⁻, Leu 7⁺ 11⁺ あるいは Leu 7⁻11⁺ 細胞の値には有意差を認めなかった。

また、経時的に測定可能であった経過良好群13症例、再発群5症例の Leu 3⁺ 8⁻, Leu 3⁺ 8⁺, Leu 2⁺ 15⁻, Leu 2⁺ 15⁺ 細胞亜群の経時的推移を検討した (図1)。Leu 3⁺ 8⁻ 細胞率では、経過良好群に増加傾向を認めたが、再発群ではあきらかな傾向を認めなかった。Leu 3⁺ 8⁺ 細胞率では、経過良好群に経過に伴い低下する傾向を認めたが、再発群には一定の傾向を認めなかった。Leu 2⁺ 15⁻ 細胞率では、経過良好群、再発群ともに一定の傾向を認めず、Leu 2⁺ 15⁺ 細胞率では、経過良好群では一定の傾向を認めなかったが、再発群では

増加傾向を認めた。

考 察

腫瘍免疫において、抗腫瘍エフェクター細胞による腫瘍細胞障害作用は、抗腫瘍効果の主体をなし、抗腫瘍エフェクター細胞の中で NK, K, LAK 細胞は重要な位置を占めると考えられる。このため、癌患者におけるこれらの細胞活性の検討は、癌患者の免疫動態を知る1つの指標になると考えられる。われわれは、ADCC 活性を発現するK細胞については、頭頸部癌患者においてK細胞率、K細胞絶対数がともに健常人に比べて、有意に低下を認めること、またK細胞絶対数は経過良好群で未治療群と比べて、有意に増加することをすでに報告している^{12,15)}。今回、頭頸部癌患者31例を対象とし、末梢血リンパ球の NK, LAK 活性を末梢血リンパ球亜群とともに、予後との関係より検討した。その結果、NK 活性は未治療群に比較して経過良好群で有意に上昇を認め、LAK 活性では誘導活性が同様に経過良好群で有意に上昇を認めた。このことより、NK 活性と LAK 誘導活性が患者の予後と関連していることが示唆された。

NK 細胞は、形態的に large granular lymphocyte を示し、主要組織適合抗原 (major histocompatibility co-

図 1 経時的に測定可能であった経過良好群15例、再発群8例の Leu 3⁺ 8⁻, Leu 3⁺ 8⁺, Leu 2⁺ 15⁻, Leu 2⁺ 15⁺ 細胞亜群の推移。

mplex: MHC) に非拘束性の細胞障害活性を有する細胞群である^{3,4)}。NK 細胞の細胞表面マーカーとして、CD 16 (Leu 11) と CD 57 (Leu 7) が知られている^{17,18)}。NK 細胞の活性強度と細胞分化について、Leu 7⁺ 11⁻, Leu 7⁺ 11⁺, Leu 7⁻ 11⁺ の順に活性強度が増加することが報告されている¹⁹⁾。以前、われわれは頭頸部癌患者を健常人と比較すると、末梢血リンパ球の NK 活性は低下を示し、Leu 7⁺ 細胞率、Leu 11⁺ 細胞率が有意に増加すること、また Leu 7⁺/Leu 11⁺ の比で見ると、未治療群に比較して再発群では有意に増加することを報告した¹³⁾。今回の検討では、未治療群に比較して再発群で Leu 7⁺ 細胞率、Leu 11⁺ 細胞率の増加を認めたが、Leu 7⁺×Leu 11⁺ で表わされる細胞亜群では、各群間に有意差を認めなかった。このことより、予後との関係において、Leu 7⁺×Leu 11⁺ で表わされる細胞亜群との関連性は低いと考えられる。

LAK 細胞は IL-2 により誘導されるキラー細胞であり、新鮮な自己腫瘍細胞や NK 細胞抵抗性の腫瘍細胞にも障害作用を示す細胞である^{8~10)}。NK 活性と異なり、LAK 活性は新鮮分離したリンパ球には活性はほと

んどないとされ、今回測定した頭頸部癌患者の末梢血にも LAK 非誘導活性は認めなかった。しかし、末梢血単核球を IL-2 1,000 U/ml で3日間培養した LAK 誘導活性は、経過良好群で未治療群に比較して有意に増加を認めた。このことは、経過良好群では LAK 活性が他群より誘導されやすいことを示唆しており、LAK 誘導活性は頭頸部癌の免疫動態の1つの指標となると考えられる。

LAK 細胞は NK 細胞と T 細胞より、ともに誘導されることが報告され、LAK 細胞の前駆細胞は多様性を持つことが知られている^{20~23)}。リンパ球分画よりフローサイトメトリーでソーティングし得た CD 3⁺ 4⁺ 8⁻, CD 3⁺ 4⁻ 8⁻, CD 3⁺ 4⁺ 8⁺, CD 3⁻ 16⁺, CD 3⁻ NKH-1⁺, CD 3⁻ NKH-1⁻ のすべての分画に LAK 活性の誘導を認め、このうち CD 3⁻ 16⁺ 分画に最も強い LAK 活性を認めたことが報告されている²²⁾。また、T 細胞の内では LAK 細胞に誘導されやすいのは、CD 8⁺ 11⁺ 分画であるとの報告も認められる²³⁾。本研究において、経過良好群で LAK 誘導活性が有意に増加する理由として、LAK 前駆細胞の誘導が考えられる。しかし、CD 16⁺

(Leu 11⁺), Leu 7⁺ 11⁺, Leu 7⁻ 11⁺ および CD 8⁺ 11⁺ (Leu 2⁺ 15⁺) 細胞率は有意に増加を認めなかった。このことより、頭頸部癌末梢血リンパ球においては、LAK 誘導活性とこれらの LAK 前駆細胞の誘導とは、関与しないことが示唆された。

癌患者の免疫動態を知る上で、NK, K, LAK 細胞の他に、キラーT細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) を中心とするT細胞系の免疫動態も重要と考えられる²⁴⁾。そこで、末梢血リンパ球のT細胞亜群の検討を行った。T細胞は CD 4⁺ (Leu 3⁺) 細胞と CD 8⁺ (Leu 2⁺) 細胞に大別でき、CD 4⁺ 細胞は MHC class II 抗原拘束性を持ち、機能的にはヘルパー/インデューサーT細胞を、CD 8⁺ 細胞は class I 抗原拘束性を持ち、機能的にキラー/サプレッサーT細胞を示すと考えられている^{24,25)}。しかし、CD 4⁺ 細胞にもキラーT細胞が、CD 8⁺ 細胞にもヘルパーT細胞が存在することがあきらかとなってきた^{26,27)}。そこで、よりT細胞の機能と直結したT細胞亜群を同定する試みとして、Two-Color解析を用いて細胞亜群を表わす方法が研究されてきた。CD 8⁺ 細胞は CD 11 (Leu 15) 抗体を用いることで CD 8⁺ 11⁺ (Leu 2⁺ 15⁺) 細胞と CD 8⁺ 11⁻ (Leu 2⁺ 15⁻) 細胞に分けられ、前者はサプレッサーT細胞、後者はキラーT細胞の機能に働くと報告されている²⁸⁾。また、CD 4⁺ 細胞は Leu 8 抗体を用いて、インデューサーT細胞を示す CD 4 (Leu 3)⁺ Leu 8⁺ 細胞とヘルパーT細胞を示す CD 4 (Leu 3)⁺ Leu 8⁻ 細胞に分けられる²⁹⁾。そこで、今回頭頸部癌患者で上記の Two color解析を行うと、経過良好群と未治療群を比較した場合、ヘルパーT細胞を示す Leu 3⁺ 8⁻ 細胞率は有意に増加を認め、インデューサーT細胞を示す Leu 3⁺ 8⁺ 細胞率は有意に低下を認めた。また、活性化T細胞を示す Leu 4⁺ HLA-DR⁺ 細胞率が有意に増加を認めた。再発群と未治療群との比較において、サプレッサーT細胞を示す Leu 2⁺ 15⁺ 細胞率が再発群で有意に増加を認めた。このうち、経時的に測定可能であった経過良好群13例、再発群5例においても、同様の傾向を認めた。このことより、経過良好群では、活性化T細胞、ヘルパーT細胞による正の免疫動態が主体となっており、頭頸部癌患者の予後と関連していることが示唆された。

以上のように、われわれは頭頸部癌患者の末梢血リンパ球の NK, LAK 活性をリンパ球亜群の解析とともに、患者の予後との関係より検討し、NK 活性、LAK 誘導活性、T細胞亜群が患者の予後と相関していることを報告した。今後、より長期的な経過観察と検討により、頭頸部癌患者の免疫動態がよりあきらかになると思われる。

結 語

頭頸部癌患者31症例を対象とし、末梢血リンパ球の NK, LAK 活性を、末梢血リンパ球亜群の解析とともに患者の予後との関係より検討し、以下の結果を得た。

1. NK 活性は、未治療群に比較して経過良好群で有意に増加を認めた。

2. LAK 誘導活性は、未治療群に比較して経過良好群で有意に増加を認めた。

3. 末梢血リンパ球亜群の解析で、未治療群に比較して経過良好群の Leu 3⁺, Leu 3⁺ 8⁺ 細胞の割合が有意に低下し、HLA-DR⁺, Leu 4⁺ HLA-DR⁺, Leu 3⁺ 8⁻ 細胞の割合が有意に増加していた。再発群では、Leu 3⁺, Leu 4⁺ 細胞の割合が有意に低下し、HLA-DR⁺, Leu 7⁺, Leu 11⁺, Leu 2⁺ 15⁺ 細胞の割合が有意に増加していた。

以上の所見より、NK 活性、LAK 誘導活性およびT細胞亜群が、患者の予後と関連していることが示唆された。

本論文の要旨は、第35回日本口腔外科学会総会 (1990年、岡山) において発表した。

引 用 文 献

- 1) Haris, J., Sengar, D., et al.: The effect of immunosuppressive chemotherapy on immune function in patient with malignant disease. *Cancer* 37(Supple): 1056-1069 1976.
- 2) Perlmann, P., Troye, M., et al.: Cell mediated immune reaction to human tumor. *Cancer* 40(Supple 1): 448-457 1977.
- 3) Herberman, R.B. and Ortaldo, J.R.: Natural killer cells: Their role in defenses against disease. *Science* 214: 24-30 1981.
- 4) 湊 長博: 細胞因子—NK 細胞. 山村雄一, 杉村隆監修: 癌と免疫. 図説臨床 [癌] シリーズ, 第19巻, メジカルビュー社, 東京, 1987, 38-44頁.
- 5) Catalana, W.J., Ratliff, T.L., et al.: Discordance among cell-mediated cytolytic mechanisms in cancer patient: Importance of the assay system. *J Immunol* 122: 1009-1014 1979.
- 6) 小室勝利: K細胞. 臨床免疫 handbook. 第1版, 日本臨床, 大阪, 1984, 113-121頁.
- 7) Kaji, R., Yoshida, H., et al.: Monoclonal antibody to a human salivary gland adenocarcinoma cell line: Augmentation of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity activity by streptococcal preparation OK-432

- in human salivary gland adenocarcinoma-bearing nude mice given the antibody. *J Biol Response Mod* 8: 488-500 1989.
- 8) Grimm, E.A., Mazumder, A., et al.: Lymphokine-activated killer cell phenomenon: Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 155: 1823-1841 1982.
- 9) 高後 裕, 漆崎一郎: リンフォカイン活性化キラー (LAK) 細胞. 山村雄一, 杉村隆監修: 癌と免疫. 図説臨床 [癌] シリーズ, 第19巻, メジカルビュー社, 東京, 1987, 147-152頁.
- 10) 加地亮詞, 岡本正人, 他: 頭頸部癌患者に対する局所養子免疫療法と放射線療法との併用療法. *日口外誌* 36: 1720-1729 1990.
- 11) Sato, M., Yoshida, H., et al.: Interferon activity and its characterization in the sera of patients with head and neck cancer. *Cancer* 54: 1239-1251 1984.
- 12) Hayashi, Y., Nisida, T., et al.: Peripheral K-lymphocyte Population in head and neck cancer. *Cancer* 53: 2507-2514 1984.
- 13) Hayashi, Y., Yoshida, H., et al.: Phenotypic and function characterization of peripheral natural killer cell population in squamous cell head and neck cancer. *Cancer J* 1: 353-357 1987.
- 14) Schantz, S.P., Shillitoe, E.J., et al.: Natural killer cell activity and head and neck cancer: A clinical assessment. *JNCI* 77: 869-875 1986.
- 15) 林 良夫, 吉田秀夫, 他: 頭頸部癌患者における ADCC 活性の検討. *臨床免疫* 15: 546-554 1983.
- 16) Böyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1g. *Scand J Clin Invest* 21(Suppl 197): 77-89 1968.
- 17) Perussia, B., Starr, S., et al.: Human natural killer cells analysed by B 73.1 a monoclonal antibody blocking Fc receptor function 1. Characterization of lymphocyte subset reactive with B 73.1. *J Immunol* 130: 2133-2141 1983.
- 18) Abo, T. and Balch, C.M.: A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). *J Immunol* 127: 1024-1029 1981.
- 19) Abo, T., Miller, C.A., et al.: Characterization of human granular lymphocyte subpopulation expressing HNK-1 (Leu 7) and Leu 11 antigen in the blood and lymphoid tissue from fetuses, neonates, and adults. *Eur J Immunol* 14: 616-623 1984.
- 20) Phillips, J.H. and Lanier, L.L.: Dissection of the lymphokine-activated killer phenomenon. Relative contribution of peripheral blood natural killer cells and T lymphocytes to cytotoxicity. *J Exp Med* 164: 814-825 1986.
- 21) Sawada, H., Abo, T., et al.: Prerequisite for the induction of lymphokine-activated killer cells from T lymphocytes. *J Immunol* 140: 3668-3673 1988.
- 22) Saito, H., Oshimi, K., et al.: Characterization of interleukin 2-expanded human peripheral blood lymphocytes: not only NKH-1⁺ NK cells but also NKH-1⁺ and NKH-1⁻ T cells are LAK effectors. *Cell Immunol* 117: 257-263 1988.
- 23) Dianzani, U., Zarcone, D., et al.: CD 8⁺ CD 16b⁺ peripheral blood T lymphocytes contain Lymphokine-activated killer cell precursor. *Eur J Immunol* 19: 1037-1044 1989.
- 24) 藤原多大美: 細胞因子-T細胞. 山村雄一, 杉村隆監修: 癌と免疫. 図説臨床 [癌] シリーズ, 第19巻, メジカルビュー社, 東京, 1987, 32-37頁.
- 25) 淀井淳司, 安達光宣, 他: T細胞の Subpopulation, 機能分化, 表面マーカー. 臨床 handbook. 第1版, 日本臨床, 大阪 1984, 83-92頁.
- 26) Meuer, S.C., Schlossman, S.F., et al.: Clonal analysis human cytotoxic T lymphocytes: T4⁺ and T 8⁺ effector cells recognize products of different major histocompatibility complex regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 4395-4399 1982.
- 27) Swain, S.L. and Panfili, R.P.: Helper cells activated by allogenic H-2 K or H-2 D differences have a Ly phenotype distinct from those responsible to I difference. *J Immunol* 122: 383-391 1979.
- 28) Clement, L.T., Grossi, C.E., et al.: Morphologic and phenotypic features of the subpopulation of Leu 2⁺ cells that suppresses B cell differentiation. *J Immunol* 133: 2461-2468 1984.
- 29) Gatenby, P.A., Kansas, G.S., et al.: Dissection of immunoregulatory subpopulation of T lymphocytes within the helper and suppressor sublines in man. *J Immunol* 129: 1997-2000 1982.