前立腺癌患者の α 型インターフェロン産生能に関する研究

京都府立医科大学泌尿器科学教室 (主任: 渡辺 決教授)

中川 修一 中尾 昌宏 大西 克実

斎藤 雅人 大江 宏 渡辺 決

京都府立医科大学微生物学教室 (主任: 今西二郎教授)

喜 多 正 和

京都バスツール研究所 (所長: 岸田綱太郎博士)

岸 田 綱 太 郎

INTERFERON-ALPHA PRODUCING CAPACITIES IN PROSTATIC CANCER PATIENTS

Shuichi Nakagawa, Masahiro Nakao, Katsumi Ohnishi, Masahito Saitoh,
Hiroshi Ohe and Hiroki Watanabe

Department of Urology, Kyoto Prefectural University of Medicine
(Director: Prof. H. Watanabe)

Masakazu Kita

Department of Microbiology, Kyoto Prefectural University of Medicine
(Director: Prof. J. Imanishi)

Tsunataro Kishida

Institute Pasteur de Kyoto
(Chief: T. Kishida, M.D.)

Interferon-alpha (IFN- α) producing capacity was measured in 47 patients with prostatic cancer by whole blood assay. The mean IFN- α producing capacity of prostatic cancer patients was 3657 IU/ml, which indicated a significantly ($p < 0.005$) lower value than that in healthy male aged 50 years or more.

IFN- α producing capacity in patients with Stage D disease was lower than that with Stage A, B or C. The higher the grade of the disease, the lower tended to be the capacity. A certain relationship was suspected between IFN- α producing capacity and the prognosis of each patient. In particular, in patients with prostatic cancer in Stage D, the prognosis was worse in low IFN- α producing capacity group (< 3000 IU/ml) than in normal or high IFN- α producing capacity group (≥ 3000 IU/ml). It was considered that IFN- α producing capacity might be useful in developing the prognosis of patients with prostatic cancer.

Key words: prostatic cancer, interferon-alpha producing capacity

要旨: 全血を用いた IFN 産生能測定法を用いて, 47例の前立腺癌患者の α 型 IFN 産生能を測定した。前立腺癌患者の α 型 IFN 産生能 (平均3,657IU/ml) は, 50歳以上の男子健常者のそれ (平均4,988IU/ml) と比較して有意に ($p < 0.005$) 低下していた。

Stage と IFN 産生能との関係は, Stage D の患者の α 型 IFN 産生能は, Stage A, B および C の患者のそれと比較して低下していた。Grade については, 組織型が未分化になるにつれ α 型 IFN 産生能は低下する傾向がみられた。また一般に, IFN 産生能が低下している症例では予後不良であり, stage, grade をそろえた症例に限っても, 同様の結果が得られた。 α 型 IFN 産生能は, 前立腺癌患者の予後を決定する因子のひとつなのではないかと考えられた。

キーワード: 前立腺癌, α 型 IFN 産生能

結 言

インターフェロン（以下 IFN と略す）はウイルス抑制物質として発見され、その後抗腫瘍効果が明らかにされて以来、癌に対する治療薬として脚光をあびてきた。一方、IFN がマクロファージの活性化、NK 細胞の活性化などを介して生体の防御作用の一翼を担っていることも明らかになり、個体の immunostatus を評価するための parameter のひとつとして IFN 産生能が検討されてきた。今回、前立腺癌と IFN 産生能の関係について、全血成分の試験管内 IFN 誘発法により産生能を測定する方法¹²⁾で α 型 IFN 産生能を測定したところ、興味ある知見を得たので報告する。

対象および方法

1985年9月より1986年12月に京都府立医科大学泌尿器科を受診した前立腺癌患者のうちで、IFN 産生能に影響を与える因子³⁾⁴⁾、すなわち肝機能障害、腎機能障害、糖尿病、重複癌、慢性呼吸器疾患、1ヵ月以内の手術などの既往歴を有する症例を除外した47例を対象とした。年齢は56歳～91歳（平均75.5歳）で、performance status は0～2であった。臨床病期分類では Stage A 1例、Stage B 10例、Stage C 13例、Stage D 23例、組織学的分類では、高分化型腺癌23例、中分化型腺癌14例、低分化型腺癌10例であった。前治療として9例に根治的前立腺全摘除術が施行され、他の38例には内分泌療法や化学療法が施行されていた。

観察期間は28ヵ月～44ヵ月であった。予後については測定時を起点とした Kaplan-Meier 法により算定し、生存率曲線の検定は generalized Wilcoxon test により行った。なお予後の判定は1989年4月現在で行った。

測定には、喜多らが開発した全血を用いた α 型 IFN 産生能測定法¹²⁾を用いた。ヘパリン（5単位/ml）加採血した静脈血を滅菌スピッツに2ml 分注し、 α 型 IFN inducer としてセンダイウイルス（10,000HA/ml）を最終濃度500HA/ml となるよう100 μ l 添加した。ミキサーで混和し、37℃、20時間培養後、3,000rpm、10分間遠沈し、上清を採取、IFN サンプルとした。 α 型 IFN 力価測定には、感受性細胞として FL 細胞、ウイルスとして水泡性口内炎ウイルスを用いた50%cytopathic effect（細胞変性効果）抑制による bioassay を行い、ニュートラルレッド dye-uptake 法により力価を算出した。 α 型 IFN 力価は国際標準 α 型 IFN の MRC 69/19を標準とし、すべて国際単位（IU）で表した。喜多ら⁵⁾によれば、50歳以上の男子健常者191例の α 型

図1 前立腺癌患者および健常者の α 型 IFN 産生能

表1 前立腺癌患者と健常者の α 型 IFN 産生能

	α 型 IFN 力価 (IU/ml)
前 立 腺 癌	3657 $\pm$ 2817 (n = 47)
50歳以上の男子健常者	4988 $\pm$ 1814 (n = 191)

IFN 産生能は1,045～13,376IU/ml（平均4,988IU/ml）であった。

結 果

前立腺癌患者の α 型 IFN 産生能は500～14,361IU/ml（平均3,657IU/ml）と、50歳以上の男子健常者と比較して有意に ($p < 0.005$) 低下していた（表1）。

個々の症例の α 型 IFN 産生能の分布について検討した（図1）。50歳以上の男子健常者191例についてみると図のごとくほぼ正規分布を示していた。一方前立腺癌患者ではピークが1,000～2,000IU/ml に見られ、全体に低下症例が多くみられた。

Stage 別に検討すると（図2）、 α 型 IFN 産生能は Stage D では Stage A、B および C と比べ低下していた。Grade 別に検討すると（図3）、 α 型 IFN 産生能は組織型が未分化になるにつれ低下する傾向がみられたが、いずれも有意差を認めなかった。

喜多ら⁵⁾は健常者の測定結果の分布より、すでに α 型 IFN 産生能については7,000IU/ml 以上を高値群、

図2 Stage別の α 型IFN産生能 図3 Grade別の α 型IFN産生能

3,000~6,999IU/mlを正常値群, 3,000IU/ml未満を低値群と定義してきた。これに基づき前立腺癌患者47例をそれぞれ3群に分け予後について検討した。累積生存率(図4)は, 3年生存率で高値群100%, 正常値群72%, 低値群56%であった。 α 型IFN産生能が低下するにつれ予後不良であった。

次にstage, gradeをそろえた上で, α 型IFN産生能を正常および高値群と低値群の2群に分けて予後と比較した。Stage D低分化型前立腺癌9例では, 3年生存率が正常および高値群67%, 低値群67%と両群に差を認めなかった。Stage D中分化型前立腺癌9例では, 3年生存率が正常および高値群75%, 低値群40%と α 型IFN産生能低下例が予後不良であった。Stage D高分化型前立腺癌5例では, 3年生存率が正常および高値群100%, 低値群0%と α 型IFN産生能低下例が予後不良であったが有意差は認めなかった(図5)。

図4 前立腺癌患者における α 型IFN産生能別累積生存率 図5 Stage D高分化型前立腺癌患者における α 型IFN産生能別累積生存率

なおStage A, BおよびCの症例では観察期間中の死亡例が非常に少なく α 型IFN産生能と予後との関係を論ずるに至らなかった。

考 察

これまで, IFNがある種の癌に対して治療効果を示すこと⁶⁾, 実験的に宿主体内のIFN活性をなくした抗IFN抗体マウスにおいて癌の発育促進や転移促進が認められること⁷⁾, さらにIFN産生能低下者の中から発癌者の多いこと⁸⁾⁹⁾などから, IFNは発癌, 癌の発育, 転移と深く関連した物質であると考えられてきた。

図6 各種癌患者における α 型IFN産生能(喜多による)

各種疾患とIFNシステムとの関係については、B型肝炎などのウイルス性疾患¹⁰⁾、白血病などの悪性腫瘍¹¹⁾、多発性硬化症¹²⁾やSLE¹³⁾などの自己免疫疾患、さらに後天性免疫不全症候群¹⁴⁾などで検討され、IFN産生能の異常が報告されている。しかしこれまでの報告ではいずれも対象患者数が少なく、確定的な結果は得られていない。

そこで私たちは、大量の検体を扱うことが可能である喜多らが開発した全血を用いた α 型IFN産生能測定法¹²⁾を用いて前立腺癌のIFN産生能について検討した。

本法を用いてこれまでに行った健常者の測定結果では、性差、年齢差、季節的変動は認められなかった⁵⁾¹⁵⁾。IFN力価測定法についても、ポリクローナル抗体を用いたradioimmunoassay、enzyme immunoassayで測定した α 型IFN力価は、bioassayで測定した力価と高い相関を示した⁵⁾¹⁵⁾。また、同一症例において従来より行われていた分離した白血球を用いた場合と全血を用いた場合の α 型IFN産生能を比較検討した結果、全血を用いた場合には高いIFN産生能を示し、塩化アンモニウムあるいはフィコールで分離した白血球を用いた場合は全血を用いた場合の約半分のIFN産生能しか示さなかった²⁾。すなわち分離した白血球を用いてIFN産生能を測定する場合は、生体内の各種細胞の構成比率を考慮せず、分離した一部からその個体全体の免疫能を考えているのに対し、全血を用いた場合は生体に近い状態でIFN産生能を測定でき、個体の免疫機能をよりよく反映すると考えられる。このように全血を用いる方法は、簡便かつ迅速な操作が可能である

ばかりか、より正確に個体全体のIFN産生能を反映する点で他の方法より優れていると思われる。

StageとIFN産生能の関係についてみると、Stage Dの症例はStage A、BおよびCの患者に比べて α 型IFN産生能は低下していた。同じくstageとIFN産生能との相関についての報告として、ホジキン病では末梢白血球のin vitroでのIFN産生能と臨床経過とは相関しないが、再発・死亡例やStage IVの症例では低下しており、寛解とともに正常化すると述べている¹⁶⁾。Gradeについては未分化になるにつれて α 型IFN産生能が低下する傾向が見られた。なお私たちは、 γ 型IFN産生能についても同じ症例を対象に測定したが、 α 型IFN産生能のような明らかな傾向はみられなかった。

本測定法を用いてすでに測定されている他臓器癌患者の α 型IFN産生能⁵⁾と、前立腺癌患者のそれとを比較してみた(図6)。胃癌、肝癌、大腸癌、食道癌、白血病患者の α 型IFN産生能は前立腺癌よりはるかに低値を示し、なかでも白血物のそれが特に低かった。前立腺癌は健常者と他臓器癌のほぼ中間値であった。従来の測定法によるIFN産生能の報告では、癌患者では低下しているとするもの¹⁷⁾¹⁸⁾、低下していないとするもの¹⁹⁾²⁰⁾があって一定していない。これらの報告はいずれも分離した白血球を測定に用いたため、結果が一定しなかったのではないかと考えられる。実際、本測定法でこれまで測定した165例については、あらゆる種類の癌で有意に低下していた⁵⁾。

前立腺癌の予後因子として、stage、grade、ホルモン反応性、年齢²¹⁾が考えられておりそれぞれhigh stage、未分化、ホルモン不応性、若年者ほど予後不良である。なかでもStage D前立腺癌においては、大江は去勢術後の前立腺容積の減少の速さを示す係数 τ によりその予後を明確に推測できると述べている²²⁾。そこで今回測定した α 型IFN産生能がそのみで、その時点における患者の予後を予想できるかどうか、また同一患者の α 型IFN産生能の変化から再発・再燃を予知できるかどうかという点に着目した。

健常者の α 型IFN産生能の正規分布より高値群、正常値群、低値群の3群に定義し、前立腺癌患者全体をこれにしたがって3群に分け、測定時点よりの累積生存率を計算したところ、高値群、正常値群、低値群の順で予後不良であった。次にstage、gradeをそろえた症例で α 型IFN産生能をそれぞれ正常および高値群と低値群の2群に分け、予後について検討した。

Stage D 中分化型前立腺癌, Stage D 高分化型前立腺癌においては α 型 IFN 産生能低値群で予後不良であった。以上の結果より α 型 IFN 産生能は前立腺癌患者の予後因子の 1 つになりうるのではないかと考えられた。

喜多らは 3 年間にわたり、健常者 531 名および慢性呼吸器疾患患者 183 名について複数回の IFN 産生能測定および癌の発生について長期観察を行ったところ、観察期間中に 17 例に癌が発生し、このうち 6 例 (35%) が α 型 IFN 産生能 2,000 IU/ml 以下の極低値群、4 例 (24%) が低値群、1 例 (6%) が正常値群、6 例 (35%) が不安定群であった。IFN 産生能が健常者の平均値 (5,107 IU/ml) より高い症例から 1 人の癌の発生も認めなかった⁸⁾⁹⁾。前立腺癌においても、同一患者の α 型 IFN 産生能を複数回測定し、その変化から再発・再燃を予知できるかどうかについては現在検討中である。さらに IFN 低下例に薬剤としての IFN を投与すれば予後の改善が認められるかどうかに発展させていくことが今後の課題と思われる。

結 語

1) 前立腺癌患者 47 例に対して、新たに開発した全血を用いた α 型 IFN 産生能測定法にて IFN 産生能を測定した。

2) 前立腺癌患者の α 型 IFN 産生能は健常者と比較して有意に低下していた。

3) Stage が高く、組織学的に未分化になるにつれ IFN 産生能が低下する傾向がみられた。

4) 予後に関しては、 α 型 IFN 産生能低値群が予後不良であった。Stage, grade をそろえた症例についても同様の傾向が認められた。以上より α 型 IFN 産生能は前立腺癌患者の予後を決定する因子のひとつになりうるのではないかと考えられた。

なお本論文の要旨は第 77 回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Kita, M., Ikegami, H., Koyama, S., Itoh, M., Ishibashi, K., Imanishi, J. and Kishida, T.: Interferon-producing capacity in cancer patients and normal healthy donors. *Antiviral Res. (Abs.)*, 1, 89, 1984.
- 2) 喜多正和, 池上伯郎, 小山駿作, 森安慶子, 岸田綱太郎: 全血を用いた α 型インターフェロン産生能測定法. 神戸常盤短期大学紀要, 7, 75—81, 1985.
- 3) 喜多正和, 山地正博, 檀上稲穂, 金藤英二, 岸田綱太郎: 肝疾患, 糖尿病, 慢性腎不全患者の α 型お

- よび γ 型インターフェロン産生能. 京バス研報, 1, 15—21, 1987.
- 4) Kishida, T., Kita, M., Kaneto, E. and Teramatsu, T.: Interferon-producing capacity in patients with liver diseases, Diabetes, malignant diseases and chronic respiratory disease. *J. Interferon Res.*, 6 (Suppl. 1), 35, 1986.
- 5) 喜多正和, 山地正博, 檀上稲穂, 池上伯郎, 小山駿作, 伊藤正雄, 石橋嘉一郎, 岸田綱太郎: 健常者と癌患者の α 型インターフェロン産生能. 京バス研報, 1, 7—13, 1987.
- 6) 田口鐵男: 各種悪性腫瘍患者に対するインターフェロンの効果について. 癌と化学療法, 11, 194—204, 1984.
- 7) Reid, L.M., Minato, N., Gresser, I., Holland, J., Kadish, A. and Bloom, B.R.: Influence of anti-mouse interferon serum on the growth and metastasis of tumor cells persistently infected with virus and of human prostatic tumors in athymic nude mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 78, 1171—1175, 1981.
- 8) 喜多正和, 山地正博, 岸田綱太郎: インターフェロン産生能と発癌. 第 46 回日本癌学会総会記事, 50, 1987.
- 9) 岸田綱太郎: インターフェロンの歴史と概念. 臨床成人病, 18, 3—7, 1988.
- 10) Ramos, E.F.: Leukocyte interferon production is markedly impaired from HBsAg and HBe positive buffy-coats. *Antiviral Res. (Abs.)*, 1, 93, 1984.
- 11) Abb, J.: Production of interferon alpha and interferon gamma in patients with acute leukemia. *J. Clin. Hematol. Oncol.*, 13, 83—88, 1983.
- 12) Vervliet, G., Carton, H., Meulepas, E. and Billaud, A.: Interferon production by peripheral blood leucocytes of MS patients after stimulation in vitro with various lectins and viruses. *Antiviral Res. (Abs.)*, 1, 95, 1984.
- 13) 皆川知紀: SLE 患者血中に検出されるインターフェロン. 免疫薬理, 1, 33—43, 1983.
- 14) Huygen, K., Mascart-Lemone, F., Cran, S., Van De Perre, P., Henrivaux, P., De Ley, M. and Clumeck, N.: Analysis of the interferon system in African patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 4, 304—309, 1985.
- 15) 喜多正和, 池上伯郎, 小山駿作, 伊藤正雄, 石橋嘉一郎, 岸田綱太郎: 健常人ならびに癌患者における α 型インターフェロン産生能. 神戸常盤短期大学紀要, 7, 83—89, 1985.
- 16) Rassiga-Pidot, A.L. and McIntyre, O.R.: In vitro leukocyte interferon production in

- patients with Hodgkin's disease. *Cancer Res.*, 34, 2995—3002, 1974.
- 17) Lee, S.H.S., Ozere, R.L. and van Rooyen, C.E.: Interferon production by human leucocytes in vitro. Reduced levels in lymphatic leukemia. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 122, 32—39, 1966.
 - 18) 涌井 昭, 三田地泰司, 斎藤達雄, 小松茂夫, 新津泰孝: 進行癌患者末梢血リンパ球のインターフェロン産生能の検討. *癌と化学療法*, 5, 121—127, 1978.
 - 19) 青池 晟: 胃癌患者の血中インターフェロンとその産生細胞に関する研究. *日消誌*, 82, 2723—2732, 1985.
 - 20) 貝瀬瑠璃子, 広田文雄, 坂本和典, 住永雅司, 佐藤重信, 刈部正己, 永井孝三, 麦谷腥夫, 賀古 真, 古江 尚: 癌化学療法ならびに免疫療法下での免疫学的パラメーターに関する研究—第5報 In vitroでのインターフェロン産生能—. *癌と化学療法*, 14, 896—902, 1987.
 - 21) 古武敏彦, 三木恒治, 黒田昌男: 泌尿器・男性性器癌の予後因子. *癌と化学療法*, 15, 2216—2223, 1988.
 - 22) Ohe, H. and Watanabe, H.: Kinetic analysis of prostatic volume in treating prostatic cancer and its predictability for prognosis. *Cancer*, 62, 2325—2329, 1988.

(1989年9月29日受理)