腎細胞癌患者における動脈血および腫瘍側腎静脈血間での リンパ球サブセットの比較

筑波大学臨床医学系泌尿器科 (主任: 小磯謙吉教授)

白岩 浩志¹⁾ 西島由貴子 赤座 英之
内田 克紀 河合 弘二 佐々木 明
服部 一紀 宮永 直人 小磯 謙吉

PHENOTYPIC DIFFERENCE OF LYMPHOCYTES CIRCULATING IN TUMOROUS RENAL ARTERY AND RENAL VEIN IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

Hiroshi Shiraiwa, Yukiko Nishijima, Hideyuki Akaza, Katsunori Uchida, Koji Kawai,
Akira Sasaki, Kazunori Hattori, Naoto Miyanaga and Kenkichi Koiso
Department of Urology, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba
(Chief: Prof. K. Koiso)

Phenotypic difference of lymphocytes circulating in tumorous renal artery and renal vein in patients with renal cell carcinoma was studied.

Fifteen patients with no prior treatment were studied, from whom blood samples were taken at the time of radical nephrectomy. Mononuclear cells separated from tumorous renal arterial and venous blood were analyzed for cell surface markers. CD3, CD4, CD8, CD11b, CD16, CD25, CD57, Leu8 HLA-DR were compared. CD25 positive cells were significantly increased in venous blood than in arterial blood in the kidneys with tumor. No significant difference was found regarding the other surface markers.

Key words: renal cell carcinoma, phenotypic analysis of lymphocyte

要旨: 腎細胞癌患者における腫瘍側腎動脈血および腫瘍側腎静脈血間でのリンパ球サブセットを比較検討した。対象は、15例の腎細胞癌患者で、過去に他の治療歴がなく、初回治療として根治的腎摘出術を行った患者である。根治的腎摘出術時に患者より腫瘍側の腎静脈血および動脈血を採取し、単核球を分離後、flowcytometric analysisをおこなった。Surface markerとして、CD3, CD4, CD8, CD11b, CD16, CD25, CD57, Leu8, および HLA-DR について検討した。15例全体では、CD25陽性細胞が、腫瘍側腎静脈血で動脈血に比べて有意な増加を認めたが、他の表面マーカーには、有意な差を認めなかった。

キーワード: 腎細胞癌, リンパ球サブセット

緒 言

腎癌患者での腫瘍側腎動脈血および腫瘍側腎静脈血中のリンパ球に関する比較では、1982年に Akaza らが腫瘍側腎静脈血で IgG Fc レセプター陽性 T 細胞の増加と、ADCC 活性の増加を報告している¹⁾。測定技術

の進歩により、詳細なリンパ球サブセットの検討が可能となったため、今回、我々は、腎細胞癌患者のホストと腫瘍の関係を探る目的で、腎細胞癌患者における動脈血および腫瘍側腎静脈血間でのリンパ球サブセットを比較検討したので報告する。

対象ならびに方法

対象は、1990年6月から1991年12月に筑波大学附属病院泌尿器科に入院した腎細胞癌患者で、過去に他の

¹⁾現 茨城県立中央病院・茨城県地域がんセンター泌尿器科

治療歴がなく、初回治療として根治的腎摘出術を行った患者で、病理組織学的に腎細胞癌と診断された患者である。症例は、男性7例、女性8例の計15例で、平均年齢は61.5歳であった。Performance Statusは、0または1が14例、3が1例であった。また、手術時に遠隔転移の認められた症例は5例、認められなかった症例は10例であった。

試験の方法は、経腹的な根治的腎摘出術時の腎動静脈を結紮する直前に腫瘍側腎動脈血および腫瘍側腎静脈血を術野より採取し、単核球を分離後、flow-cytometric analysisをおこなった。使用したモノクローナル抗体は、Leu4 (CD3), Leu3a (CD4), Leu2a (CD8), Leu15 (CD11b), Leu11c (CD16), Leu7 (CD57), IL-2R (CD25), Leu-DR (HLA-DR) および Leu8である。

Surface markerとして、CD3, CD4, CD8, CD11b, CD16, CD25, CD57, Leu8, および HLA-DR について検討した。また、two color analysisは、CD4×Leu8, CD4×HLA-DR, CD8×CD11b, CD8×HLA-DR, CD16×CD57, CD3×CD25の組み合わせについて検討した。CD3×CD25については5例で、残りの組み合わせについては15例全例で検討した。これらの測定は、大塚アッセイ研究所に依頼して行った。

結 果

初めに、15例全体での結果を示す。

One color assay では、CD25陽性細胞が、腫瘍側腎静脈血の絶対数で、 327.4 ± 122 であり、腎動脈血で 289.5 ± 121 と腎静脈血が腎動脈血に比べて有意 ($p < 0.05$)な増加を認めた。しかし、CD3, CD4, CD8, CD16,

図2 全症例についての動脈血および腫瘍側腎静脈血間での Two color assay によるリンパ球サブセットの比較
動脈血 (■), 腫瘍側腎静脈血 (■)

図1 全症例についての動脈血および腫瘍側腎静脈血間でのリンパ球サブセットの比較
動脈血 (■), 腫瘍側腎静脈血 (■)

図3 遠隔転移の有無で分けた場合の動脈血および腫瘍側腎静脈血間でのリンパ球サブセットの比較
動脈血 (■), 腫瘍側腎静脈血 (■)

CD57, HLA-DR 陽性細胞は, 動静脈間に有意な差を認めなかった (図 1)。

Two color assay では, CD3と CD25の組み合わせで, CD3陽性かつ CD25陽性の細胞が腫瘍側腎静脈血で動脈血に比べて増加する傾向を認めたが, 統計学的に有意差は認めなかった。また, CD4と Leu8, CD8と CD11b, CD4と HLA-DR, CD8と HLA-DR, CD16と CD57の組み合わせでは, 動静脈間に有意な差は認めなかった (図 2)。

次に症例を遠隔転移の有無で分けたときの, 腫瘍側腎動静脈間のリンパ球サブセットを比較検討した。CD25陽性細胞については, 遠隔転移のある群で腫瘍側腎静脈血中で動脈血中に比べて増加する傾向を認めたが, 測定した症例数が少なく, 統計学的な有意差は認

めなかった。CD3, CD4, CD8, CD16, CD57, HLA-DR では, 遠隔転移の有無で分けて検討しても動静脈間に有意な差を認めなかった (図 3)。また, two color assay でも, いずれの組み合わせでも有意な差は認めなかった。

次に, 同じ症例を用い, 腎細胞癌患者の動脈血リンパ球サブセットの遠隔転移の有無による変化を検討した。遠隔転移のある症例で, CD8, CD16, CD57, HLA-DR 陽性細胞が増加し, CD3, CD4, CD25陽性細胞が減少する傾向を示したが, 統計学的な有意差は認めなかった (図 4)。Two color assay では, CD8陽性かつ HLA-DR 陽性細胞が遠隔転移のある症例で有意 ($p < 0.05$) に増加したが, 他の組み合わせでは有意差は認めなかった (図 5)。

考 察

腎癌患者での腫瘍側腎動脈血および腫瘍側腎静脈血中のリンパ球に関する比較では, 1982年に Akaza らが腫瘍側腎静脈血で IgG Fc レセプター陽性 T 細胞の増加と, ADCC 活性の増加を報告している¹⁾。しかし, 詳細なリンパ球サブセットを腫瘍側腎動静脈血間で比較する研究は, 現在までおこなわれていなかった。

本研究の結果, 腫瘍側腎静脈血では, 腎動脈血に比べて CD25陽性細胞数が約13%増加することが示された。しかし, 他の検討したリンパ球サブセットに有意な変化は認められなかった。

現在, T 細胞レセプターを介した刺激と同等の刺激と考えられている抗 CD3抗体による刺激およびインターロイキン 2 の刺激で CD25陽性細胞が増加することが知られている²⁾。今回の我々の結果は, 末梢血単核球が腫瘍側腎を通過する際に, 腫瘍局所において癌抗原刺激およびインターロイキン 2 による刺激で CD25 陽性細胞が増加したと推測することも可能である。

一方, Akaza らがおこなった, IgG, Fc レセプター陽性 T 細胞は, thymoma, hypogammaglobulinemia, ataxiatelangiectasia などの患者で増加し³⁾, 進行性膀胱癌患者でも増加したとの報告が認められる⁴⁾。

現在, IgG に対する Fc レセプター (FcγR) は, FcγRI (CD64), FcγRII (CDw32), FcγRIII (CD16) の 3 種類が知られている。FcγRI (CD64) は, monomeric IgG に対する高親和性レセプターであり, FcγRII (CDw32) は, 凝集 IgG に対する低親和性レセプターであって, FcγRIII (CD16) は, 免疫複合体などを結合する低親和性レセプターで ADCC の主要な

図 4 腎細胞癌患者動脈血リンパ球サブセットの遠隔転移の有無による変化
遠隔転移有り (■), 遠隔転移無し (□)

図 5 Two Color Assay による腎細胞癌患者動脈血リンパ球サブセットの遠隔転移の有無による変化
遠隔転移有り (■), 遠隔転移無し (□)

レセプターである⁵⁾。

最近, T細胞レセプターを介した刺激と同等の刺激と考えられている抗CD3抗体刺激とヒトIgG1, ヒトIgG3, ヒトIgG4の刺激で, FcγRI依存性の細胞増殖が確認されている⁶⁾。

Akazaらの報告は, 末梢血単核球が腫瘍側腎を通過する際に, 腫瘍局所において癌抗原刺激および免疫グロブリンによる刺激によって, これらFcγR陽性細胞が増加したと推測することができる。

以上より, 今回の検討は, 腎細胞癌患者の腫瘍局所で生体の細胞性免疫反応が惹起されていることを示す一つの所見であるとも考えられる。

しかし, CD25陽性細胞数の増加は, 約13%と僅かな増加であり, 腎血流量が豊富であることを考え合わせても, 短絡的に腫瘍局所での細胞性免疫反応がCD25陽性細胞数の増加の原因であると結論づけるのは早計であろう。

症例を遠隔転移の有無で分けた場合, いずれも動脈血と腫瘍側腎静脈血間のリンパ球サブセットに有意な差は認めなかった。このことについては, 測定した症例数が少なく, さらに検討を続ける必要があると考えられた。

腎細胞癌患者のリンパ球サブセットの変化については, 1984年にイギリスのRitchieらが, 32例の腎癌患者の末梢血リンパ球を分析し, 進行腎癌患者では, CD4陽性細胞数の減少と, CD4/CD8比の減少が生ずることを報告している⁷⁾。今回の我々の結果も, 有意差は認めなかったものの, この報告と同様の傾向を示し, さらにCD8陽性かつHLA-DR陽性細胞の有意な増加を認めた。今後, 症例を重ねさらに検討を加える必要があると考えられる。

本文の要旨は, 1992年4月, 第80回日本泌尿器科学会総会

(東京)にて白岩が発表した。

文 献

- 1) Akaza, H., Kobayashi, K., Umeda, T. and Nijima, T.: Increase of T lymphocytes bearing immunoglobulin G receptors during circulation in human renal cell carcinoma. *J. Urol.*, 128, 461—463, 1982.
- 2) 白岩浩志, 関根暉彬, 田中良典, 鷲巢賢一, 小磯謙吉, 垣添忠生: 固層化CD3抗体およびインターロイキン2によるリンパ球活性化の基礎的検討. *Biotherapy*, 4, 427—433, 1990.
- 3) Gupta, S. and Good, R.A.: Subpopulations on human T lymphocytes. V. T lymphocytes with receptors for immunoglobulin M or G in patients with primary immunodeficiency disorders. *Clin. Immunol. Immunophthol.*, 11, 292—302, 1978.
- 4) 藤原文文: 膀胱癌患者におけるIgG-Fcレセプター陽性T細胞の動向. *日泌尿会誌*, 80, 1154—1161, 1989.
- 5) 新保敏和, 石黒 精: CD分類ハンドブック. CD分類の項目別解説, 第1版, p. 12—96, 癌と化学療法社, 東京, 1992.
- 6) Parren, P.W.H.I., Warmerdam, P.A.M., Boeijs, L.C.M., Capel, P.J.A., van de Winkel, J.G.J. and Aarden, L.A.: Characterization of IgG FcR-mediated proliferation of human T cells induced by mouse and human anti-CD3 monoclonal antibodies. Identification of a functional polymorphism to human IgG2 and anti-CD3. *J. Immunol.*, 148, 695—701, 1992.
- 7) Ritchie, A.W.S., James, K., Micklem, H.S. and Chisholm, G.D.: Lymphocyte subsets in renal carcinoma—A sequential study using monoclonal antibodies. *Br. J. Urol.*, 56, 140—148, 1984.

(1993年2月9日受理)