シンポジウム 癌と免疫

（2） 癌患者における免疫抑制因子

札幌医科大学癌研内科

漆崎 一朗

SYMPOSIUM ON CANCER AND IMMUNITY

（2） IMMUNOSUPPRESSIVE FACTORS IN CANCER-PATIENTS

Ichiro URUSHIZAKI, MD

Department of Medicine, Cancer Research Institute, Sapporo Medical College

はじめに

最近免疫学的検査法の進歩に伴い、癌患者における細胞性免疫能の障害が、特徴的かつ共通現象として報ぜられるにいたつた。この様な細胞性免疫能の障害は化学療法や放射線療法による治療の結果ではなく、癌の存在に起因することは確かである。しからば如何なる機序が癌患者の免疫能の障害に働いているのであろうか。癌患者の細胞性免疫をめぐる免疫抑制因子の研究は癌患者の予後、免疫療法のみならず発癌機構にも関与する重要な問題であるといえる。

癌患者の免疫能

腫瘍免疫においては体液性免疫よりも細胞性免疫が主役を演じている。したがって癌患者の免疫応答性についても細胞性免疫が主として検索される。癌患者の免疫能は本来疾患者の癌細胞を用いた特異的方法によるべきであるが、ヒト癌を対象とする限り方法には限界があり、多くは非特異的な方法によらざるをえない。

1. 細胞性免疫能

A. 特異的方法

1) リンパ球、腫瘍細胞の混合培養mixed lymphocyte tumor cell culture (MLTC)

癌患者リンパ球を自家癌細胞と混合培養し、リンパ球の幼若化が生ずれば、癌患者は癌細胞に反

応していることを示している。MMC処理した癌細胞、3M KCl抽出抗原が用いられる。一般に非特異的mitogenを用いる場合より反応性は弱く、胃癌患者では約1/3の症例に陽性を示し、進行癌ほど反応性が悪く、生存日数と相関し陰性例の予後は悪い。

2) マクロファージ遊走阻止macrophage migration inhibitory factor (MIF) と白血球遊走阻止 leukocyte migration inhibitory factor (LIF)

感作リンパ球は対応する抗原とともに培養するとlymphokineを遊出する。この生物学的特性を有する可溶性因子にMIFとLIFがある。各種癌で40～60%の陽性率を示すが、末期癌では低下する。陰性のものは予後が悪い。

3) リンパ球の細胞障害性

Takasugi & Kleinのmicrocytotoxicity assayがこれであり、感作リンパ球を標的癌細胞とともにin vitroに混合培養し標的細胞の破壊を定量的に測定する方法である。本法は本来は特異的な現象であるが、ヒト癌の場合にはその個体の癌細胞を用いることが困難であり、継代培養された細胞が用いられる。従つて組織適合抗原の関与がさげられない。癌患者の一般的な細胞性免疫能を知る尺度とされている。

B. 非特異的方法

1) 各種抗原による皮膚反応

遅延型皮膚反応に常用される抗原のうち、recall antigenでは未感染かanergyかを区別出来ないが、人工抗原DNCBは健康者に100%に陽性に出るので都合がよい。いずれも癌の進行に伴い減弱し、癌の進行度、予後の示標となる。

2) 各種mitogenに対するリンパ球のin vitroの反応

PHAがT-cell機能を反映するものとして用いられ、癌の進行度、予後とよく平行する。

2. 体液性免疫能

特殊な腫瘍を除いては一般に癌患者では著明な障害が認められない。

以上から癌患者には弱いながらも細胞性免疫が成立していると同時に、進行癌になるほど細胞性免疫能は障害され、この障害は腫瘍の型、局在とは無関係な共通現象であるといえる。次に上記の方法で測定された癌患者の細胞性免疫能は、癌の進行度および予後と平行するが、個々の症例をみると必ずしも一様ではない。抗癌薬は免疫抑制作用を有し、寛解を維持している症例でも免疫能は陰性のことがある。また免疫能が陽性であつても癌は着実に増殖してゆくことである。臨床像と免疫能とは必ずしも一致しない。これらのことは現在の免疫能の測定のみでは不十分であり、in vivoに疾患者の免疫能がどの様に調節されているか、免疫抑制機構の解明が重要である⁷⁾。

癌患者の免疫抑制機構

1. 腫瘍の免疫回避escape mechanism of tumor

腫瘍細胞が宿主の免疫学的制御から逃れる道は図1に示すようにいくつか知られている。腫瘍細胞の側から考察すれば免疫学的選択immunoselection、くぐり抜け現象sneaking through、腫瘍細胞と免疫応答細胞との増殖の差、さらに腫瘍抗原の表現型の修飾、modulationやdepletionが腫瘍の免疫回避を説明するのに用いられている²⁾。しかしこれらの問題はヒト癌については殆どよくわかっていない。他方、宿主の免疫応答性の障害を重視

Fig 1. Escape mechanism of tumor.

することが出来る。腫瘍が免疫監視機構から逃れるのは宿主側に何らかの免疫障害、不全の存在する結果であるとするのである。生体の免疫反応は複雑な過程をもつ現象であるが、やはりhomeostatic controlを受けているということが出来る。生体の免疫抑制機構については細胞levelでの抑制、suppressor cellによるものと、体液性因子によるT-cell依存の免疫反応の抑制とが知られている。癌患者についても体液性ならびに細胞性の免疫抑制immunosuppressionについて考察してみた。

2. 体液性因子による免疫抑制

A. 特異的血清因子

1) 免疫学的促進immunological enhancement

古くHaalandは、腫瘍細胞抽出物を腫瘍移植30日前にマウスに注入すると、腫瘍増殖が対照よりも促進することを示した。この結果は多くの研究者により再確認されるとともに、Kaliss³⁾は腫瘍抽出物処置を行なつた動物の血清をほかの動物の個体に移入することにより腫瘍感受性を特異的に受動移入することに成功し、この現象を免疫学的促進と名づけたのである。この結果は宿主中での腫瘍と特異抗血清との接触の結果であり、血清中の特異抗体によるものと考えられたのである。

2) Specific blockingとspecific inhibition.

Hellströmら⁴⁾は標的細胞を癌血清で前処置すると、リンパ球の細胞障害効果が消失することを示した。これはKalissの研究をin vitroにすめたもので、体液性の免疫応答による宿主防御の概念に大きな影響を与えたのである。当初はその特異性

からblocking抗体と考えられたが、本体は抗原・抗体・複合体であろうとされblocking factorと呼ばれている。さらにCurrie & Basham⁹⁾は進行癌のリンパ球で細胞障害性を検出するためにはリンパ球の洗浄が必要であり、洗浄リンパ球に自己血清を加えると細胞障害性が消失するのをみた。この血清の作用はリンパ球の表面に対し特異的親和性がありinhibitionと呼ばれた。その本態はcirculating soluble antigenとされたのである。したがって癌血清中には特異的抑制因子として、target-blocking factorとeffector-inhibitory factorの2種類があるものとされている。ヒト癌におけるこれらの研究は再現性の困難性から必ずしも多くなく、いずれの癌血清にも認められるものではない。神経芽細胞腫、Wilms腫瘍、骨肉腫、メラノームの血清に報ぜられているが、われわれはMLTCを用いて胃癌血清につき試みたが、必ずしも明確な結論をえられなかつた。

3) 癌関連抗原

Currie & Bashamらにより特異的inhibitionが癌血清で報ぜられ、可溶性抗原の働きが注目されるに伴い、多くの腫瘍が共通抗原としてtumor-associated antigenを有することがわかり、胎児組織からえた抗原と共通性を示すことから癌胎児蛋白とよばれた。 α -fetoprotein, CEAおよびisoferritinがこれらである。これらの癌胎児蛋白はいずれも微量でリンパ球のPHA反応、MLC反応さらにin vitroのヒツジ赤血球に対するPFC試験を抑制し、target cellはT-cellであつた。このことは癌血清の免疫抑制因子は多種であり、必ずしも特異的現象ということは出来ない。

B. 非特異的血清因子

最近生体内の免疫応答、主として細胞性免疫が血清中に存在する因子により非特異的に抑制されていることが明らかになつてきた。詳細は著者の論文によりたい⁶⁾⁷⁾。

1) 正常人血清中のimmunoregulatory α -globulin (IRA)

ヒト血清中の α -globulin分画は1~2mg/mlの濃

度で正常人リンパ球のPHA反応を抑制し、約4倍量で抗原によるblastogenesis, MLR, MIF産生を抑制する。in vivoの実験から α -globulinには毒性がなく細胞の増殖に影響せず、免疫反応の初期のinductive stageに抑制作用を示し、進行中の抗体産生反応は抑制しないのである。主たる作用はT-cellにあるといわれている。この様な α -globulin分画が正常人血清中に存在し、免疫反応に調節効果をもつものと考えられimmunoregulatory α -globulin (IRA) と呼ばれるにいたつた⁸⁾。さらにOcchinoら⁹⁾は正常人血清の α_2 -globulin分画から強ion, 低pHでpeptide分画を抽出し、このpeptideが種々の免疫抑制作用のあることを報じている。われわれは正常人血清の β -globulin分画にも弱いながら同様の免疫抑制作用を認めた。一般に正常人血清そのものを用いても免疫抑制作用が認められないが、高濃度の正常人血清、 α -および β -globulinの増加する疾患で血清の抑制作用が出現する。

2) 癌血清の特徴的免疫抑制因子

1966年Trubowitzによりはじめて癌血清の免疫抑制作用が示唆されて以来、Glasgowら¹⁰⁾、漆崎ら¹¹⁾¹²⁾によりヒト癌血清における非特異的免疫抑制作用の研究が進められた。まず癌患者では血清中の α -globulinの増加が報ぜられているので、正常人血清中のIRAが癌患者で増加し、免疫抑制に働くことが考えられる。DEAE column chromatographyにより癌血清と正常人血清を分画し、9分画にわけその抑制作用の局在を検討するに、正常人血清では α -および β -globulin分画に抑制作用を認めるが、癌血清ではこれらの分画に加えてFr. 5および6のalbuminの多い分画に抑制作用を認めた点が注目された。この癌血清に特徴的分画を分析し、albuminではなく、 α_2 M分画に抑制作用の存在することを認めた。正常人血清の α_2 M分画には抑制作用がなく、これら α_2 M分画を等電点分画により検討したところ、抑制作用を示す癌血清の α_2 M分画は明らかに酸性域の等電点を有し、正常人のそれと異なつていた。さらにこの酸性 α_2 M

Fig 2. Distribution of immunosuppressive factors on fractionation of cancerous serum by DEAE column chromatography.

分画からpH 4.3 buffer systemのpolyacrylamide gel電気泳動により分子量1万以下のpeptideをえたが、これは10~20 μ g/mlで50%抑制を示した。腫瘍細胞の産生が示唆されている。

3) 癌血清中のその他の非特異的免疫抑制因子

癌血清中にはさらに次のような非特異的免疫抑制因子が関与する。CRP: これは感染、外傷、血栓、悪性腫瘍などの血中に増量する。CRPは選択的にヒトリンパ球に結合しE-rosette形成を障害する。さらにMLRをも抑制する。FDP: 線溶能の亢進によるfibrinogen, fibrinの分解産物が細胞性ならびに体液性免疫を抑制することがわかった。prostaglandine: 免疫抑制作用を示すが、腫瘍中にprostaglandine産生腫瘍がある。

直ちに免疫抑制因子ととりあげられないが、macrophageの貪食能の低下には血清中のhumoral recognition factorの欠損や, phagocytosis depressing factorの存在が報ぜられている。

以上から癌血清の免疫抑制作用は図2に示すような多種多様の因子による総合作用によるものと考えられる。問題は正常人血清のIRAが癌で増量して免疫抑制作用の主体となるのか、癌に特徴的低分子のpeptideが主役を演ずるかである。腫瘍細胞由来の物質が免疫抑制作用をもつことは、toxohormone, Ehrlich腹水癌細胞の核chromatin分画により証明されている。この低分子物質も腫瘍細胞由来と考えられる。次にこれら癌血清中の多くの免疫抑制因子は、その抑制機序が必ずしも同一とは考えられぬことである。あるものはリンパ球の膜面をcoatと、他のものは膜面receptorに、また酵素学的変化をもたらし、さらに次にのべる suppressor cellのinductionに働く可能性である。

3. Suppressor T-cellによる免疫抑制

最近免疫応答がT-cell, B-cellおよびmacrophageなどの細胞の相互作用により、秩序のとれた生体反応として保持されていることが明らかになってきた¹³⁾。B-cellの抗体合成細胞への分化を助けるT-cellのsubsetとしてhelper T-cellの発見にはじまり、抗体合成を抑制する suppressor T-cellが明らかとなり、機能の異なつたT-cellのsubset間の相互作用がimmunoregulationに重要な役割を演じている。さらにこれら suppressor T-cellには生じた免疫応答を特異的に抑制するT-cell, 非特異的免疫反応を抑制するT-cell, 免疫学的寛容の維持、さらには特定の抗原に対して遺伝的に決定された不応答性にも関与するT-cellの存在が報告されている。腫瘍免疫においても suppressor T-cell が細胞障害効果を抑制し、腫瘍の発育を促進する可能性が注目されるのである。しかし得られた結果は、ほとんど動物実験の成績に基づくものである。しかし注目されることは suppressor T-cell は特異的抗原や非特異的mitogenによりinduceされると、リンパ球のsubpopulationのinteractionをmediateするsoluble mediatorを遊出し、これが抑制効果を示す点である。

さてヒトについては最近 suppressor T-cellが胸腺、骨髄、脾そして末梢血中に存在することがわ

Fig 3. Immunosuppression in cancer-patients.

かつてきた。ある種の無および低 γ -globulin血症の成因がsuppressor T-cellの増大によるhelper T-cellへの抑制, B-cellへの抑制の結果と考えられてきている。とくに免疫不全状態については, suppressor T-cellや免疫抑制的なmacrophageの関与を考慮しておかねばならなくなっている。癌患者では体液性免疫に比し細胞性免疫が障害されることを述べた。この現象はT-cellの機能障害, 特にhelper T-cellの活性障害で説明するよりは, suppressor T-cellの抑制作用によると考える方が説明しやすい。

T-cellにはsubsetが存在することが予想されているが, 現在これを明確に同定し, 単離する方法は確立されていない。ただCooperら¹⁴⁾はIgG分子のFc部に対するreceptorをもつT-cell IgFcR(+) T-cellは, suppressor cellに相当するものではないかとしている。矢田¹⁵⁾やわれわれはFcR(+) T-cellが癌患者で増加し, 癌の摘出により減少し正常値に近づくのをみている。さらにわれわれは α -fetoprotein陽性患者でFcR(+) T-cellは増加しており, さらに正常人リンパ球に α -fetoproteinを添加し, PHA添加群, 非添加群につき72時間培養し, PHA添加群でFcR(+) T-cellが

対照に比し2倍の増加をみている。 α -fetoprotein添加により正常人リンパ球にsuppressor cellがinduceされるのを明らかにした。これらの結果は癌胎児蛋白の免疫抑制機構の一つがsuppressor T-cellのinductionを示すものである。

Shauら¹⁶⁾, Saharaら¹⁷⁾はCon Aで誘導されるヒトのsuppressor T-cellにつき報じている。われわれはone way, two wayに加えてthree wayによりMLCでの癌患者リンパ球の抑制効果を明らかにした。これは組織適合性, 癌リンパ球自体の反応性の低下を考慮した上でも抑制効果が明らかである。さらにこの抑制効果はSephadex G10 columnを通すことにより減じ, adherent cellを再添加することで回復することをみている。また癌患者リンパ球をCon Aにより刺激し, その細胞をMMC処理後, MLRに加えるか, またはCon Aによる再刺激に対する反応により調べ, adherent cellのみならずT-cellにも抑制作用が誘導されるのをみている。

むすび

細胞性免疫を主体とした癌患者の免疫能の障害については, 広く免疫調節機構に関する知見が重要なとぐちとなる。体液性免疫抑制については

腫瘍抗原, 腫瘍関連抗原, 抗原抗体複合体に加えて非特異的な癌血清中の免疫抑制因子が注目される。また細胞性の免疫抑制については suppressor cell としての T-cell, macrophage の役割が重視される。これら多くの mechanism が個別にかつ結びついて, 腫瘍細胞に対する免疫防御機構を障害しているものといえよう。これらの問題の解明は, 癌患者の予後, 癌の免疫療法に重要な知見を与えるものである。

文 献

- 1) Harris J E and Sinkovisc J B: The immunology of malignant disease. The C V mosby Co, Saint Louis, 1976.
- 2) 小林 博, 橘 武彦 編: 腫瘍免疫学. 朝倉書店, 1974.
- 3) Kaliss N: Cancer Res 18: 992, 1958.
- 4) Hellström I and Hellström K E: Inter J Cancer 4: 587, 1969.
- 5) Currie G A and Basham C: Brit J cancer 26: 427, 1972.
- 6) 漆崎一朗: 最新医学 29: 1775, 1974.
- 7) 漆崎一朗: Minophagen Medical Rev 22: 260, 1977.
- 8) Cooperband S R, et al: J Immunol 109: 154, 1972.
- 9) Occhino J C, et al: J Immunol 110: 685, 1973.
- 10) Glasgow A H, et al: New Engl J Med 291: 1263, 1974.
- 11) 梨崎一朗, ら: 日消誌 74: 910, 1977.
- 12) Urushizaki I, et al: Gann 68: 413, 1977.
- 13) 多田富雄: 代謝 12 臨時: 553, 1975.
- 14) Cooper M D, et al: Immunodeficiency. Its nature and etiological significance in human diseases. Tokyo University Press, 1977.
- 15) 矢田純一, ら: 臨床科学 13: 647, 1977.
- 16) Shou L S A, et al: J exp Med 143: 1100, 1976.
- 17) Sahara T and Green L: J Immunol 119: 1169, 1977.