整形外科領域の腫瘍性疾患と免疫学的アプローチ

熊本大学医学部整形外科

本 村 喜代二・北 川 敏 夫

Correlations between T cell subpopulation and patients with osteogenic or soft-tissue tumors

by

K. Motomura and T. Kitagawa

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine, Kumamoto University, Kumamoto (Director: Toshio Kitagawa)

Recently, Immuno-therapy plays an important part of therapy for malignant tumors.

This time we examined T-cell subpopulation of tumor bearing patients.

Healthy men and benign tumor patients have similar range distribution as controls.

Malignant tumor-patients have lower range than the former.

Especially, a case of Osteosarcoma, 15 years old-girl, showed good correlation between her clinical stage and T-cell subpopulation.

The value of preamputation is 45%, and post-amputation 38%, and 2 months after amputation improved up to 55%.

But appearing metastasis to the lung, it showed decreasing to 28%.

Considering of this case, T-cell subpopulation reflected her clinical stage and the activity of host-immunity.

本年4月より当科における腫瘍性疾患患者に対してその免疫パラメータとしてPHAによるBlast formationおよびRosette formationによるT-cell subpopulationを実施し、T-cell subpopulationに関して一連の傾向が得られたので報告する。

方 法

原法についてはBrain²⁾, Waltraut²⁷⁾, 橘²³⁾²⁴⁾, 矢田³¹⁾, らの詳しい文献があるのでここでは簡単に記す。リンパ球分離に関しては3%ゼラチン法⁴⁾⁶⁾, ナイロカラム法⁵⁾, デキストラン法¹²⁾, 重力沈降法⁷⁾等があるが、われわれは9%フィコールと33.9%ヨード剤24:10に混合したもの(Lymphoprep)を使用した。ヘパリン加注射器にて3mlの末梢血を採血し、Lymphoprepに重層後、直ちに2000rpm 10分間遠沈する。分離されたリンパ球はHank's balanced salt solution (H.B.S.S.)で3回洗い、最終的には同液で 10^6 /mlに調整する。この時Gimsa染

色にてリンパ球の含有率を求めるが通常は90%以上である。一方羊赤血球(S-RBC)もH.B.S.S.で3回洗い、Fetal Calf Serumにて 10^8 /mlに調整し、双方の0.5mlづつを混合し1時間室温に放置後、24時間4°Cで反応させ判定する。判定はBrain²⁾らの基準に従い5以上S-RBCを付着せるものを陽性とした。

全行程とも無菌操作でなければならない。

結 果

コントロールとして健康成人15名を選び計測した(表2)。計測は2週間おきに3回行いその平均値を求めた。20代における平均値間の平均値M+S.Dは $61.81 \pm 4.35\%$ で、60代のそれは $56.26 \pm 3.84\%$ と、加齢に伴う低下が認められる事は諸家の報告⁹⁾と一致する。一方表2の良性腫瘍疾患群の平均値のM+S.Dは $61.63 \pm 4.89\%$ で、健康人のそれとほぼ差は認められない。悪性腫瘍群(表3)では、個々の分布は

表1 健康成人15名の T cell population と年齢の変化(%) 2週間隔で計測
(小数点以下四捨五入)

	年齢	性	1回目	2回目	3回目	平均
1	22	♂	64	68	67	66.3
2	23	♀	59	57	61	59.0
3	22	♀	70	64	64	66
4	24	♀	59	64	62	61.7
5	23	♀	53	56	58	55.7
6	27	♂	62	68	64	64.7
7	26	♂	69	69	65	67.7
8	26	♂	61	63	58	60.7
9	24	♀	58	52	56	55.3
10	27	♀	64	59	60	61
11	66	♂	65	60	62	62.3
12	68	♂	58	53	56	55.7
13	58	♀	56	60	56	57.3
14	71	♀	55	52	52	53
15	60	♀	53	55	51	53

表2 当科入院良性腫瘍の T cell population (%)

診 断	1回目	2回目	3回目	平均
1 Bone cyst	64	62	64	63.3
2 Bone cyst	53	52	58	54.3
3 Fibrous dysplasia	59	60	58	59
4 Bone cyst	66	69	69	68
5 Fibrous dysplasia	71	74	68	71
6 Ossifying fibroma(?)	58	64	60	60.7
7 Chordoma	56	56	54	55.3
8 Benign chondroblastoma	62	64	60	62
9 Giant cell tumor	66	60	59	61.7
10 Fibrous dysplasia	64	59	57	60
11 Bone cyst	65	60	63	62.7

37.7%から57.3%で分布が大きいがその M+S.D は $49.35 \pm 5.91\%$ で有意に低下の傾向を示す。悪性腫瘍の個々の症例に関しては、判断する前に、悪性度の Grade, clinical stage, 治療の内容、即ち手術や放射線療法の有無やその時期、使用制癌剤や免疫強化剤の有無等を総合的にふまえて解釈しなければならない。そうする事でその時点のパラメーターが回復期にあるのか悪化期にあるのかを判断し、それをもとに治療方針の検討をたてる事に真の意義があるのであり単に数的解釈にとどまるものではない(表4は以上をまとめたものである)。

この例として表3 case 5 の Osteosarcoma の一例を検討してみたい。

患者は15才で昭和53年2月初旬に左膝部痛を主訴として某医を受診、Biopsy およびレ線(図2)により Osteosarcoma と診断され、3月22日当科

表3 悪性腫瘍疾患の T cell population (%)

	1回目	2回目	3回目	平均
1 Reticulum Cell Sarcoma	41	43	51	45
2 Lipomyxo-Sarcoma	39	38	36	37.7
3 Rhabdo myo-Sarcoma	54	58	60	57.3
4 Parosteal Chondrosarcoma	53	56	49	52.7
5 Osteosarcoma (死亡)	45	38	60	47.7
6 Osteosarcoma (外来)	60	58	54	51.3
7 Multiple Myeloma	52	48	×	50
8 Multiple Myeloma	58	56	×	57
9 Multiple Myeloma	49	46	×	47.5
10 Multiple Myeloma	52	46	×	49
11 Metastasis from Hepatoma	55	×	×	55
12 Metastasis from Hepatoma	38	46	×	42

表4 整形外科腫瘍性疾患の T cell population

図1 Rosette formation (10×20)

に入院した。3月29日に左大腿切断術を受け、その後は装具等による歩行訓練、登校訓練の後6月7日退院した。外来治療を続けるも肺転移症状出現のため(図3)、7月12日再入院し8月6日に死亡した。この間の白血球数、リンパ球数、T-cell subpopulation と治療経過をまとめたのが図4であるが、白血球数は切断前後に著しい変動を示しているにも拘らずリンパ球数は常に $1300/\text{mm}^3$ 位を維持しており、T-cell subpopulation も術後3週間位から上昇し、退院前には60%位にまで回復している。即ち切断による原発巣除去とクレスチンの投与は患者の免疫能の

改善に有効に作用した事をうかがわせる。しかし肺転移出現後は、T-cell subpopulation は低下の一途で、死亡直前には28%にまで低下している。この間に投与されたピシパニールや S.S.M はもはや患者の免疫能の改善に有効に作用しえなかった事をうかがわせる。このように患者の clinical stage と免疫パラメーターが常に一致するわけではないが、より多くのパラメーターを採用する事によってより正確で鋭敏な免疫動態を把握する事ができるものと考ええる。

考 察

悪性腫瘍の治療法としては外科的手術、制癌剤投与等の化学療法、および放射線療法が主体を占め、免疫療法は未だ一歩譲るところである。しかし生体が本来有している抗腫瘍能力を十分に発揮せうする方法があれば、前者3つの治療法による効果をかなり高める事ができる事は実験的にも多くの報告¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾をみる。これら腫瘍免疫の主体をなすのがリンパ球、正確には Killer cell や Helper cell, Amplifier cell 等の Thymus derived lymphocytes (T-cell)³⁾⁹⁾²³⁾である事が確認されてから T-cell の臨床的応用の重要性が論ぜられるようになった。今回われわれが行った T-cell subpopulation は、これら腫瘍免疫の一角を臨床経過や治療効果の判定に結びつけて追及する目的で行ったもので、単なる数的変化の推移をみるためではない。T-cell subpopulation が、悪性腫瘍の stage の進行に伴って低下する事が報告²²⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾され、近年は血液系悪性疾患を T, B cell 由来により分類する事も可能になった。例えば A.L.L. は T cell 由来, C.L.L. は B cell 由来というように²²⁾。このような免疫学的事実からわれわれは T cell の変動が最も宿主の免疫能を反映するパラメーターの1つである事²⁸⁾から Rosette formation による T-cell subpopulation の変動を追及した。末梢血における T-cell subpopulation の%は、文献上、矢田³⁰⁾(1970), Waltraut²⁷⁾(1971)らが20~40%, Stjernsward²¹⁾(1972)が60%, 小谷¹⁰⁾(1972), Jondal⁸⁾(1972)らが50~80%, 矢田³²⁾(1974)が60%と近年は60%付近に落ち着いておりこれは文献等の普及で方法・使用製品が規格化されたためと考えられ、われわれの実験でもだいたい60%前後になった。現在使用されている制癌剤のほとんどが宿主の免疫能まで抑制する事はよく知られているが、少くともこれらを使

表5 入院経過とパラメーターの動向

う以上は、その抗腫瘍効果と同時に、免疫能の改善にも目を向けなければならない事は明らかである。今回、使用されているクレスチンも、最近開発された免疫強化剤の1つであるが古くは BCG¹³⁾¹⁹⁾²⁶⁾, PHA¹¹⁾¹²⁾²⁰⁾²⁵⁾も免疫能の活性化に有効である事が知られており、これらが delayed hypersensitivity に関係する事から皮内反応に應用して、細胞性免疫能を見る方法もある。骨肉腫に対しては感受性が低いという事で一時行われなかった放射線療法も近年の線種の改善や短期大量照射および開創照射等により再び行われつつあるが、この放射線療法が宿主の免疫能を抑制する事はよく知られており、やはりこれらによる治療の際には何らかのパラメーターで宿主の免疫能を把握しなければならない。

Rosette formation による T-cell subpopulation とは別に、P.H.A. が T cell のみを blast 化させる事¹¹⁾¹²⁾²⁰⁾²⁵⁾から、これを利用してリンパ球の blast 化率を求める方法があるが、われわれも本法による追及を試みたが、諸家が指摘する通り blast 化したリンパ球同志の凝集、変性が強く、正確な%として捕捉できないので、現在はリンパ球の培養液に 3H-Thymidine¹¹⁾¹⁴⁾¹⁸⁾²⁹⁾を加えてその取り込み量(C.P.M.)から blast 化する能力活性を求める方法によって症例を検討中であるので次回詳しく報告する予定である。

以上腫瘍免疫に占める T cell の重要性にかんがみ、今回われわれは主として T-cell subpopulation について検討を加えたが、今後更に制癌剤各種の免疫能に及ぼす影響や、免疫強化剤の有用性を種々のパラ

メーターにより追及し、より正確な臨床応用に役立てる予定である。

結 語

1. 健康成人 15 名, 良性腫瘍 11 名, 悪性腫瘍 12 名について T-cell subpopulation を実施した。

2. 悪性腫瘍群では有意に T-cell subpopulation の低下が認められた。

3. データの判断は年令, 使用薬剤, 併用療法の有無, clinical stage, 悪性度の grade, 年令等を考慮したうえで判断しなければならない。

4. 現行の制癌剤は宿主免疫能の抑制があるので可能な限りその抑制を軽減するために, 免疫療法等で宿主の免疫能を強化し, それを客観的に見るために T cell subpopulation 等のパラメーターの導入が有効である。

参 考 文 献

- 1) Bender, M. A.: Exp. Cell. Res, 27: 221-229, 1962.
- 2) Brain, P.: Clin. exp. Immunol, 6: 681-688, 1970.
- 3) Coombs, R. R. A.: Int. Arch. Allergy, 39: 658-663, 1970.
- 4) Coulson, A. S.: Lancet, Feb 29: 468-469, 1964.
- 5) 橋本信也: 移植, 4: 61-66, 1964.
- 6) 橋本信也: 移植, 5: 127-130, 1970.
- 7) James, L. T.: Blood, 7: 890-896, 1952.
- 8) Jondal, M.: J. Exp. Med, 136: 207-215, 1972.
- 9) 岸本 進: 15: 769-773, 1978
- 10) 小谷正彦: 熊本医学界雑誌, 46: 459-466, 1972.
- 11) Kurt, H.: Lancet, Aug. 10: 305-306, 1963.
- 12) Ling, N. R.: Lancet, Feb 15: 363-365, 1964.
- 13) Marshall, W. H.: Lancet, Apr. 6: 773-774, 1963.
- 14) McDonald, C.: J. Cell. Biol. 29: 209-220, 1966.
- 15) 三井清文: GANN, 62: 13-20, 1971.
- 16) 三井清文: 臨床免疫, 6: 985-995, 1974.
- 17) 三井清文: 癌の臨床, 21: 783-788, 1975.
- 18) 森 陽一: 日本血液学会, 6: 51-61, 1972.
- 19) Pearmain, G.: Lancet, March 23: 637-638, 1963.
- 20) Stevan, D. D.: J. Immunol, 103: 1185-1195, 1969.
- 21) Stjernsward, J.: Lancet, June 24: 1352-1356, 1972.
- 22) 橋 武彦: 医学のあゆみ, 88: 61-65, 1974.
- 23) 橋 武彦: 臨床免疫, 9: 118-127, 1977.
- 24) 橋 武彦: Medical Technology 5: 787-791, 1977.
- 25) Tanaka, Y.: Blood, 22: 614-629, 1963.
- 26) 富山次郎: 医学のあゆみ, 106: 417-422, 1978.
- 27) Waltraut H. L.: Nature, 230: 531-533, 1971.
- 28) Willson, J. D.: Lancet, Oct. 9: 788-791, 1971.
- 29) 山井重房: 日産婦会誌, 26: 483-489, 1974.
- 30) 矢田純一: 小児科診療, 34: 315-324, 1971.
- 31) 矢田純一: アレルギー, 23: 692-695, 1974.
- 32) 矢田純一: 医学のあゆみ, 88: 61-65, 1974.