脳腫瘍患者の免疫能

清水 隆・鬼頭 健一・山崎 直美・久保 長生・喜多村孝一

Immunological Investigation of Brain Tumor Patients

TAKASHI SHIMIZU, KEN-ICHI KITO, NAOMI YAMAZAKI,

OSAMI KUBO and KOICHI KITAMURA

Department of Neurosurgery, Tokyo Women's Medical College

Summary

Patients with malignant tumor have immunological reaction to the tumor cells, but the reaction is suppressed with the growth of the tumor. For the clinical application of immunotherapy, the immunologic study of brain tumor patients is important. In this study we described the cell-mediated immunity and humoral immunity of brain tumor patients with special references to the pathological nature and clinical status. As for humoral immunity we detected tumor specific antibody against tumor cells by immunoadherence hemagglutination (IA) test (in 91 cases) and conducted quantitative analysis of IgG, IgM, IgA and $\beta_1C/1A$ globulin by the immunodiffusion technique (in 35 cases) in patients' sera. Correlation between tumor specific antibody and IgM was studied by using the IA test. As for cell-mediated immunity we studied peripheral lymphocyte counts (in 140 cases) and tuberculin reaction (in 56 cases) before operation. Biopsied samples (in 208 cases) were examined for detection of infiltration crisis of lymphoid cells under the microscope. We also investigated lymphocytotoxic ability against tumor cells and the blocking effect of the patient's serum was detected by using the mixed lymphocytes-tumor culture method.

The results are shown as follows:

1. High titer of the tumor specific antibody was always detected in serum of patients with glioma or sarcoma. This result suggested that the tumor specific antigen presented on the tumor cell membrane.
2. Essential components of the tumor specific antibody against brain tumor cells were detected in IgM fraction.
3. In malignant glioma and metastatic tumor, 40–60% of the patients showed lower than normal level of IgA and $\beta_1C/1A$ globulin. And 40–60% of the patients of benign glioma showed lower than normal level of IgM, IgA and $\beta_1C/1A$ globulin, whereas 50–75% of the patients of meningioma showed higher than normal level of IgG and IgA.
4. High percentage of malignant brain tumor patients showed lymphopenia (less than $1800/\text{mm}^3$), and negative tuberculin reaction which indicated depletion of cell-mediated immunity in these patients. The peripheral lymphocyte counts and tuberculin reaction was helpful to diagnose malignant tumor or benign tumor before operation, and also to evaluate prognosis of brain tumor patients.
5. Lymphoid cell infiltration in the tumor was found in 95% of metastatic tumors, 58% of meningiomas and 37% of gliomas.
6. Lymphocytes from glioma patients showed remarkable cytotoxic effect against glioma cells in mixed culture. Serum from the patients showed cytotoxic effect against tumor cells, although the effect was very poor compared with that of lymphocytes. The serum did not inhibit the cytotoxic effect of lymphocytes.

東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科

〔連絡先：〒160 東京都新宿区河田町10，東京女子医科大学脳神経センター，清水隆〕

7. Mechanism of cyst formation of a glioma was discussed from a view point of immune reaction.

Key words: brain tumor, humoral immunity, cell-mediated immunity, IgM

I はじめに

癌の治療は近年発達した早期発見法、早期外科的療法、それに引き続く各種抗癌化学療法、各種工夫をこらした放射線療法の開発などにより飛躍的に進歩したが、残念ながら今なお癌というと死の宣告に等しい言葉である。しかしきわめて稀であるが自然治癒した癌の報告⁴⁾が見られ、これら自然治癒現象は生体の癌に対する防衛機構—免疫が関与している可能性を示唆している²³⁾²⁹⁾。またヒト癌においても自家場において、腫瘍特異抗原の証明がなされつつある¹⁾⁸⁾³³⁾。腫瘍が免疫監視機構をうまく逃がれ、なぜ増殖するのかは不明であるが、腫瘍特異抗原に対する抗体を増強させ、癌の増殖を抑制し、さらに消退させ、終局的には腫瘍の発生予防にまでもっていけるのではとの期待で研究が進められている。近年腫瘍細胞に対し抗腫瘍性を有するものは細胞性免疫であり、体液性抗体はむしろ阻止抗体となっているのではないかと推測されてきた。しかし研究の発展とともに細胞性免疫と体液性免疫はきわめて複雑な関係にあり、従来のように抗腫瘍性は細胞性免疫であるとは簡単に言いがたくなってきた³⁰⁾。悪性腫瘍の宿主ではいろいろ未解決の免疫異常が認められるが、ある条件では抗体が腫瘍細胞に抗腫瘍性に働いていても、同じ抗体が条件の変化

により enhancing antibody, blocking factor として作用したり、正常細胞にも破壊的に作用しうる可能性がある¹²⁾。そのため現在ややもすればトピックス的傾向にある免疫療法を行なう際には、宿主の免疫機能をできるだけ詳細に分析、把握した上で行なう必要がある。そこで著者らは、脳腫瘍患者の免疫機構を知るため、体液性免疫と細胞性免疫の両面より検討したので報告する。

II 方法及び結果

1. 体液性免疫の検討

1) 脳腫瘍細胞に対する患者血清中の腫瘍特異抗体の検出 (腫瘍特異膜抗原の証明)

手術時剔出した腫瘍細胞と患者新鮮血清を用い、免疫粘着反応 (immunoadherence hemagglutination test, I. A.) を用いて行なった (詳細な方法は文献²⁶⁾を参照されたい)。

検索した脳腫瘍患者は91名で、血清2倍希釈の免疫粘着反応の結果を Table 1 に示した。Glioblastoma multiforme (21例) は、手術時 3000 ml 輸血後の血清で陰性を示した1例を除いてすべて陽性、血清128倍希釈でも強陽性を示したものが6例あった。Astrocytoma (12例)、oligodendroglioma (3例)、ependymoma (3例) もほぼ glioblastoma multiforme と同じく強い陽性像を示した。

Table 1 Demonstration of tumor specific antibody in sera of patients with brain tumor against resected brain tumor cells by IA test (91 cases)

Diagnosis	Case	IA pattern (2x diluted serum)				
		++	++	+	±	—
Glioblastoma multiforme	21	12	6	2		1
Astrocytoma	12	5	6	1		
Oligodendroglioma	3	1	1	1		
Ependymoma	3	1	1	1		
Medulloblastoma	8	2	2		1	3
Pinealoma	5	1	1	2		1
Craniopharyngioma	4		2	1		1
Neurinoma	6		1	5		
Hemangioblastoma	1			1		
Meningioma	8					8
Malignant meningioma	3					3
Sarcoma	4	3	1			
Metastatic tumor	13	2	1	2	2	6
Total	91					

Medulloblastoma (8 例) は、4 例が強陽性、4 例が陰性と 2 群に分かれ、陽性例は組織学的に medullo epithelioma 的な組織が多かった。Pincaloma (5 例) は一定の傾向を示さなかったが、強陽性例は組織学的に isomorphic pincaloma であった。Craniopharyngioma (4 例) は 3 例が陽性であったが、血清 8 倍希釈では全例が陰性であった。Neurinoma (6 例) も全例陽性であったが、血清 16 倍希釈ではすべて陰性であった。Meningioma (8 例), malignant meningioma (3 例) はすべて陰性、sarcoma (4 例) は強陽性で、血清 64 倍希釈でもすべて陽性を示した。転移性腫瘍は一定の傾向を示さず、原発巣及び組織像による一定の傾向も見られなかった。放射線療法、抗癌化学療法後再発してきた glioma 腫瘍塊では反応細胞の比率の低下が見られた。

2) 脳腫瘍 (glioma) 患者血清中の体液性抗体と IgM の関係²⁷⁾

症例は oligodendroglioma, ependymoma, astrocytoma, medulloblastoma 各 1 例ずつである。

a) 患者血清 (0.5 ml) を、anti-IgG 血清 0.2 ml (behringwerke Ag, anti- γ G-globulin/IgG (γ -chain)-serum from rabbit), anti-IgM 血清 0.2 ml (anti- γ M-globulin/IgM (μ -chain)-serum from rabbit) で不完全吸着後免疫粘着反応を行なった。

b) S-S 結合環元作用を持つエタニチオールを血清に作用させ補体結合反応を行なうことにより、反応免疫グロブリンを、IgG か IgM かを区別しうる¹⁸⁾。そこでエタニチオール (ethylmercaptan, C_2H_5SH , 沸点 $34 \sim 37^\circ C$, 東京化成工業) 0.06 mol 量を室温 ($20^\circ C$) で患者血清 1 ml に 10 分間作用させ、その後 $35^\circ C$, 5 分間加温後 IA test を行なった。

c) IgG と IgM とでは温度により補体第一成分 (C_1) との結合率が異なる。IgM は $37^\circ C$, 60 分で、逆に IgG は低温 ($0 \sim 4^\circ C$) の方が効率がよい²⁷⁾。そこで IA test を

$37^\circ C$ の条件下と $4^\circ C$ の条件下で行ない比較した。

結果 (Table 2) (medulloblastoma case): 従来どおりの方法 ($37^\circ C$ の条件下, IgG の補体結合能抑制) では、血清 256 倍希釈でも偽陽性で、結果的には強い陽性を示した。補体を非働化したもの ($56^\circ C$, 30 分加温) では 2 倍希釈で陰性であった。Anti-IgG 血清で処理した患者血清ではさほど IA には変化が見られないが、anti-IgM 血清で処理した患者血清では IA はかなり減弱した。エタニチオール処理血清 (IgM 抗体の補体結合能減弱) での IA は著明に減弱し、8 倍希釈血清で陰性であった。 $4^\circ C$ の条件下 (IgM の補体結合能抑制) でも著明に IA は減弱し、16 倍希釈血清で陰性であった。

3) 術前脳腫瘍患者血清の IgG, IgM, IgA, $\beta_{1C/1A}$ グロブリンの定量 (Behring Institute, Tri-Partigen-IgG, IgM, IgA, M-Partigen- C_{3c} 使用)

IgG, IgM, IgA, $\beta_{1C/1A}$ グロブリンは性差、年令差があり、正常値は文献³⁴⁾ によった。この値以上及び以下の値を示した症例の比率を $>normal$, $<normal$ として Table 3 に示した。

Malignant glioma では一部正常値以上の値を示すものもあるが、一般に正常値以下、特に IgA, $\beta_{1C/1A}$ グロブリンは半数以上低値を示し、benign glioma では IgM, IgA が半数以上低値を示した。Meningioma ではきわめてばらつきが強いが、IgG, IgA が高率に高値を示し、 $\beta_{1C/1A}$ は 50% の低値を示した。転移性腫瘍では IgA, $\beta_{1C/1A}$ グロブリンは高率に低値を示した。他の腫瘍ではばらつきが多いが、IgG が 43% と高率を示した。

2. 細胞性免疫の検討

1) 術前脳腫瘍患者の末梢リンパ球数算定 (140 例) と、ツベルクリン反応 (56 例)

末梢リンパ球数の正常範囲は年令差はあるが、 $1800 \sim 3500/mm^3$ を正常範囲とした。Control は本院の健康職員 60 名について行なったものであり、15% に $1800/mm^3$

Table 2 Correlation of tumor specific antibody in serum and IgM (case of medulloblastoma)

Treatment \ Serum dilution	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	1024×	control
Serum			(IA pattern)								
no treatment	+	++	##	##	+	+	±	±	-	-	-
heated at $56^\circ C$, for 30'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
treated with anti IgG	##	##	##	+	+	+	±	-	-	-	-
treated with anti IgM	+	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-
treated with Ethanethiol	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
reaction at $4^\circ C$	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

以下が認められた。ツベルクリン反応は発赤径 5×5 mm 以上を陽性、 5×5 mm 以下を陰性とした。Controlは本院の健康職員10名について行ない全例が陽性であった。

末梢リンパ球数及びツベルクリン反応の結果を Fig. 1 に示した。Malignant glioma (glioblastoma multiforme, astrocytoma GⅢ) ではリンパ球数減少が73%に、ツベルクリン反応陰性例も73%に認められた。これに反し、benign gliomaでは、リンパ球数減少は15%に、ツベルクリン反応陰性例は50%に認められた。Medulloblastomaでは、リンパ球数減少例は46%で、ツベルクリン反応陰性例は100%であった。また meningioma では、リンパ

球数減少例、ツベルクリン反応陰性例がともに43%であり、metastatic tumorでは、リンパ球数減少例が77%、ツベルクリン反応陰性例79%であった。

2) 手術剔除腫瘍組織のリンパ球様細胞浸潤の検討
208 例の手術剔除腫瘍組織のリンパ球様細胞浸潤を検索し、次の3段階に分類した。
Grade A: 腫瘍組織内または腫瘍周辺に perivascular lymphoid cell cuffing や diffuse lymphoid cell infiltration の見られるもの
Grade B: A程強くはないが腫瘍組織内と周辺に明らかに lymphoid cell infiltration の見られるもの

Table 3 Quantitative analysis of IgG, IgM, IgA and $\beta_{1C/1A}$ globulin in sera of preoperative patients with brain tumor (35 cases)

Diagnosis	Case		IgG	IgM	IgA	$\beta_{1C/1A}$
Malignant glioma	8	> normal < normal	13% cases 38	13% cases 38	25% cases 50	13% cases 63
Benign glioma	5	> normal < normal	40	60	60	40
Meningioma	8	> normal < normal	75 13	38 25	50 25	13 50
Metastatic tumor	7	> normal < normal	14 29	29	57	57
*Other tumor	7	> normal < normal	43 14	14 29	14 14	29

*Pituitary adenoma, craniopharyngioma, pinealoma, neurinoma, pontine tumor

other tumor: pituitary adenoma, neurinoma, craniopharyngioma, pinealoma, hemangioblastoma

Fig. 1 Cell-mediated immunity of patients with brain tumor. Peripheral lymphocyte counts (140 cases) & tuberculin reaction (56 cases) in preoperative patients with brain tumor

Grade C: ほとんど lymphoid cell infiltration の見られないもの

結果を Table 4 に示した。Glioblastoma multiforme では Grade A は全く見られず、Grade B が44%であった。Astrocytoma では12%に高い lymphoid cell infiltration, perivascular cuffing を示し、Grade B は24%であった。Oligodendroglioma は6例中2例に、ependymoma は5例中1例に lymphoid cell infiltration が認められた。Medulloblastoma を除く glioma では、Grade A と B を合わせると glioblastoma multiforme が lymphoid cell infiltration の比率が高いが、infiltration の強さからはむしろ astrocytoma, oligodendroglioma などの良性 glioma の方が強い。Medulloblastoma, pinealoma では時に腫瘍細胞そのものがリンパ球と区別がつかないため、組織内に明らかにリンパ球の infiltration, perivascular cuffing と思われるものを check した。その結果 medulloblastoma では1例も認められず、pinealoma では Grade B が3例であった。Craniopharyngioma では Grade A が44%, Grade A + B が78%であった。Neurinoma は、Grade A は1例もないが、Grade B は75%と高率を示した。Meningioma では、Grade A が19%, Grade A + B が58%であった。Metastatic tumor は Grade A が41%, Grade A + B では95%の高率であったが、sarcoma では弱く Grade B が29%のみであった。

3. 患者血清, 患者末梢リンパ球の腫瘍細胞に対する抗腫瘍性の検討

1) 腫瘍細胞浮遊液作製

手術剔出腫瘍片を cytosieve (stainless mesh 80 mesh/cm) の上で細胞をバラバラにし、Gey's BSS で2回, 800 r. p. m., 10分間洗浄後、培養液 (20% fetal calf serum, (GIBCO), 3% L-glutamin を含む Eagle MEM) を加え、腫瘍細胞密度をだいたい $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整する。

2) 患者末梢リンパ球の分離及びリンパ球浮遊液作製
手術直前の患者末梢血 30 ~ 40 ml より、lymphoprep (sodium metrizodte/ficoll solution, nyegaard & Co. AS. OSLO) を用いて分離を行ない Tris-BSS で2回, 800 r. p. m., 10分間洗浄後培養液を加え $1 \times 10^7/\text{ml}$ に調整する。

3) 混合培養系列作製

(I) Control として腫瘍細胞のみ, (II) Control としてリンパ球のみ, (III) 腫瘍細胞浮遊液 1 ml とリンパ球浮遊液 0.5 ml, (IV) 腫瘍細胞浮遊液 1 ml 患者新鮮血清 0.5 ml, (V) 腫瘍細胞浮遊液 1 ml と患者補体非働化 (56°C, 30分加温) 血清 0.5 ml, (VI) 腫瘍細胞浮遊液 1 ml に患者新鮮血清 0.5 ml 入れ10分後リンパ球浮遊液 0.5 ml 追加, (VII) 腫瘍細胞浮遊液 1 ml に患者補体非働化血清 0.5 ml 入れ10分後リンパ球浮遊液 0.5 ml 追加, 以上の系列を2個ずつ作製, 37°C, 5% CO₂ incubator で静置培養し, 3日目に H. E. 染色を行なう。症例は成人の glioblastoma 1例, astrocytoma G II ~ III 2例, oligodendroglioma 1例である。

結果を Table 5 に示したが、control はすべて Fig. 2 のようにきわめて発育は良好であった。リンパ球との混合培養ではほとんどの腫瘍細胞が崩壊され、残り少ない

Table 4 Lymphoid cell infiltration in brain tumor tissue (208 cases)

Diagnosis	Case	Grade A case (%)	Grade B case (%)	Grade C case (%)	Grade A + B case (%)
Glioblastoma multiforme	18	0	8 (44%)	10	8 (44%)
Astrocytoma	49	6 (12%)	12 (24%)	31	18 (38%)
Oligodendroglioma	6	1 (17%)	1 (17%)	5	2 (33%)
Ependymoma	5		1 (20%)	4	1 (20%)
Medulloblastoma	15			15	0 (0%)
Pinealoma	13	0	3 (23%)	10	3 (23%)
Pituitary adenoma	13	0	3 (23%)	10	3 (23%)
Craniopharyngioma	9	4 (44%)	3 (33%)	2	7 (78%)
Neurinoma	20	0	15 (75%)	5	15 (75%)
Hemangioblastoma	5	0	0	5	0 (0%)
Meningioblastoma	26	5 (19%)	10 (38%)	11	15 (58%)
Sarcoma	7	0	2 (29%)	5	2 (29%)
Metastatic tumor	22	9 (41%)	12 (55%)	1	21 (95%)
Total	208	25	70	113	

Table 5 Cytotoxic effect of peripheral lymphocytes & sera of glioma patients against tumor cells
(4 cases of glioma)

Tumor cell $1 \times 10^6/\text{ml}$			3 days culture control
Lymphocyte $0.5 \times 10^7/\text{ml}$			control
Tumor cell $1 \times 10^6/\text{ml}$	Lymphocyte $0.5 \times 10^7/\text{ml}$		↓
Tumor cell $1 \times 10^6/\text{ml}$	Fresh autochthonous serum 0.5 ml		↘
Tumor cell $1 \times 10^6/\text{ml}$	Unactivated auto- chthonous serum 0.5 ml		~
Tumor cell $1 \times 10^6/\text{ml}$	Fresh autochthonous serum 0.5 ml	Lymphocyte $0.5 \times 10^7/\text{ml}$	↓
Tumor cell $1 \times 10^6/\text{ml}$	Unactivated auto- chthonous serum 0.5 ml	Lymphocyte $0.5 \times 10^7/\text{ml}$	↓

↓ : remarkable cytotoxic effect
 ↘ : mild cytotoxic effect
 ~ : no cytotoxic effect

Fig. 2 Control tumor cells after 3 days culture

Fig. 3 Cultured tumor cells mixed with lymphocyte
(H. & E Stain)

Fig. 4 Correlation of cell-mediated immunity (lymphoid cell infiltration) & humoral immunity (IA test) in brain tumor patients

生き残った腫瘍細胞もリンパ球と接触し神経膠突起がくずれ、細胞内、細胞外に顆粒が見られた (Fig. 3)。また細胞破壊遺残物によるためか、カバーガラスがきたなく染まり、リンパ球も control と比べ著明に減少していた。新鮮血清添加培養では control と比べ腫瘍細胞の生着は若干悪く、腫瘍細胞中には control では見られない細胞内顆粒が出現している細胞もあるが、リンパ球混合培養程の変化は見られなかった。非働化血清添加培養は control とほとんど差が見られなかった。患者新鮮血清、非働化血清添加後リンパ球との混合培養ではともに強い腫瘍細胞崩壊が見られ、(Ⅲ)のリンパ球混合培養との差は見られなかった。

Ⅲ 考 察

ヒト脳腫瘍において、著者らが IA test を用いて初めて自家の場で腫瘍特異抗原の存在を証明し報告した²⁴⁾²⁶⁾²⁹⁾。その後も種々の免疫学的方法により、腫瘍特異抗原の存在の報告が見られる³⁾⁵⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾²¹⁾²²⁾。実験 1 の 1) に示したように、medulloblastoma を除く glioma, sarcoma 患者血清中には一定した高力価の液性腫瘍特異

抗体が検出され、これら腫瘍には腫瘍特異膜抗原が存在し、宿主の免疫監視機構が腫瘍特異膜抗原に対して生体反応 (抗体産生) を起していることが証明された。

ところで IA test より腫瘍塊の腫瘍細胞がすべて均一な抗原性を有しているのではないことは明らかである。未治療の glioma は一般に反応する細胞比率が高いが、放射線療法、抗癌化学療法後再発してきた glioma 腫瘍塊では反応細胞の比率の低下が見られる²⁶⁾²⁹⁾。上記療法は宿主の免疫能を著明に低下させる²⁵⁾、これのみで上記現象は説明できない。宿主の免疫能の低下だけであるならば、反応細胞の反応程度、数の様な減少だけでよいと思われる。しかし実際には反応細胞の比率の低下であり、強陽性細胞も数は少ないが存在しており、低抗原性腫瘍細胞の比率の増加を意味する。上記療法は細胞に対して免疫学的には無差別攻撃で、高抗原性腫瘍細胞を選択的に破壊するとは考えられないが、抗原性の異なる腫瘍細胞が上記療法で一様な程度に障害された場合、特に高抗原性腫瘍細胞が宿主の免疫能でより多く破壊、処理され、その結果 IA 陰性の腫瘍細胞の比率が高くなったとも考えられる。しかし上記療法により、腫瘍特異膜

抗原の変換が生じ低抗原性腫瘍細胞群が増殖してきた可能性が高い。その根拠として、転移性腫瘍の場合高抗原性腫瘍細胞の比率が少なく、転移という観点からも首肯できる。

また IA 陰性率の高い glioma (再発腫瘍) 細胞を 0.25%, 0.5%, 1.0%, 2.0% の trypsin-GVB⁺⁺ 溶液で 37℃, 10 分間洗浄後 IA を行なうと, 0.5~1.0% での処理群で強陽性細胞比率の著明な上昇が見られ, 2.0% ではむしろ陰性細胞が増加する。この現象を単純に考えれば, envelope されていた抗原の被覆が trypsin で露出され IA が陽性となり, trypsin 濃度が高まるに従い抗原そのものが細胞膜より除去されたのではと推測でき, 抗原側からの検討も必要である。

いずれにしろ, glioma の膜抗原の同定, 性質, 共通抗原が存在するか (allogeneic 及び各脳腫瘍間で), どのような条件でより抗原性を発揮するか, 腫瘍の増大とともに抗原性に变化が起るか, 従来の補助療法が抗原性にどのような影響を及ぼし, 腫瘍細胞はどのように対処しているのか¹¹²⁾ など, 細胞分子学的レベルで解明されねばならない数多くの重大な問題がある。

免疫粘着反応は補体結合反応で補体結合能を有する免疫グロブリンは IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgM であり実験 1 の 2) の方法, 結果により, glioma に対する体液性抗体は主に IgM 分画中に存在するものと思われる。IgM は免疫グロブリンの中で系統発生的, 個体発生的に最も古く, 免疫グロブリン産生細胞の B-cell 膜上には IgM が多数存在し, 一部の T-cell 膜上にも IgM が微量存在する¹⁹⁾。脳腫瘍特異膜抗原に反応する血清中の遊離 IgM と T-cell リンパ球膜上に存在する IgM との構造, 機能的相関は不明である⁹³⁾ が, 抗腫瘍性, blocking factor との関係もからみ, 今後研究を進めなければならない問題である。

実験 1 の 3) で示したように IgM は benign glioma の 60% で低値を示したのみで, IgA は glioma, metastatic tumor で高率に低下を示し, meningioma では, IgG, IgA が高率に高値を示す結果を得た。しかし個々の症例においてばらつきが大きく, これで各腫瘍の血清中の免疫グロブリンの傾向をうんぬんはできない。ヒト腫瘍は異物というより自己正常細胞に近く, 腫瘍の増大した末期ならいざしらず, 初期に免疫グロブリン系に大きな影響を及ぼすとは考えにくい。しかしながら症例を重ねることにより, ある程度各腫瘍間で傾向が明らかになるかもしれない。免疫グロブリンに対して $\beta_{1C/1A}$ グロブリンはすべての脳腫瘍で明らかに高率に低値を示した。癌などでは一般に $\beta_{1C/1A}$ グロブリン値が上昇をきたし, 細胞

性免疫の低下を補体系が代償し, 生体防御をしているのではないかと推測されている²⁰⁾。しかし, 脳腫瘍では補体による生体防御現象を示唆するデータは得られなかった。

脳腫瘍の場合, 髄液中にこれら蛋白がより著明に反映するであろうことは想像に難くない。しかし我々は, 髄液を 50~76 倍濃縮, 免疫電気泳動を施行しても髄液中には IgM, $\beta_{1C/1A}$ グロブリンはほとんど検出されないか, されてもきわめて微量であること²⁸⁾。また髄液 IgG, IgA とともに各疾患できわめて変動が大きく一定の傾向は得られないことはすでに報告した²⁵⁾。濃縮髄液と腫瘍細胞の IA では全例が陰性で髄液中には腫瘍特異抗体は存在しないか, するとしてもきわめて, 微量であると思われる²⁹⁾²⁹⁾。しかし血清, 髄液の IgG, IgM, IgA 及び各補体成分の活性も含めさらに症例を重ね, きわめて細かい分析を行ない, 個々の症例で経時的に追跡することにより腫瘍の増大との相互関係を知ることはきわめて重要なことであるが, 実際問題として手術及び輸血, プレドニン大量投与, 抗癌療法, 放射線療法, 感染など多くの大きな factor が入り, 得られたデータの意味づけには慎重をきたさねばならない。

古くより, 悪性腫瘍ではリンパ球減少, ツベルクリン反応陰性化などから細胞性免疫の低下が言われており, 脳腫瘍においても悪性 glioma 及び転移性腫瘍患者では著明な末梢リンパ球数減少, ツベルクリン反応陰性化が認められ, 細胞性免疫能の低下は明らかである。Medulloblastoma のツベルクリン反応陰性化は本腫瘍が幼小児の腫瘍であるため, 直ちに細胞性免疫低下に結びつけられないが, リンパ球数 1800/mm³ 以下が control (15%) と比べ 46% の高率であり, 小児の場合リンパ球数正常値は成人より多く, 2500/mm³ 以下をリンパ球数減少とすれば, glioblastoma multiforme, metastatic tumor と同じくリンパ球減少は高率である。臨床的に Fig. 1 の結果から, 頭蓋内腫瘍が明らかで, リンパ球数減少, ツベルクリン反応陰性が認められればその腫瘍は悪性である可能性が高く, また逆であれば良性と, 術前に脳腫瘍の悪性度を予知することができる。また寺林ら³²⁾は glioma, metastatic tumor 患者でリンパ球の機能低下を PHA による blastogenesis の低下で観察している。このようにリンパ球減少, 機能低下がどのような機構で起るのかは未解決であるが, 臨床的にリンパ球数減少がなくツベルクリン反応陽性症例は予後が良く, また経過の良好な症例ではリンパ球数が正常に復し, ツベルクリン反応が陽転化しているのをよく経験する。すなわち経時的にツベルクリン反応, リンパ球動態を観察することは患者の免疫能

を把握する一つの手段であり、同時に簡便な予後判定法にもなりうると思われる。

腫瘍細胞に対する宿主の免疫応答が腫瘍の増殖態度、局所の組織像の中で表現されるのは当然であり、癌組織における間葉系組織の反応、好中球、リンパ球などの反応は宿主の生体防御反応を表現している。進行癌であっても強いリンパ球様細胞のあるものは予後が良いとの報告が多い²⁰⁾。菊地²¹⁾は蛍光抗体法で癌巣内に浸潤しているリンパ球は T-cell が多く、癌組織に集簇するリンパ球は B-cell の傾向が強いことを解析している。脳はリンパ管路を欠く臓器であるにもかかわらず、medulloblastoma を除く glioma で 37% にリンパ球様細胞の関与が見られることには驚かされる。さて、glioma でもリンパ球様細胞の infiltration のある症例では確かに予後の良いものがあるが、glioma の予後を左右する大きな因子は、組織学的悪性度、腫瘍の部位、広がり、手術侵襲、全別か部分別出か、術後の神経学的欠損、後療法などであり、組織のリンパ球様細胞の infiltration と予後の直接的な相関関係を求めることは不可能であった。

転移性脳腫瘍の場合、Grade A が 41% の高率であり、1 例を除く全例にリンパ球様細胞の infiltration が見られた。Origin の差かもしれないが、脳に転移を許すこと自体、宿主の腫瘍細胞に対する著明な免疫能の低下を意味し、血清中の IgG、IgM、IgA、 $\beta_{1C/1A}$ グロブリンがともに低値をとる率が高く、末梢リンパ球減少、ツベルクリン反応陰性、リンパ球の blastogenesis の低下が認められる。しかるに、局所ではこれ程高いリンパ球様細胞の infiltration を示している。従って、これらリンパ球様細胞の浸潤を積極的な生体防御反応の表現とする説²¹⁾には抵抗を感じる。しかも臨床的に転移性脳腫瘍はきわめて短期間に死の転帰をとっている。これらのことから、著者らは少なくとも転移性脳腫瘍の lymphoid cell は生体防御的に働いているのではなく、急速に増大し壊死に陥った細胞を単に処理するためか、腫瘍細胞の何らかの因子 (chemotactic な) により腫瘍組織内に引き寄せられたものと考えたい。

ところで、各腫瘍の lymphoid cell infiltration の Grade A+B の比率 IA の結果を対比させてみると Fig. 4 のようになる。Lymphoid cell infiltration が細胞免疫の指標になりうるかは疑問であるが、ツベルクリン反応、末梢リンパ球の態度と比べると、転移性脳腫瘍を除けば、ほぼ納得できる傾向が見られる。Glioma ではほとんど全例 IA が強陽性(卅)か陽性(十~+)であるのに対し、infiltration は 37%、meningioma では全例 IA が陰性であるのに、infiltration は 58% であった。Neurinoma は IA が

弱陽性で、infiltration は 75%、metastatic tumor では IA は一定していないが、infiltration は 95% である。Glioma と meningioma では細胞性免疫と体液性免疫の関係が対照的である。この表より、宿主の免疫学的反応は神経外胚葉系腫瘍 (glioma) と中胚葉系腫瘍 (meningioma) と外胚葉系腫瘍 (craniopharyngioma, metastatic tumor) とで異なり、免疫学的観点より脳腫瘍の再分類が可能な印象を受ける。

著者らの 3 の実験では、glioma 患者新鮮血清、非働化血清には、blocking factor は認められなかった。むしろ新鮮血清 (補体を含む) ではリンパ球よりきわめて弱いが抗腫瘍性を示した。Mitts and Walker¹⁸⁾ も患者血清が抗腫瘍性を示すデータを報告しているが、森¹⁹⁾及び小野²¹⁾らは、リンパ球の cytotoxicity を block する factor が存在すると報告している。脳腫瘍患者血清中にも blocking factor、またそれに対する unblocking antibody が存在するか否かは治療の上できわめて重大であり、更にきわめて細かく検討する必要がある。

脳腫瘍は cyst を形成することが多いが、われわれが行なった cyst 液の蛋白分析で、glioma cyst では IgM が欠如ないし著明に減少しており、IgG、IgM の cyst 液総蛋白中の mg % では IgG は血清と大差ないのに対し、IgM は cyst できわめて低値である¹⁰⁾。また glioma cyst の浮遊腫瘍細胞の IA では、control で陽性にする症例が見られ、cyst 内で抗原-抗体-補体反応が起っていることを示唆した。しかし、craniopharyngioma cyst の蛋白は血漿とほぼ同じであり、また cyst 浮遊細胞では glioma のような現象は見られなかった¹⁰⁾。この結果は glioma 腫瘍細胞特異膜抗原に IgM が吸着し、補体との協同作用で腫瘍細胞を破壊もしくは破壊されやすい状態にし、そこに T-cell をはじめとする細胞性免疫の動員が行なわれ、宿主の腫瘍に対する防御反応の結果、cyst が形成されたとも考えられる。しかも cyst を形成する glioma では、手術侵襲が少ないことにもよると思われるが、予後の良いものが多い。今回 cyst 形成 glioma と lymphoid cell infiltration、予後の相関的検討はしなかったが興味あるテーマの一つである。

今回の一連の実験成績及び臨床的に glioma の頭蓋外転移が稀である事実、さらに脳室心房短絡術、脳室腹腔短絡術などによって、人為的に glioma 細胞を全身に播種させても他臓器への転移が稀である事実などにより^{7,14)}、glioma に対する宿主の免疫反応は他の癌に対する反応より強く作用しているものと考えられ、脳腫瘍の免疫学的治療に大きな期待が持たれる。

現在、実験腫瘍の免疫学的治療成績はすばらしく、臨

床医として直ちに臨床に応用したい誘惑に駆られる。しかし、これにはいくつかの問題が残されている。例えば BCG 療法により T-cell の上昇が見られても, killer T-cell, helper T-cell の増加でなく, suppressor T-cell の上昇だけならむしろ腫瘍の増大をきたす結果となる⁹⁾¹²⁾。それゆえ、臨床に免疫学的療法を導入する際には、宿主の免疫能の総合的かつきわめてきめの細かい分析、把握を行なうと同時に、免疫現象は条件により宿主にとって両刃の剣になりうることを常に念頭におく必要がある。

IV 結 論

1. 体液性免疫と細胞性免疫の両面より、脳腫瘍患者の免疫能を検討した。

2. 多くの脳腫瘍患者血清中には腫瘍特異抗体が検出され、腫瘍特異抗原が証明された。特に glioma, sarcoma 腫瘍は高い抗原性を有し、かつ glioma, sarcoma 腫瘍塊では高抗原性腫瘍細胞の占める率が高い。

3. 血清中の腫瘍特異抗体は主に IgM 分画中に存在する。

4. 放射線療法、抗癌化学療法は宿主の免疫能を低下させるが、腫瘍特異膜抗原の変換も起す可能性がある。

5. Malignant glioma, metastatic tumor では血清中の IgA, benign glioma では IgM, IgA が高率に低値を示し、meningioma では IgG, IgA が高率に高値を示した。 $\beta_{1C/1A}$ は全脳腫瘍では低値をとる傾向が強い。

6. Glioblastoma multiforme, metastatic tumor, medulloblastoma では末梢リンパ球減少、ツベルクリン反応陰性率が高率で、細胞性免疫能の低下が存在する。臨床的に末梢血リンパ球算定、ツベルクリン反応は術前の腫瘍悪性度の予測、予後判定の指標の一つになりうる。

7. 腫瘍組織内の lymphoid cell infiltration は metastatic tumor > craniopharyngioma > neurinoma > meningioma > glioblastoma, astrocytoma > sarcoma > pinealoma > medulloblastoma の順で認められ、IA による体液性抗体は, sarcoma glioblastoma, astrocytoma > neurinoma > craniopharyngioma > pinealoma > metastatic tumor > medulloblastoma > meningioma の順で検出された。Glioma, sarcoma と meningioma では体液性免疫と細胞性免疫の解離が見られかつ対照的である。

8. 患者末梢リンパ球には著明な cytotoxic effect が認められ、患者新鮮血清も弱いながら抗腫瘍性を示した。患者血清がリンパ球の cytotoxic effect を阻止する現象は見られなかった。

9. Glioma の腫瘍内 cyst は生体の防御反応の結果生じたものと思われる。また glioma が頭蓋外に転移しに

くい事実より、宿主の免疫監視機構は他の臓器癌より glioma に対してより強く働いているものと思われる。

10. ヒト脳腫瘍の免疫学的治療には期待が持たれるが、実施にあたっては免疫現象は条件により、宿主にとって両刃の剣になることを忘れてはならない。

本稿は「脳腫瘍患者の免疫能と脳腫瘍の免疫学的診断法」の題であったが紙面の都合で生化学的診断法（髄液の disc 電気泳動、免疫電気泳動）と免疫学的診断法^{2a)}（IA 法）は割愛した。

本研究は厚生省癌研究助成金、昭和大学振興財団、武田科学振興財団より助成を受けた。

文 献

- 1) 青木忠夫、橋本嘉夫：腫瘍免疫学、新宿書房、1972
- 2) COLTEN, H. R., BORSOS, T. & RAPP, H. J.: Titration of the first component of complement on a molecular basis: suitability of IgM and unsuitability of IgG hemolysis as sensitizer. *Immunochemistry* 6: 461-467, 1969
- 3) EGGERS, A. E.: Autoradiographic and fluorescence antibody studies of the human host immune response to gliomas. *Neurology* 22: 246-250, 1972
- 4) EVERSON, T. C. & COLE, W. H.: Spontaneous regression of cancer. Saunders, Philadelphia, London, 1966
- 5) FEBRE, H., MAUNOURY, R. & CONSTANS, J. P.: Etude immunologique de tumeurs cerebrales. *Neuro-chirur.* (Paris) 17: 203-207, 1971
- 6) 藤井源七郎：液性抗体と細胞性抗体の関係。細胞性免疫：63-83, 医学書院, 1972
- 7) GLASUER, F. E. & YUAN, R. H.: Intracranial tumors with extracranial metastasis, case report and review of the literature. *J. Neurosurg.* 20: 471-493, 1963
- 8) 菊地浩吉：腫瘍免疫。 *Modern Medicine* 12: 35-45, 1975
- 9) 岸本忠之：免疫応答における T-B 細胞協同作用。代謝 12: 31-36, 1975
- 10) 鬼頭健一、清水隆、窪田惺、沖野光彦、喜多村孝一：脳腫瘍の cyst の成因、第 1 報。Cyst 内蛋白の同定と cyst 内浮遊腫瘍細胞膜に対する体液性抗体の検出。 *Neurologia Medico-chirurgica* 14: 72p, 1974
- 11) 久保長生、清水隆、鬼頭健一、沖野光彦、喜多村孝一：脳腫瘍におけるリンパ球様細胞浸潤と体液性免疫。医学のあゆみ 93: 581-583, 1975
- 12) 北川正保：癌細胞の抗原性と宿主応答。代謝 12: 263-271, 1975
- 13) LEVY, N. L., MAHALEY, M. S. & DAY, E. D.:

- In vitro demonstration of cell mediated immunity to human brain tumors. *Cancer Res.* 32: 477-482, 1972
- 14) MAKEEVER, L. C. & KING, J. D.: Medulloblastoma with extracranial metastasis through a ventriculo-venous shunt. Report of a case and view of the literature. *Amer. J. Clin. Path.* 46: 245-249, 1966
- 15) 森 照明, 府川 修, 青木 晃, 鈴木二郎: 脳腫瘍細胞とリンパ球の cytotoxic effect. *Neurologia Medico-chirurgica* 13: 64 p, 1973
- 16) MITTS, M. G. & WALKER, A. E.: Autoimmune response to malignant glial tumors. Preliminary observation. *Neurology* 15: 474-476, 1965
- 17) 三宅悦夫, 野本亀久雄, 武谷健二, 高木東介, 北村勝俊: 脳腫瘍培養細胞表面抗原の検索—特に線維芽細胞との鑑別. *Neurologia Medico-chirurgica* 13: 66 p, 1973
- 18) MURRAY, E. S., O'CONNOR, J. M. & GAON, J. A.: Differentiation of 19S and 7S complement fixing antibodies in primary versus recrudescing Typhus by either ethanethiol or heat. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 119: 291-297, 1965
- 19) 中村弘: 抗体の構造と機能. 代謝 12: 147-158, 1975
- 20) 西岡久寿弥, 田村 昇: 補体の構造と機能に関する最近の進歩. 代謝 12: 189-193, 1975
- 21) 小野豪一, 李 文明, 寺門敬夫, 住江寛俊, 石井晶三: 脳腫瘍に対する免疫学的診断及び治療の可能性. 第34回 日本脳神経外科学会, 抄録集 21, 1975
- 22) 織田祥史, 武内重二, 半田 肇: 脳腫瘍の腫瘍特異抗原. 脳外 1: 27-35, 1973
- 23) 大森幸夫, 石崎昭一, 藤巻雅夫, 齊藤 宏, 十見定雄, 石塚敬朗, 山宮克己, 曾我 淳, 坂田康, 長谷川詮: 癌の進展と生体反応像について. 最新医学 18: 613pp., 1963
- 24) 清水 隆, 喜多村孝一, 高倉公朋, 西岡久寿弥: 脳腫瘍の自己抗体. 医学のあゆみ 76: 669-671, 1971
- 25) 清水 隆, 高倉公朋, 鬼頭健一, 久保長生: 脳腫瘍の免疫学的研究. 脳腫瘍患者の免疫能 *Neurologia Medico-chirurgica* 13: 63 p., 1973
- 26) 清水 隆, 鬼頭健一, 窪田惺, 喜多村孝一, 高倉公朋: 脳腫瘍に対する体液性自己抗体の検出. 脳外 2: 747-756, 1974
- 27) 清水 隆, 鬼頭健一, 窪田惺, 喜多村孝一, 高倉公朋: 脳腫瘍に対する体液性抗体と IgM. 医学のあゆみ 92: 345-346, 1975
- 28) 清水 隆, 鬼頭健一, 窪田惺, 喜多村孝一, 高倉公朋: 脳腫瘍の免疫学的診断法. 神経外科 1: 37-45, 1976
- 29) 清水 隆, 脳腫瘍特異膜抗原の検出. 東京女子医科大学雑誌 46: 346-357, 1976
- 30) 白神 醇, 岩尾憲人, 今川大仁, 橋詰博仁, 小浜貴良, 久次米隆司, 渋谷和彦: 担癌症の末梢リンパ球. 最新医学 24: 1664-1671, 1969
- 31) 竹内正七: がん患者におけるがん特異的免疫の成立を示唆する事実. 細胞性免疫: 235-241, 医学書院, 1972
- 32) 寺林 征, 関川和代, 谷村憲一, 植木幸明: 脳腫瘍患者の blastogenesis. 脳外 1: 37-42, 1973
- 33) 塚田 裕, 腫瘍抗原, 免疫学からみた腫瘍: 1-19, 医学書院, 1975
- 34) 石田俊介: 血清蛋白分画測定の意義. 臨床化学 2: 1-15, 1973