

肝細胞癌に対するエタノール局注療法における NK 活性と T Cell Subsets の検討 —レンチナン併用局注の影響について—

山本晋一郎, 高取 敬子, 大元 謙治, 山本 亮輔, 井手口清治, 大海 庸世, 日野 一成, 平野 寛

肝細胞癌 15 例を対象にエタノール腫瘍内局注療法 (PEIT) を行い, 末梢血 NK 活性およびリンパ球サブセットの変動を測定した. エタノール単独局注時とレンチナン局注併用エタノール局注の両者の免疫能に及ぼす影響を比較検討した. NK 活性はエタノール単独局注時には $26.1 \pm 13.0\%$ から局注 1 日後 $15.9 \pm 11.1\%$ と有意の低下を認めた. レンチナン併用時には前 $21.5 \pm 14.4\%$, 1 日後 $21.8 \pm 16.9\%$, 7 日後 $30.3 \pm 14.5\%$ と増加がみられた. リンパ球サブセットに関しては OKT 4 はレンチナン併用時前 $44.7 \pm 8.9\%$, 1 日後 $50.3 \pm 11.4\%$, 7 日後 $49.3 \pm 11.1\%$ と有意の増加がみられ, 4/8 比も前 2.0 ± 0.9 から 1 日後 2.5 ± 1.1 と有意に増加した. エタノール単独局注では OKT サブセットの変動はほとんどみられなかった. 以上の結果からレンチナン局注の併用は肝癌に対する全身的免疫反応の賦活に有用であると考えられた. (平成元年 4 月 25 日採用)

Immunological Reaction in Hepatocellular Carcinoma by PEIT —Effect of Combined Use of Local Injection of Lentinan

Shinichiro Yamamoto, Keiko Takatori, Kenji Ohmoto, Ryosuke Yamamoto, Seiji Ideguchi, Tsuneyo Ohumi, Kazunari Hino and Yutaka Hirano

Fifteen cases of hepatocellular carcinoma (HCC) were treated by percutaneous ethanol injection therapy (PEIT) and the immunological responses of peripheral blood natural killer (NK) activity and lymphocyte subsets were examined. PEIT was done twice, first with ethanol alone, and then with combined use of ethanol and Lentinan. NK activity and lymphocyte subsets were examined three times; before, one day and seven days after PEIT. NK activity was significantly decreased from $26.1 \pm 13.0\%$ to $15.9 \pm 11.1\%$ on the day following PEIT. With combined use of ethanol and Lentinan, NK activity was $21.5 \pm 14.4\%$ before injection, $21.8 \pm 16.9\%$ on the following day, and $30.3 \pm 14.5\%$ seven days after injection.

Regarding lymphocyte subsets, OKT 4 increased significantly after combined use of ethanol and Lentinan, while no apparent changes were noted following ethanol injection alone. From the above results, it was concluded that Lentinan

injection may be useful in the enhancement of the systemic immunological reaction against HCC. (Accepted on April 25, 1989) *Kawasaki Igakkaishi* 15(3): 429-436, 1989

Key Words ① HCC ② PEIT ③ Lentinan ④ NK activity
⑤ Lymphocyte subsets

はじめに

肝癌に対する治療法として、肝動脈塞栓術 (TAE) が広く普及している。しかしながら TAE 療法も 高度の肝機能低下を伴う肝癌には術後肝不全を起こす危険性が高い。一方、エタノールを超音波ガイド下に腫瘍内に直接局注するエタノール局注法 (percutaneous ethanol injection therapy: PEIT) がより侵襲の少ない有効な治療法として注目されている。¹⁾ 今回われわれは、PEIT による肝癌個体の免疫系に及ぼす影響を末梢血 NK 活性およびリンパ球サブセットの変動を中心に検討した。さらに免疫賦活剤であるレンチナンの局注を併用した結果についても試み、エタノール単独局注とレンチナン併用エタノール局注との比較検討を行った。

し、エタノールと同様、腫瘍内局注を行った。肝癌 15 例全例に対し、第 1 回目はエタノール局注のみ、2 回目はレンチナンとエタノール局注の併用を行い局注前、1 日後、7 日後の 3 回末梢血 NK 活性およびリンパ球サブセットの測定を行った。NK (natural killer) 活性は K562 細胞を標的細胞とする ⁵¹Cr 放出法により測定した。末梢血リンパ球サブセットは OKT シリーズモノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリーにより測定した。15 例中 9 例は PEIT 以前に肝動脈塞栓術 (TAE) を施行していた。統計処理は paired T 検定で行った。

結 果

1) 末梢血白血球の変化

Figure 1 はエタノール単独局注時とレンチナン併用エタノール局注時の白血球数の変動を

対象と方法

肝細胞癌患者 15 例を対象とした。年齢は 47 歳から 83 歳 (平均 57.3 歳) で男性 14 例、女性 1 例であった。全例肝硬変を合併していた。肝腫瘍の大きさは 1.5 cm から 10 cm と腫瘍径の大きさには個体差がみられた。PEIT は超音波ガイド下に 22G, PTC 針を使用し、肝腫瘍内に 99.5% エタノールを 1 ml ~ 7 ml 注入した。レンチナンの局注はレンチナン (Lentinan) 3 mg を 3 ml の生理食塩水にて溶解

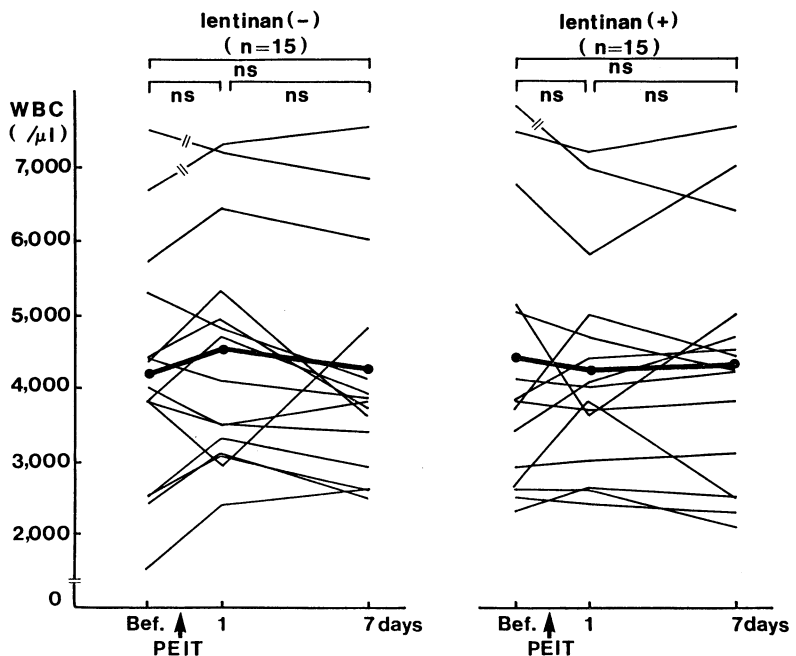


Fig. 1. Changes of WBC after PEIT with and without Lentinan

示す。エタノール単独時には、術前平均 4175/mm³ に対し、1 日後では、4540/mm³ とやや増加がみられ、7 日後には 4273/mm³ と前値にかえった。レンチナン併用時には、1 日後にはやや減少傾向がみられた。しかしいずれも有意な変動ではなかった。Figure 2 はリンパ球数の変化を示す。エタノール単独局注時には、術前 1195/mm³ に対し 1 日後には 978/mm³ と有意の低下を示した。1 週後には 1201/mm³ とほぼ前値に復帰した。これに対してレンチナン併用時には、1 日後わずかの低下を認めるもののほとんど変化を示さなかった。

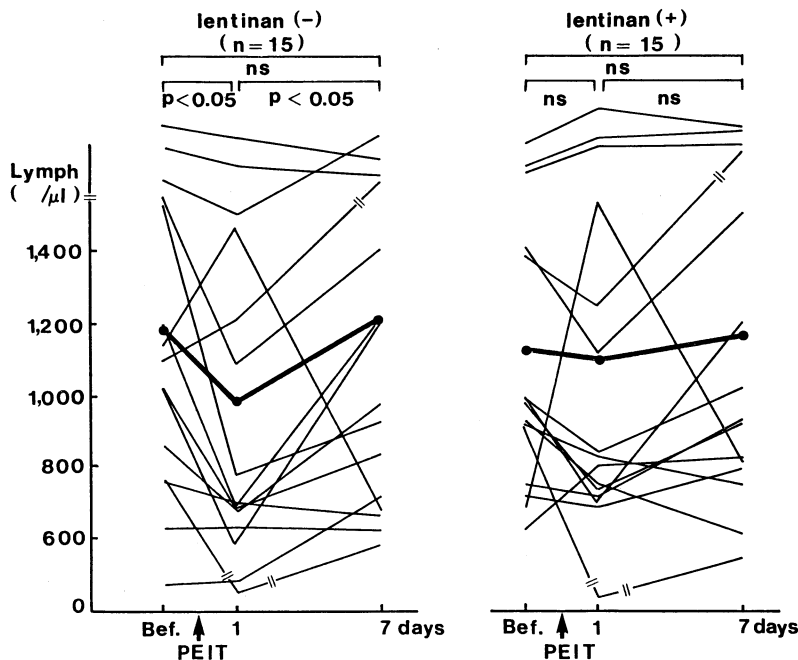


Fig. 2. Changes of peripheral lymphocyte after PEIT with and without Lentinan

2) 末梢血 NK 活性の変化

Table 1 はエタノール単独局注時とレンチナン併用エタノール局注時の各々の NK 活性およびリンパ球サブセットの変化を示す。NK 活性はエタノール単独時 26.1% から 1 日後 15.9% へと有意の低下を示し 7 日後には 21.1% と回復した。レンチナン併用時には前 21.5% に対し 1 日後 21.8% と低下を示さず 7 日後には 30.3% とむしろ前値より有意の増加がみられた (Fig. 3)。

3) リンパ球サブセットの変動

OKT シリーズの変化は Table 1 に示すよう

にエタノール単独局注時には有意の変動はみられなかったが、レンチナン併用時には OKT4 の増加および 4/8 比の増加が認められた。Figure 4 に示すように OKT 3 (pan T cell) はエタノール単独局注時有意な変化は示さなかった。レンチナン併用時には 1 日後、7 日後やや増加傾向を示した。Figure 5 は OKT 4 (helper/inducer T cell) の変化を示したもので、エタノール単独局注では変動はほとんどみられなかった。レンチナン併用時には OKT 4 は前 44.7% に対し 1 日後 50.3%、

Table 1. Changes of NK activity and T cell subsets in PEIT with and without Lentinan

	Lentinan (-)			Lentinan (+)		
	Bef.	1 day	7 days	Bef.	1 day	7 days
NK	26.1 ± 13.0	15.9 ± 11.1*	21.1 ± 17.1	21.5 ± 14.4	21.8 ± 16.9	30.3 ± 14.5*
OKT 3	69.3 ± 9.1	70.3 ± 8.8	69.5 ± 10.7	68.5 ± 10.9	71.9 ± 10.9	72.3 ± 10.7
OKT 4	45.5 ± 6.9	46.7 ± 9.9	46.1 ± 8.8	44.7 ± 8.9	50.3 ± 11.4*	49.3 ± 11.1*
OKT 8	26.2 ± 8.7	24.4 ± 7.4	24.7 ± 8.0	25.4 ± 8.3	22.4 ± 6.5	24.4 ± 7.4
4/8	1.9 ± 0.8	2.1 ± 0.9	2.1 ± 1.0	2.0 ± 0.9	2.5 ± 1.1*	2.3 ± 1.0

* p<0.05

7日後49.3%といずれも有意の増加がみられた。Figure 6はOKT 8 (suppressor/cytotoxic T cell) の変動を示す。エタノール単独

局注時には1日、7日後ともにやや低下傾向がみられた。またレンチナン併用時にも前25.4%から1日後22.4%と低下したが有意ではな

かった。Figure 7はOKT 4/OKT 8比の変動を示す。エタノール単独時では著明な変化を認めなかった、これに対してレンチナン併用時には前2.0に対し1日後2.5と有意の増加がみられ7日後も2.3と増加していた。

4) 症 例

Figure 8は51歳男性の肝細胞癌に対し、PEITを施行しNK活性およびリンパ球サブセットの変化を経時的に示したものである。S₉領域にある径3cmの腫瘍に対し3回エタ

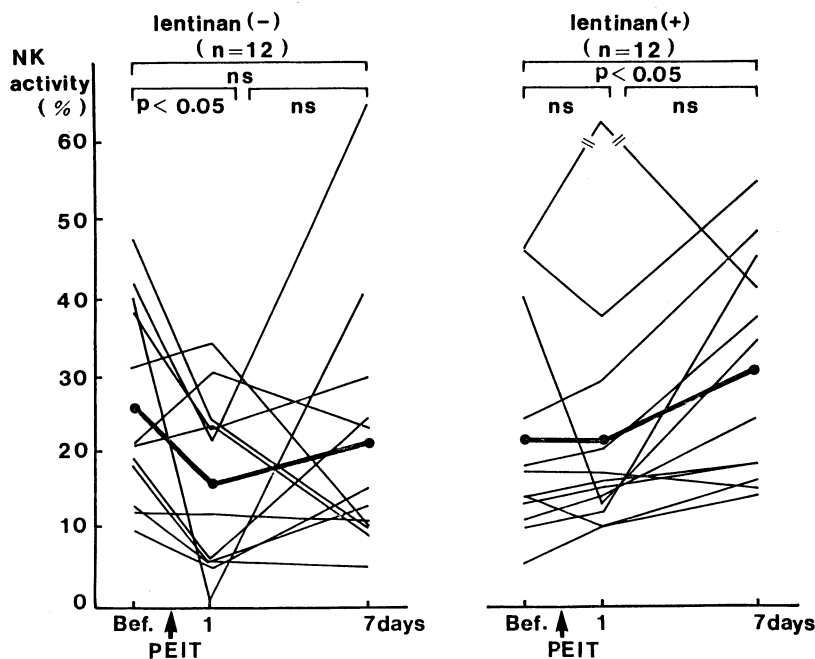


Fig. 3. Changes of NK activity after PEIT with and without Lentinan

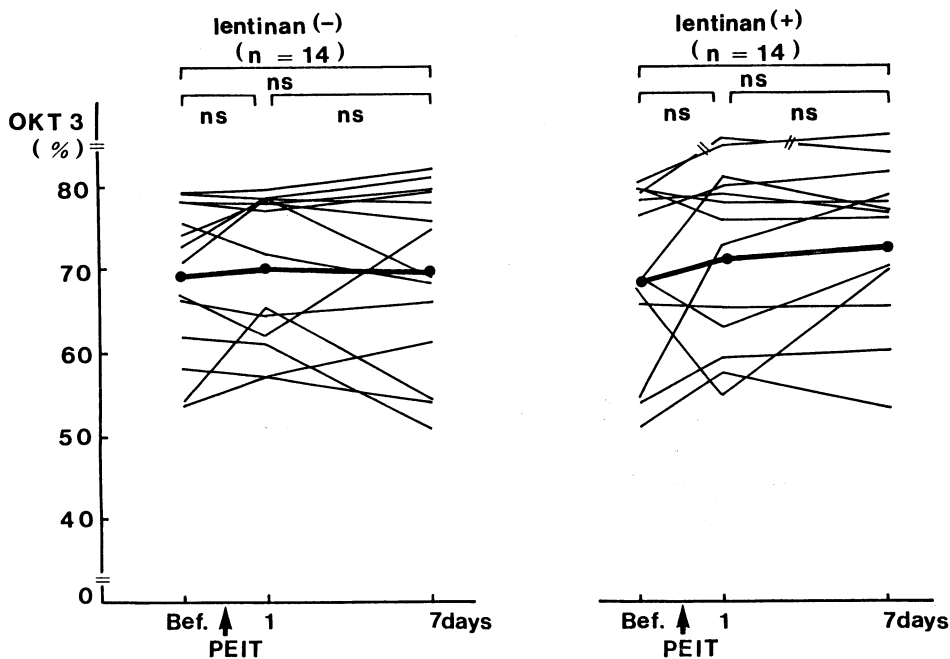


Fig. 4. Changes of OKT 3 after PEIT with and without Lentinan

ノール局注を行い、1、3回目はエタノール単独、2回目はレンチナン3mgの併用局注を行った。NK活性は1、3回目の局注後翌日には低下を認めたが、レンチナンを併用した2回

目はNK活性は明らかな増加を示した。リンパ球サブセットに関してはOKT4は局注翌日には増加傾向を示し、OKT8は低下傾向を示したが、有意な変化ではなかった。

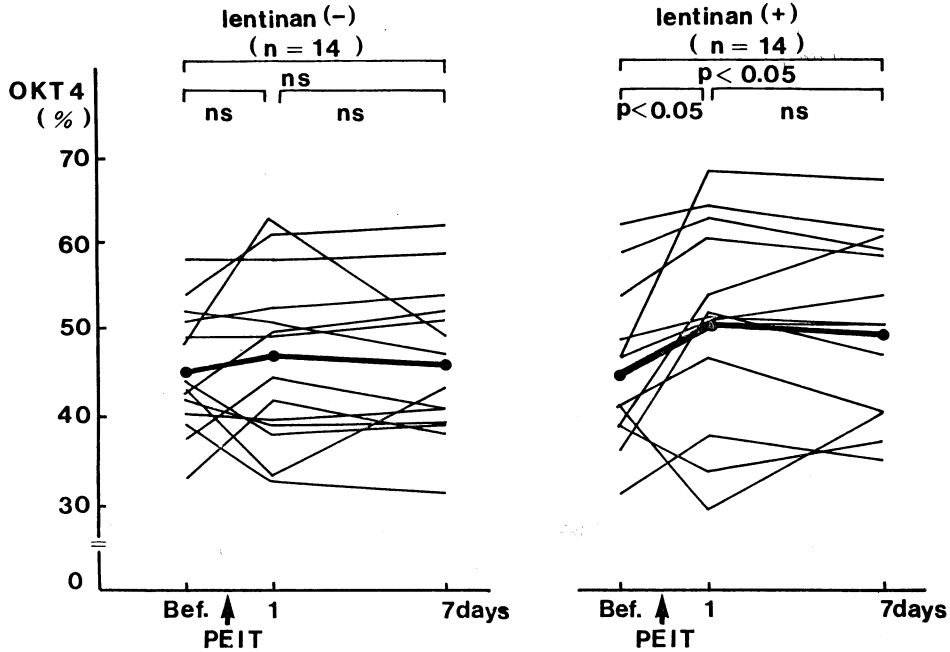


Fig. 5. Changes of OKT 4 after PEIT with and without Lentinan

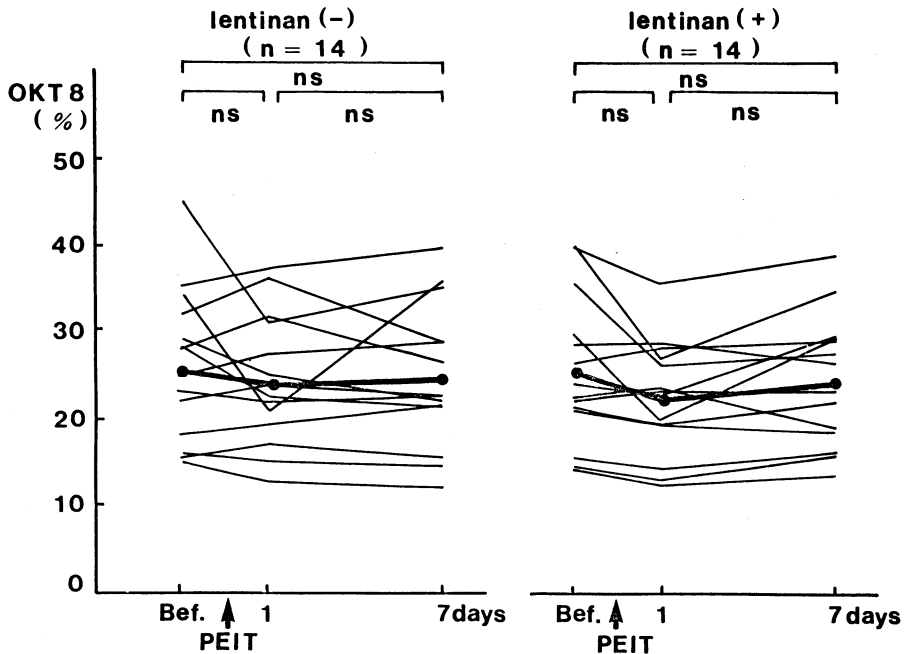


Fig. 6. Changes of OKT 8 after PEIT with and without Lentinan

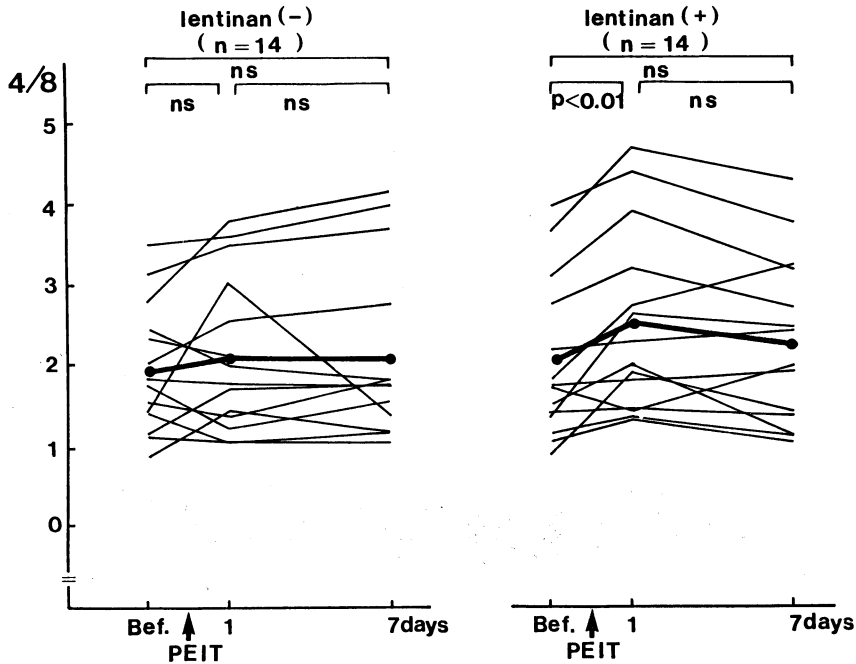


Fig. 7. Changes of 4/8 ratio after PEIT with and without Lentinan

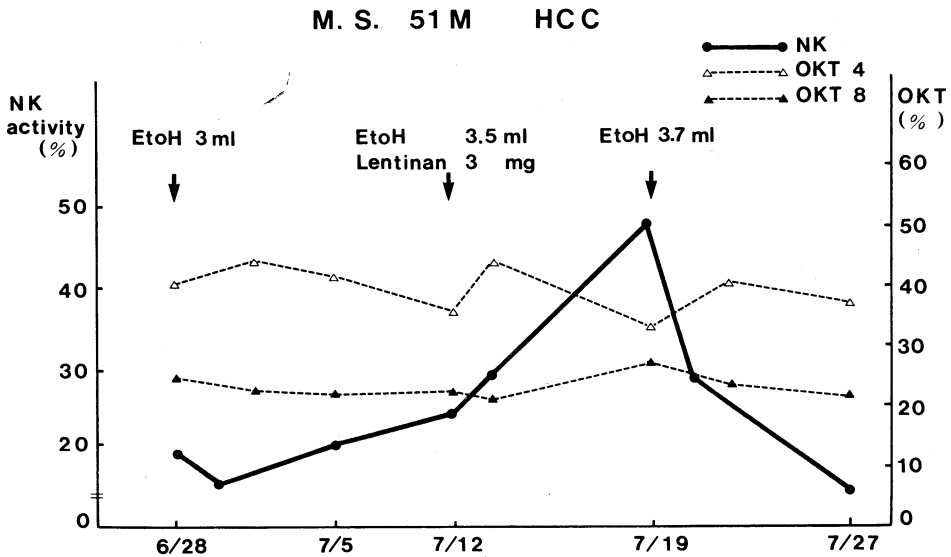


Fig. 8. Serial changes of NK activity and T cell subsets in a patient of HCC with PEIT. Combined use of Lentinan increased NK activity

考 察

肝細胞癌の治療法として PEIT が1983年をはじめわが国で報告¹⁾されて以来、急速に広がり、TAEに劣らず十分な壊死効果を示す方法として注目されている。われわれも、現在

TAEとともに、肝癌治療の一つとして PEIT をとり入れている。これらの成績の一部はすでに報告した。²⁾今回は PEIT 時にレンチナンを同時に局注し、NK 活性やリンパ球サブセットに及ぼす変化について報告した。TAE にお

る NK 活性等の免疫能に及ぼす影響については、すでにいくつかの報告がみられる。^{3)~5)} これらの報告に共通している点は TAE 後 NK 活性は有意に低下し 3~4 週後に回復するとされている。今回 PEIT において NK 活性は PEIT 翌日には有意に低下し、1 週後にほぼ回復するという結果を得た。またレンチナン併用局注時には NK 活性は低下せず、1 週後にはむしろ有意の増加を示すという結果であった。レンチナンの抗腫瘍効果は、NK 前駆細胞を成熟活性化せしめ helper T 細胞から産生される各種リンフォカインに対する応答性を高めることが知られている。⁶⁾ レンチナンは静脈内投与により胃癌や乳癌患者の NK 活性を増加させる。⁷⁾ また内視鏡下の局注により胃癌患者で NK 活性の有意の上昇を示した⁸⁾ との報告がみられる。松永ら⁹⁾ は胃癌に局注した例で末梢血 NK 活性の増加を認めた理由として、一つはレンチナンが血管系を通して大循環に流入したため、今一つは局所でレンチナンにより賦活されたリンフォカインが末梢血中へ流入したためとしている。今回エタノール局注時にレンチナン局注を併用し、レンチナンが NK 活性の低下を予防し、抗腫瘍免疫能を賦活したと考えられ、レンチナンの局注併用は有意義であったと思われる。レンチナンは NK 活性の賦活のみならず、活性化マクロファージ、細胞傷害性 T リンパ球の誘導を増強する作用もあるといわ

れ、^{10) OK 432^{4), 5), 11)} と同様に強力な免疫賦活作用が期待される。今後さらにレンチナンの単独局注における NK 活性の変化等について検討を進める予定である。}

結 語

肝細胞癌 15 例に対しエタノール局注療法を施行し、生体免疫系に及ぼす影響について検討した。さらにレンチナン局注の併用による変化について検討し、次の結果を得た。

1. エタノール単独局注時には、NK 活性は 26.1% から 1 日後 15.9% へと有意の低下がみられた。
2. レンチナン併用局注時には、NK 活性は 21.5% に対し 1 日後 21.8%、7 日後 30.3% と低下は示さず、7 日後にはむしろ有意の増加を示した。
3. リンパ球サブセットの変化は、エタノール単独局注前後で変動はほとんどみられなかったが、レンチナン併用時には OKT4 の増加、4/8 比の上昇が認められた。
4. 以上の事実から、レンチナンの局注を PEIT 時に併用することは、抗腫瘍免疫の賦活の面から有用であると思われた。

本論文の要旨は第30回日本消化器病学会大会（昭和63年10月、鹿児島）において発表した。本研究は川崎医科大学プロジェクト研究 63-203 の補助による。

文 献

- 1) 杉浦信之、高良健司、大藤正雄、奥田邦雄、広岡昇：超音波映像下経皮的腫瘍内エタノール注入による小肝細胞癌の治療。肝臓 24：920、1983
- 2) 山本晋一郎、齋藤逸郎、和田あゆみ、高取敬子、井手口清治、山本亮輔、大元謙治、大海庸世、日野一成、平野寛：肝癌に対するエタノール局注療法。川崎医学会誌 14：586-593、1988
- 3) 大崎往夫、清水達夫、伊藤克彦、樋口拓：肝細胞癌に対する動脈塞栓療法における免疫学的パラメータの変動—NK, ADCC 活性を中心に—。消化器と免疫 14：216-220、1985
- 4) 田中正俊：肝細胞癌に対する肝動脈塞栓術前後の患者末梢血 NK 活性の変化について。肝臓 28：1196-1201、1987
- 5) 大元謙治、山本晋一郎、山本亮輔、井手口清治、古城研二、齋藤逸郎、和田あゆみ、山本真理子、大海庸世、日野一成、平野寛：肝細胞癌に対する OK-432 動注併用肝動脈塞栓術 (TAE) の試み—NK 活性におよぼす影響—。Biotherapy 2：741-747、1988
- 6) 千原呉朗：癌の免疫療法。多糖類、図説臨床〔癌〕シリーズ No.19、癌と免疫。東京、メジカルビュー社。1987、pp. 102-109

- 7) 網野光人, 野口律子, 矢田純一, 松村寿太郎, 平山廉三, 阿部令彦, 榎本耕治, 朝戸 裕: ヒトリンパ球に対するレンチナンの免疫賦活作用について. II. In vitro の検討. 癌と化療 10:2000—2006, 1983
- 8) 稲垣貴史, 森瀬公友, 松永勇人: 胃癌症例における内視鏡下レンチナン局注の検討. 癌と化療 15:319—324, 1988
- 9) 松永勇人, 森瀬公友, 稲垣貴史: 胃癌患者における内視鏡下レンチナン局注による免疫応答能の検討. Oncologia 21:106—111, 1988
- 10) 秋山由紀雄, 羽室淳爾: 多糖の抗腫瘍性発現の機序と免疫学的性状の特徴. 蛋・核・酵 26:208—224, 1981
- 11) 大崎往夫, 国立裕之, 樋口 拓, 伊藤克彦, 高松正剛, 清水達夫: OK 432 を併用した肝細胞癌に対する動脈塞栓療法の免疫学的側面. 消化器と免疫 17:220—224, 1986