

頭頸部癌に対するBRM療法の免疫パラメータ

奥平唯雄

Biological Response Modifier Therapy for Head and Neck Cancer

Tadao Okudaira

(Tokyo Medical College)

One of the important factors in improving the prognosis of head and neck cancer patients treated with combined therapy is the enhancement of the immunological response of the patients.

Biological Response Modifiers (BRM) are expected to increase this response in cancer patients by augmenting host defence mechanisms. A comparative study was performed on patients with head and neck cancer, who received primary therapy, to evaluate the clinical effectiveness of BRM (lentinan). Twenty two patients were injected intravenously with 2 mg of lentinan once a week (lentinan group).

A control group of 23 patients received no lentinan therapy. The clinical effectiveness of lentinan therapy was verified by significant improvements in some of the immune responses. Natural killer cell activity and phytohemagglutinin biogenesis were increased, and immunosuppressive acidic protein and squamous cell carcinoma related antigen were decreased in the lentinan group.

Prolongation of the life span occurred in advanced stage III and stage IV patients.

These results suggest that lentinan therapy is useful to some extent in the treatment of patients with head and neck cancer.

Key words: head and neck cancer, BRM, immuno therapy, lentinan, IAP

緒言

悪性腫瘍の治療において現在では放射線照射や、外科的切除さらに化学療法による治療が重要であることは言うまでもないが、その後の治療経過を良好なものにするためには、担癌宿主の免疫機構の温存も重要な因子の一つである。近年、Biological Response Modifier (BRM) で生体の非特異的免疫能を回復させることにより、放射線療法、化学療法による免疫能の低下が改善され、また転移や再発防止に役立つのではな

いかと期待されている。BRMの一つであるレンチナンはシイタケより抽出、精製された抗腫瘍性多糖体¹⁾、マクロファージの分化増強、細胞障害性T細胞の誘導増強、NK細胞活性の誘導などが主な作用であることが知られている²⁾³⁾。そこで、頭頸部癌患者に対し、レンチナンによる補助療法を施行し、臨床経過と免疫パラメータの変動および生存率について検討評価を行ったので報告する。

対象および方法

対象は、東京医科大学病院耳鼻咽喉科にて一次治療を行った頭頸部癌患者45症例で、これをレンチナン投与群とレンチナン非投与群(対照群)に分け比較検討した。症例の内訳は表1の如くである。対照群に舌癌が多く、レンチナン投与群に下咽頭、喉頭癌が多い傾向が見られたが、 χ^2 検定の結果、両者に差を認めなかった。

レンチナンの投与は、原則として治療開始時より週1回2mg投与し、以下に列挙するパラ

表1 対象症例

		対照群	レンチナン群
年齢		平均61歳 (38~85)	平均62歳 (32~78)
性	男	18例	21例
	女	5	1
部位	上咽頭	4例	3例
	中咽頭	3	2
	下咽頭	4	7
	喉頭	3	8
	舌	9	1
	口腔底	0	1
Stage	I	3例	5例
	II	4	4
	III	7	5
	IV	9	8
計		23例	22例

メータを治療開始前、治療開始直後、治療開始1カ月後、治療開始3カ月後、そしてその後は3カ月毎に測定した。

BRMの作用機序の追求には免疫系の変動を多角的に捕らえる必要がある。このため免疫パラメータとして、OKT4, OKT8, Leu7, Leu11a, NK細胞活性, phytohemagglutinin (PHA) リンパ球幼若化反応, immunosuppressive acidic protein (IAP), squamous cell carcinoma related antigen (SCC 抗原) を選び、それぞれについて次に述べる方法により測定を行った。すなわち、OKT4, OKT8, Leu7, Leu 11aなどのリンパ球サブセットはモノクローナル抗体を用いたflow cytometryにより測定した。NK細胞活性は、標的細胞として⁵¹Cr 標識 K562細胞を用い⁵¹Cr release assayにより測定した。PHAリンパ球幼若化反応は、³H-thymidineのリンパ球への取り込みにより測定した。腫瘍マーカーのIAPはSRID法により、SCC抗原はサンドイッチ法により測定した。

結果

1) OKT4の変動(図1)

対照群, レンチナン投与群ともに治療直後に低下した。しかしレンチナンを投与しない対照群では臨床経過にともない低下し、治療開始後3カ月の時点では治療前の値と比べて有意に低

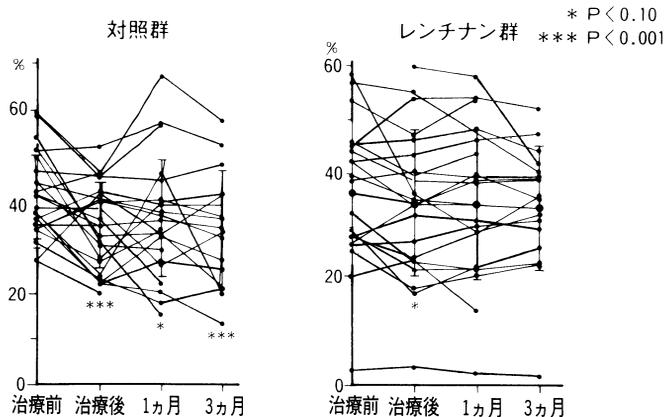


図1 OKT4の変動

下していた ($P < 0.001$). レンチナン投与群では治療直後に低下を見せるもののその後変動なく, 治療開始後3カ月の時点では治療前の値と比べて有意差を認めなかった.

2) OKT8の変動(図2)

対照群では臨床経過に伴う変化はほとんど認められなかった. レンチナン投与群では臨床経過に伴う増加傾向が観察されたが, 有意差は見られなかった.

3) OKT4/8の変動(図3)

対照群では治療直後に下降し, 治療1カ月後には一旦回復を見せるが, 治療開始3カ月後にはまた下がる傾向が見られた. レンチナン投与群では, 臨床経過に伴う変動は見られなかった.

4) Leu7の変動(図4)

対照群, レンチナン投与群ともに臨床経過に伴い上昇する傾向が見られ, 治療開始3カ月の時点では, 両群とも治療前値に比べて有意 ($P < 0.05$) に上昇した. しかし5%の有意を示す上昇は対照群が3カ月後であるのに対し, レンチナン投与群では1カ月後ですでに有意の上昇が見られた.

5) Leu 11aの変動(図5)

対照群, レンチナン投与群ともに臨床経過に伴う変動は見られず, レンチナン投与の Leu11a に対する影響は見られなかった.

6) NK 細胞活性の変動(図6)

対照群では臨床経過中の変動は見られなかつ

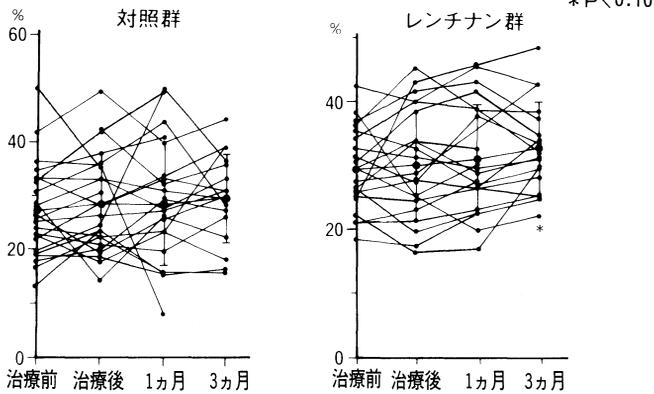


図2 OKT8の変動

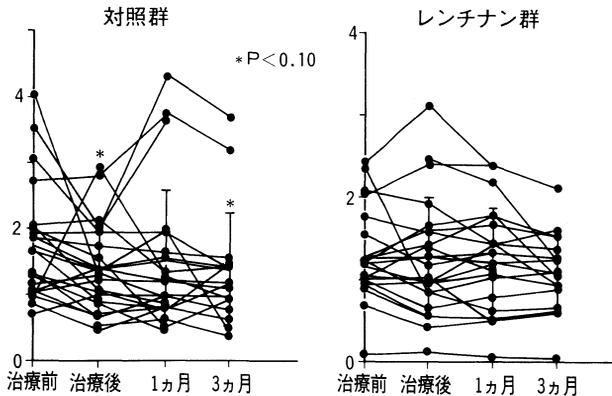


図3 OKT4/8の変動

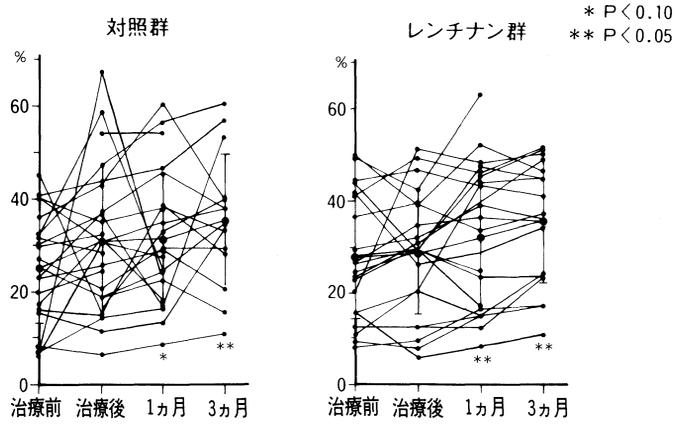


図4 Leu 7の変動

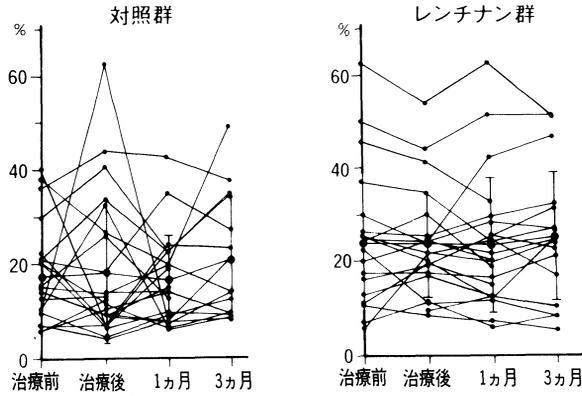


図5 Leu 11aの変動

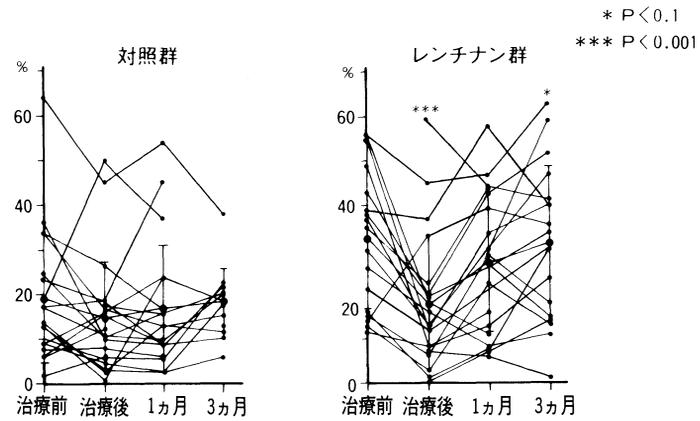


図6 NK細胞活性の変動

たが、レンチナン投与群では治療開始直後に一旦有意 ($P < 0.001$) に低下した値が、3カ月後にはほぼ前値まで回復した。

7) PHAリンパ球幼若化反応の変動(図7)

対照群では治療開始直後でも有意 ($P < 0.001$) に低下し、さらに治療開始1カ月後でも有意の低下 ($P < 0.05$) を見せたが、レンチナン投与群では、治療開始直後に有意な低下 ($P < 0.05$) を見せるものの急速に回復し、治療開始1カ月後には治療開始前値との間には有意差は認められなかった。

8) SCC 抗原の変動(図8)

対照群では臨床経過中有意の変動は見られなかったが、レンチナン投与群では、治療開始直

後から低下し1カ月後には有意の低下 ($P < 0.05$) が認められた。その後上昇例もあるが多くは低下した状態であった。ただし3カ月の時点での有意性の検索では10%の有意でいわゆる低下傾向と判定された。

9) 血清 IAP 値の変動(図9)

対照群では経過中の変動は見られなかった。レンチナン投与群では治療開始後1カ月、3カ月と経るに従い漸次低下し、3カ月の時点では治療開始前値との間に有意差 ($P < 0.05$) が認められた。

10) 生存率(図10, 11, 12, 13)

全症例における生存率は、対照群が50%までほぼ一定の生存率低下を示すのに対して、レン

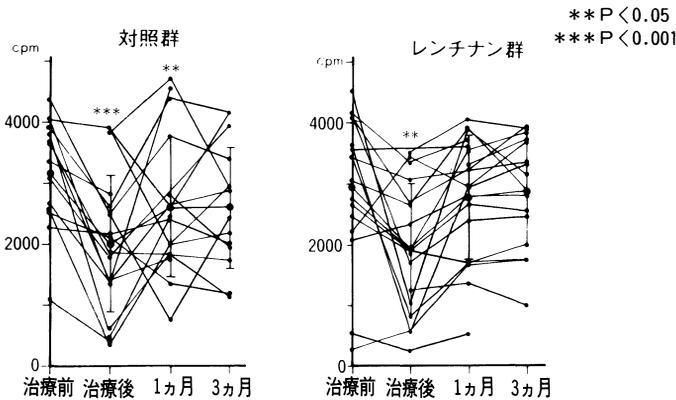


図7 PHAリンパ球幼若化反応の変動

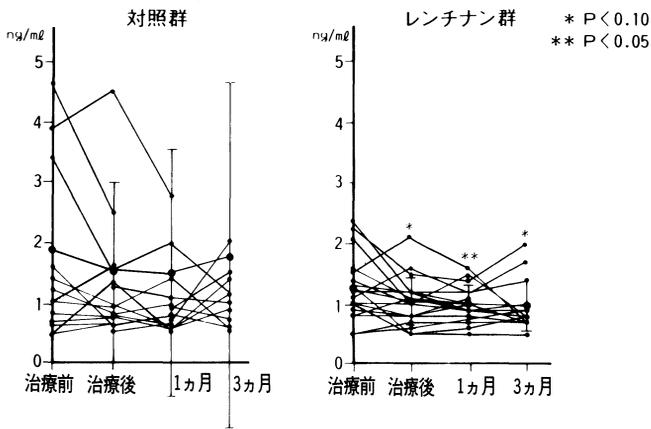


図8 SCC抗原の変動

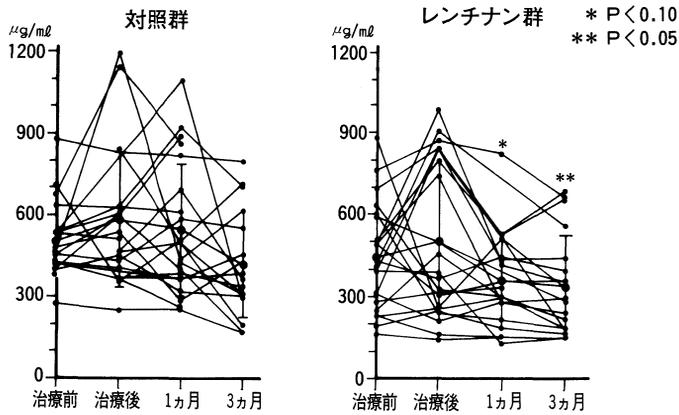


図9 IAPの変動

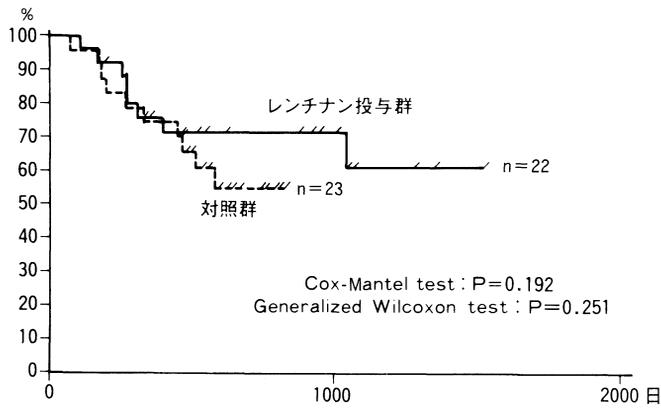


図10 全症例におけるレンチナン投与群と対照群の生存曲線

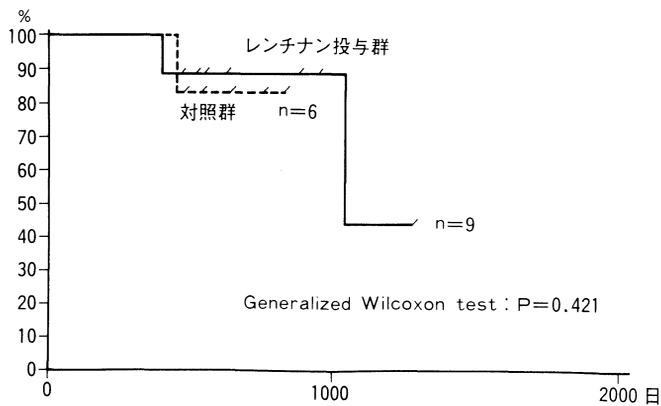


図11 Stage I, II におけるレンチナン投与群と対照群の生存曲線

チナン投与群では曲線の低下が小さくなる傾向が認められた。しかし Cox-Mantel test や Generalized Wilcoxon test では対照群，レンチナン投与群の両者に差は見られなかった(図10)。これを Stage 別に検討すると Stage I, II では有意差はなかったが(図11)，Stage III, IV では、レンチナン投与群が対照群に比べて有意な生存期間の延長が認められた(図12)。また，Stage III, IV で，治療前と3カ月後を比較して血清 IAP 値が上昇した群と低下した群について生存率を検討すると，血清 IAP 値が低下した群に有意な生存期間の延長が認められた(図13)。

考 察

癌患者の免疫能は，その進行にともない低下

することが知られている⁴⁾⁵⁾。この免疫抑制機構の一担を担う細胞として，サプレッサーマクロファージやサプレッサーT細胞，その他種々の血清糖蛋白質が挙げられてきた。このように低下した免疫能を BRM により改善することができれば，従来の治療法による効果がさらに高まることが期待できる。BRM の一つであるレンチナンは動物実験モデルにおいて細胞免疫能を高めることが明らかにされている³⁾。一方ヒトでは，レンチナンの静注により末梢血の OKT4/8 比⁶⁾，NK細胞活性⁷⁾，IL-2 産性能⁸⁾ が上昇することが報告されている。そこで今回，頭頸部癌に対する BRM 補助療法について，レンチナン投与群と非投与群における臨床経過と

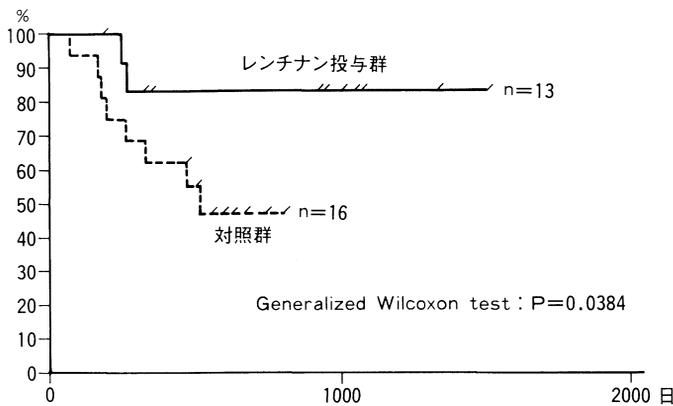


図12 Stage III, IV におけるレンチナン投与群と対照群の生存曲線

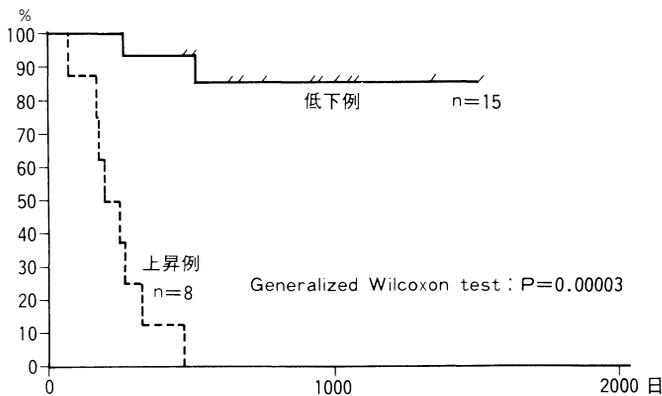


図13 Stage III, IV で血清 IAP 値が上昇した例と低下した例の生存曲線

免疫パラメータを追求し、検討を行ったわけである。

OKT4 および OKT8 については、他の領域の癌での報告があり、例えば胃癌患者の OKT4/8 比と癌の進行度とは、相関があるとされている⁹⁾。今回の結果では、OKT4 は、対照群において、外科的切除や、放射線照射、化学療法などの治療により低下を見せ、治療開始3カ月の時点でも、治療前値までの回復は見られなかった。レンチナン投与群では3カ月の時点で治療開始前値までの回復を見せた。OKT8 については、対照群、レンチナン投与群ともに臨床経過に伴う変動はほとんどなかった。しかし、OKT4, 8 いずれも正常範囲内での変動であり、これは頭頸部癌に対して同様に OKT4, OKT8 について測定した Furusaka らの報告と一致しており¹⁰⁾、他の領域の癌種と異なっていることが示唆された。

NK 細胞については、今まで多くの報告があり、その役割はウイルス感染細胞に対する障害活性や自己の造血リンパ球系細胞に対する障害活性など種々言われているが、最も重要なものとして腫瘍細胞に対する障害活性があげられている^{11)~13)}。生体内の NK 細胞は、抗原特異性を有さず幅広い killer 活性を呈し、腫瘍発生の初期の段階では、その予防や抑制に関与していると言われている。ただし担癌状態が進行すると NK 細胞数の減少と相まって、免疫抑制物質の阻害により NK 細胞活性の低下が見られる。つまり NK 細胞活性は、患者の免疫能をある程度反映すると言われている。今回の結果では、レンチナン投与により、低下した NK 細胞活性を早期に回復させる作用もあることが認められた。

Leu7 については、従来 NK 細胞のマーカー抗原ではないかとされていたが、two color analysis では、Leu7 陰性で CD16 陽性のものに強い NK 活性が存在するとされており、Leu7 陽性で CD8 陽性のものはむしろサプレッサー T 細胞としての機能を持つとされてい

る^{14)~16)}。今回の結果では、対照群、レンチナン投与群ともに臨床経過にともない上昇傾向を示したが、レンチナン投与群では早期に有意の上昇が認められた。ただし今後 two color flow cytometry によるより細かな測定が必要であると思われた。Leu 11a は NK 活性とよく相関すると言われているが¹⁵⁾¹⁶⁾、今回の結果では臨床経過に伴う変動はほとんど認められず、レンチナン投与に対する効果もほとんど認められなかった。ただし標的細胞として ⁵¹Cr 標識 K562 細胞を用い ⁵¹Cr release assay により測定した NK 細胞活性は、放射線照射や、化学療法などにより一旦低下を見せるが、レンチナン投与により治療開始3カ月後には再び前値にまで回復し、免疫低下の抑制が認められた。このことは、PHA リンパ球幼若化反応についても同様の結果であった。

SCC 抗原 (squamous cell carcinoma related antigen) は、子宮頸部扁平上皮癌の腫瘍マーカーとして加藤ら¹⁷⁾によって開発された tumor antigen-4 (TA-4) の亜分画であるが、その後、子宮頸癌のみでなく、肺癌、食道癌などの扁平上皮癌にも高濃度に見出され、扁平上皮癌に特異性の高いマーカーとして他の領域の癌にも広く臨床応用されるようになってきている^{17)~19)}。木田らの報告²⁰⁾では頭頸部扁平上皮癌における SCC 抗原の陽性率は、1.5 ng/ml を正常値とした場合、鼻腔癌で33.3%、上顎洞癌で84.6%、上咽頭癌で11.1%、中咽頭癌で57.1%、下咽頭癌で50.0%、口腔癌で40.4%、喉頭癌で50.0%との報告があり、また、SCC 抗原の上昇は腫瘍容積との関連が高く、手術によって腫瘍が取り除かれると SCC 抗原は速やかに下降する。ともかく、SCC 抗原測定は微小腫瘍の早期発見に対してあまり鋭敏な検査とは言えず、また患者の免疫能を直接反映するものではない。経時的なモニターとしての意義のほうが高いと思われる。今回の結果ではレンチナン投与群が対照群に比べて低下する傾向が見られたが、これはレンチナン投与により患者の免疫能を高め

た結果何らかの治療効果があったためとも考えられる。

IAPは松田らが担癌マウスと担癌患者の血清中に見出し、免疫活性抑制作用が証明されており²¹⁾²²⁾、サプレッサーマクロファージに由来し免疫抑制作用を呈することが示唆されている²³⁾。IAPは、SCC抗原とは異なり腫瘍抗原を用いて腫瘍の有無を測定しているわけではないが、担癌患者の生存期間と密接に関係しているとも言われており²⁴⁾、頭頸部癌の進展、再発例でもIAPが高値を示すと報告がある²⁵⁾。今回の結果では、対照群では臨床経過を通じて、はっきりとした変動は見られなかったが、レンチナン投与群では、治療開始後1カ月、3カ月の時点で低値を取り、3カ月の時点では治療開始前値と比較して有意な低下を見せた。IAPはマクロファージ由来の免疫抑制因子であり、マクロファージの免疫調節機能の指標でもあることから、レンチナンがマクロファージの免疫調節機能を高めていることが示唆された。また、Stage III、IVの症例で、治療前と治療開始後3カ月とを比較してIAP値が低下した群と上昇した群に分けて生存率を検討すると、低下した群に著しい生存期間の延長が認められ、IAPは頭頸部癌において予後を反映するパラメータとして有用であると思われた。

マウスでの実験によると、レンチナンは正常T細胞には作用しないが、担癌状態において低下した細胞性免疫能を回復させる作用があるとの報告がある^{26)~28)}。このことから、レンチナンは生存率を改善させる効果があると推定される。今回この推定を裏付ける結果が得られた。すなわち、レンチナン投与群と、レンチナンを投与しなかった対照群との間で生存率を比較すると、Stage I、IIでは両群に差を認めなかったが、Stage III、IVに限って見てみるとレンチナン投与群に有意な生存期間の延長が認められ、Stageが進行し免疫の抑制された状態においてレンチナン投与の効果が現れることが示唆された。

以上より、IAP測定は頭頸部癌患者の予後を推定する上で有用であり、またBRM(レンチナン)投与によりIAP値を低下させることができることが確認できた。そしてレンチナンはStage III、IVでは少なくとも生存期間の延長については有効な薬剤であると言える。

まとめ

1. 頭頸部癌に対するBRM(レンチナン)補助療法について、臨床経過と免疫パラメータの面から検討した。
2. OKT4, NK細胞活性, PHAリンパ球幼若化反応, SCC抗原, IAPにおいてレンチナン投与により治療後の免疫パラメータの改善が見られた。
3. 予後を反映するパラメータとしてIAPは有用であると思われた。
4. Stage III, IVにおいて、レンチナン投与により生存期間の延長が見られた。

文献

- 1) Chihara G, Maeda Y, Sasaki T, et al: Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharide from lentinus edoes (Berk) Sing. *Nature* **222**: 687~688, 1969.
- 2) Hamuro J, Takarada M, Kasima N, et al: Lentinan induced augmented killer T cell generation from thymocytes is due to the elevated susceptibility to helper factor (s). *Int J Immunopharmacol* **2**: 171, 1980.
- 3) 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 — 特異的免疫応答と非特異的免疫応答に及ぼす効果 —. *蛋白質核酸酵素* **26**: 208~224, 1981.
- 4) 折田薫三, 三輪恕昭, 河合知則: リンパ球芽球化現象から. *癌の臨床* **24**: 208~224, 1981.
- 5) 亀井秀雄: 各種免疫パラメータの相関性. *癌の臨床* **24**: 948~955, 1978.
- 6) 小坂昭夫, 住吉健一, 安藤二郎, 他: 進行再発乳癌に対するレンチナンの投与効果(特に長期生存例に対する検討). *Biotherapy* **2**: 578~585, 1988.
- 7) 高橋 誠, 高井 満, 小川正憲, 他: 胃癌患者のリンパ球サブセットとLentinan投与の影響

- Two Color Flow Cytometry での検討—
 Biotherapy 2 : 403~407, 1988.
- 8) 清水敬生, 陳 瑞東, 平井康夫, 他: レンチナンによる子宮頸癌患者の骨盤内リンパ節リンパ球の IL-2 産生能および LAK 活性の増強効果. 医学のあゆみ 147 : 137~138, 1988.
 - 9) Watanabe T, Nakauchi H, Kitaoka H, et al : T-cell subsets in patients with gastric cancer. Oncology 42 : 89~91, 1985.
 - 10) Furusaka T, Yokode Y, Nakajima M, et al : T-lymphocyte subsets in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. Auris Nasus Larynx (Tokyo) 13 Suppl 1 : 143~148, 1986.
 - 11) 熊谷勝男, 伊藤恭悟: NK 細胞の役割. 日本臨床 42 : 859~868, 1984.
 - 12) 武田哲男, 古内一郎, 馬場廣太郎, 他: 頭頸部悪性腫瘍患者における T 細胞亜群と NK 細胞について —FACS による解析—. 日耳鼻 88 : 1652~1658, 1985.
 - 13) 高橋 豊, 崎山幸雄, 松本修三: NK 細胞と NK 活性. 小児科 MOOK 43 : 42~50, 1986.
 - 14) 安保 徹: モノクローナル抗体を用いたヒト NK 細胞の解析. 最新医学 39 : 51~55, 1984.
 - 15) Abo T, Miller CA and Balch CM : Characterization of human granular lymphocyte subpopulations expressing HNK-1 (Leu7) and Leu 11 antigens in the blood and lymphoid tissues from fetuses, neonates and adults. Eur J Immunol 14 : 616~623, 1984.
 - 16) Lanier LL, Le AM, Phillips JH, et al : Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu 7 (HNK-1) and Leu 11 (NK-15) antigens. J Immunol 131 : 1789~1796, 1983.
 - 17) Kato H and Torigoe T : Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. Cancer 40 : 1621~1628, 1977.
 - 18) 今井 規: 蛍光抗体法による子宮頸癌の診断, 特に特異抗原の所在部位について. 日臨細胞誌 10 : 248~254, 1971.
 - 19) Kagabu T : Application of the immunofluorescent antibody technique to the diagnosis of the cervical cancer. J Jap Obst & Gynec Soc 14 : 13~20, 1967.
 - 20) 木田亮紀, 横出 裕: 腫瘍マーカー. JOHNS 7 : 575~578, 1991.
 - 21) 松田好史, 本木宏明, 石田名香雄, 他: 担癌マウス血清中に見出された免疫抑制活性を示す酸性蛋白. 医学のあゆみ 102 : 747~749, 1977.
 - 22) 松田好史, 田村啓二, 石田名香雄, 他: 癌患者血清中に存在する免疫抑制蛋白の性状. 医学のあゆみ 105 : 154~156, 1978.
 - 23) 柴田芳美, 石田名香雄: 免疫抑制蛋白 (IAP) とマクロファージ. 医学のあゆみ 126 : 631~634, 1983.
 - 24) 古江 尚, 込田暉夫, 箱崎美砂子, 他: 化学療法, ならびに免疫療法での免疫学的パラメータに関する研究 —第3報; IAP (Immunosuppressive Acid Protein)—. 癌と化学療法 7 : 223~230, 1980.
 - 25) 斎藤久樹, 朴沢二郎, 盛 庸, 他: 頭頸部悪性腫瘍患者血清中の免疫抑制蛋白 (IAP) 値の検討. 耳鼻臨床 77 : 1481~1488, 1984.
 - 26) Maeda YY, Hamuro J and Chihara G : The mechanism of action of antitumor polysaccharides I ; the effect of antilymphocyte serum on the antitumor activity of lentinan. Int J Cancer 8 : 41~46, 1971.
 - 27) Maeda YY and Chihara G : The effects of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan, carboxymethylpachymaran and zymosan, and their effects on various immune responses. Int J Cancer 11 : 153~161, 1973.
 - 28) Maeda YY Hamuro J and Yamada Y : The nature of immune-potential by the antitumor polysaccharide lentinan and the significance of biogenic amines in its action. Chiba Found Symp 18 : 251~286, 1973.

(原稿受付: 平成3年9月12日
 原稿採択: 平成3年10月29日 急載
 別刷請求先: 奥平唯雄
 〒160 東京都新宿区西新宿6-7-1
 東京医科大学耳鼻咽喉科学教室)