泌尿紀要30巻10号
1984年10月

腎癌における腫瘍免疫の研究

—白血球粘着阻止試験の意義—

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神　襄次教授）
岡　田　泰　長

STUDY ON THE TUMOR IMMUNITY OF RENAL CELL CARCINOMA

Yasunaga OKADA
From the Department of Urology, School of Medicin, Kobe University
(Director : Prof. J. Ishigami)

The adherence to glass of peripheral blood leukocytes (PBL) incubated with antigen *in vitro* is specifically inhibited if the PBL are sensitized to the antigen. The presence of leukocyte adherence inhibition (LAI) in a tumor extract indicated the presense of antitumor immunity. Tube LAI assay was performed using renal cancer extract as a specific antigen and bladder cancer extract as a non-specific antigen on patients with renal cancer, malignant renal disease other than renal cell carcinoma, benign renal disease, cancer of organs other than the kidney and in healthy donors. The optimal tumor extract protein concentration was established for the renal tumor extract and control extract by determining the dilution of tumor extract that produced the most specific and the least non-specific inhibition of leukocyte adherence. In this study, the renal cancer extract and control extract were used at 1.0 mg/ml protein concentration. An NAI value greater than 40 was considered a positive reaction, because more than 90% of the control population had values below 40 and more than 85% of the patients with renal cancer had values above 40. PBL from 26 of the 30 patients (87%) with renal cancer responded to extracts of renal cancer, whereas only 1 of the 8 patients (13%) with malignant renal disease other than renal cell carcinoma, 1 of the 10 patients (10%) with benign renal disease and 1 of the 17 patients (6%) with cancer of organs other than the kidney showed a response. None of 6 healthy donors showed a response. There is no remarkable difference of NAI value between low and high renal cancer. Surgery depressed LAI reactivity. The NAI was negative after 5–6 months post operatively in 3 tumor-free patients who had positive LAI reactivity before surgery. Patients with residual tumors showed persistent LAI reactivity after 5 months post operatively.

Further study on the tube LAI assay is recommended because it may be valuable in the differential diagnosis of renal cancer and in monitoring the post operative course.

Key words: Renal cell carcinoma, Tumor immunity, Leukocyte Adherence Inhibition assay

緒　　言

近年腫瘍免疫学の発展により実験動物における化学物質誘発腫瘍やウイルス腫瘍，さらにヒトの腫瘍において腫瘍関連抗原の存在が証明されてきた．この腫瘍関連抗原に対する免疫反応を利用して癌を診断する手段として，コロニー形成阻止試験[1]，殺細胞試験[2]，マクロファージ遊走阻止試験[3]，および白血球遊走阻止試験[4]などがあげられる．しかしこれらの各試験法は操作が複雑であったり，長時間を要するなど臨床上ルチーンにおこなうには困難な点があった．

1972年 Halliday ら[5]によって報告された白血球粘

着阻止試験（Leukocyte Adherence Inhibition assay＝LAI assay）は特異性の高い細胞性免疫に関する検査法で，ヒト乳癌や悪性黒色腫などの免疫学的診断に応用され高い陽性率を示すことが証明された．この LAI assay とは，正常白血球はガラス面に付着するが，ある種の抗原と反応した白血球はその付着能を失う現象を利用して，担癌生体の白血球の同種腫瘍抽出物と他種腫瘍抽出物との反応後のガラス面への粘着能の差を持って腫瘍関連抗原の存在をあきらかにしようとする方法である．

現在 LAI assay は hemocytemeter 法[5,6]，簡略化を目的として tube 法[7~11]および microslide 法[12,13]と3種類の方法によっておこなわれている．今回著者は，泌尿器科領域の悪性腫瘍を対象とした LAI の検討がいまだ不十分で，報告も少いことから，Grosser ら[7]の方法に準じた tube LAI assay を腎癌患者を対象としておこない，若干の知見を得たので報告する．

対象および方法

1）対　象

対象症例は組織学的に腎細胞癌と確認された30例で性別では男子20例，女子10例，平均年齢は59.8歳である．対照は4群よりなりそのひとつは腎細胞癌を除く腎悪性腫瘍症例8例で，その内訳は腎盂移行上皮癌6例，腎悪性リンパ腫1例，腎線維肉腫1例である．性別では男子7例，女子1例，平均年齢56.4歳である．つぎに腎の良性疾患症例10例を第2群の対照とし，その内訳は腎のう胞7例，のう胞腎2例，慢性腎炎1例で，男子5例，女子5例，平均年齢は57.7歳である．いっぽう腎以外の悪性腫瘍症例17例，すなわち膀胱移行上皮癌12例，膀胱悪性リンパ腫1例，前立腺癌1例，尿道移行上皮癌1例，睾丸腫瘍1例および十二指腸腺癌1例を他臓器悪性腫瘍対照とし，性別では男子13例，女子4例，平均年齢66.0歳であった．正常ヒト対照は健康成人8例，男子6例，女子2例，平均年齢33.0歳である．以上を対象として LAI assay を施行した．

2）方　法

a）癌組織抽出液の作製（Fig. 1）

手術時に得られた摘出腫瘍組織を冷却した pH 7.3 の PBS 中で脂肪組織，結合組織および壊死部分を除去後ハサミで細切し，5倍量の PBS を加え，homogenate を作製する．これを 20,000 g，30 分間遠沈しその上清を少量ずつ分注して−70°C で保存する．上清の一部は Lowry ら[14]の方法に従って蛋白濃度を測定しておく．すなわち LAI assay では用いる抗原によって至適蛋白濃度が異なり，最大 LAI 現象を起こさせる最少抗原量が至適濃度とされ，癌組織抽出液での至適抗原量はその抽出液中の蛋白濃度により表現されるからである．実験に際しては腫瘍組織抽出液を室温にて解凍の後，後述する蛋白濃度になるように T-CM 199 培養液にて調整して用いた．

Fresh tumor tissue
↓
Finely minced
↓
Homogenization
↓
Centrifugation (20,000g 30min)
↓
Supernatant
↓
Determination of protein concentration
↓
Stored at −70℃

Fig. 1. Crude Extract

b）Tube Leukocyte Adherence Inhibition assay (Fig. 2)

ヘパリン加末梢血約 20 ml を採取し，滅菌試験管に移し 37°C にて1時間直立静置する．白血球の豊富に含まれた上清を採取し，1,000 r.p.m にて5分間遠沈後上清を捨てる．沈渣に Tris NH_4Cl 緩衝液を加え攪拌，4°C にて15分間静置し混入した赤血球を破壊する．ついで TCM 199培養液を約 3 ml 加えた後遠沈して上清を捨てる．さらに TCM 199培養液にて白血球を2回洗浄後同培養液にて細胞数を 1.0×10^7 cells/mlに調整する．

ガラス試験管（16×150 mm）に上記白血球浮遊液を 0.1 ml，腎癌または他の癌の組織抽出液を 0.1 ml，TCM 199 培養液を 0.3 ml 加え，おのおのの内容液が 0.5 ml となるようにする．対照として，白血球浮遊液 0.1 ml と培養液 0.4 ml のみを混合したものを用いる．上記試験管を水平に置き液面が管壁の 3/4位を被うようにして，5％ CO_2 95％ air，水蒸気飽和 37°C で2時間培養した後試験管を静かに垂直に立て，管底の液をパスツールピペットで軽く攪拌後，液中の細胞数すなわち非粘着細胞数を Türk の血球計算盤にて算出した．実験は同一検体についておのおの3本の試験管を用い，それらの平均値を非粘着細胞数とした．結果は Fig. 2 の式で NAI（Non-Adherence Index）として表現した．今回の specific antigen はもちろん腎癌組織抽出液であり，non-specific antigen としてはおもに対象の項で述べた膀胱癌組織抽

Heparinized blood　20 mℓ
incubated 37℃　60 min.
↓
leukocyte rich plasma
↓　1000 r.p.m　5 min.
cells pelets
10 mℓ Tris buffered $NH_4Cℓ$ solution
↓　4℃ 15 min (lysis of remaining RBC)
washed twice in medium TCM 199
↓
resuspended in medium TCM 199
leukocyte　1.0×10^7 cells/mℓ

	specific tube	non-spcific tube	control
leukocyte	0.1 mℓ	0.1 mℓ	0.1 mℓ
	+		
extract (specific)	0.1 mℓ	+	
			+
extract (non-specific)		0.1 mℓ	
	+	+	
medium (TCM 199)	0.3 mℓ	0.3 mℓ	0.4 mℓ
	↓	↓	↓
	0.5 mℓ	0.5 mℓ	0.5 mℓ
	↓	↓	↓

incubation in humid atmosphere
37℃ 60 min. 5%CO_2
↓
counted non-adherent cells

$$NAI = \frac{A-B}{B} \times 100$$

A : the number of non-adherent cells in the presence of specific antigen (tumor extract)

B : the number of non-adherent cells in the presence of non-specific antigen (unrelated tumor extract)

Fig. 2. Tube LAI assay

出液を用いた．

結　　果

1）癌組織抽出液の至適濃度の検索（Fig. 3, 4）

LAI assay における癌組織抽出液の蛋白濃度と非粘着細胞数および NAI 値との関係を検索した．Fig. 3 は2人の腎癌症例についての成績であるが，specific antigen, non-specific antigen のいずれに対しても非粘着細胞数は蛋白濃度が上がるにしたがって増加するが，1.0～1.5 mg/ml 付近からプラトーとなり，NAI 値はその付近で最高を示し，96と82であった．Fig. 4 は腎盂移行上皮癌症例の成績を示したもので，specific-antigen として腎癌組織抽出液を，non-specific antigen として膀胱癌組織抽出液を用いた時の本症例における非粘着白血球数はやはり蛋白濃度 1.0 mg/ml 付近からプラトーとなり，NAI 値は7と低値であるがその付近で最高を示した．これらの成績から癌組織抽出液の至適蛋白濃度は 1.0～1.5 mg/ml と考えられたので，以下の検査はその濃度にておこなった．

2）癌組織抽出液添加，非添加時の非粘着白血球数（Table 1）

腎癌症例30例および4群の対照症例43例の特異的，非特異的抗原添加時，および抗原非添加時における非粘着白血球数をみると，Table 1 のごとく腎癌症例においては特異的抗原添加時には 64.0±53.2（$\times10^4$/ml）と対照群の 33.9±23.7（$\times10^4$/ml），35.8±29.6（$\times10^4$/ml），34.5±21.0（$\times10^4$/ml）および 31.1±13.5（$\times10^4$/ml）に比べ有意の差をもって非粘着白血球数は多いが，非特異的抗原添加時においては，腎癌症例で 35.9±34.6（$\times10^4$/ml）であり，対照各群の 31.9±26.4（$\times10^4$/ml），32.9±32.0（$\times10^4$/ml），34.0±22.5（$\times10^4$/ml），および 30.5±15.8（$\times10^4$/ml）とほとんど差を認めない．また抗原非添加時においては非粘着白血球数は，腎癌症例および対照各群ともにきわめて少ない．以上より抗原が存在しない場合白血球のガラス粘

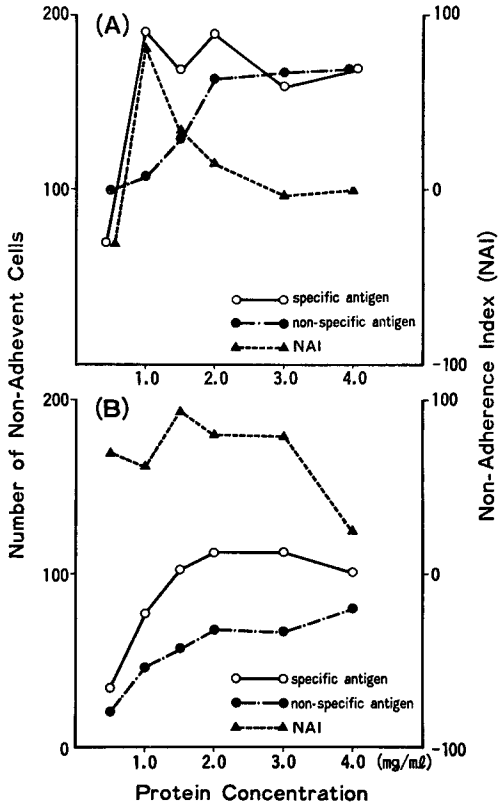

Fig. 3. Titration curves of the tumor extract from patients with renal cancer. (A) Case Ⅰ, 66 y.o. (B) Case Ⅱ, 72 j.o.

着性がきわめて高いこと，および腎癌患者の白血球では腎癌組織抽出液に対する LAI 反応性がきわめて高く特異的であることが証明された．

3） 腎癌症例と対照症例の NAI 値の検討 (Fig. 5, Table 2)

腎癌症例および対照症例の NAI 値は Fig. 5 のごとくであり，腎癌症例と対照各群の NAI 値の平均を比較してみると，腎癌症例では 112.9 で，腎細胞癌以外の腎悪性腫瘍症例の 21.6，腎の良性疾患症例の 16.2，腎以外の他臓器悪性腫瘍症例の10.6および健康成人の7.0に比べると有意に高い．

健康成人はすべて NAI 値40未満であり，他の対照3群ともに1人を除いて NAI 値はすべて40未満であった．逆に腎癌症例においては NAI 値40未満は30人

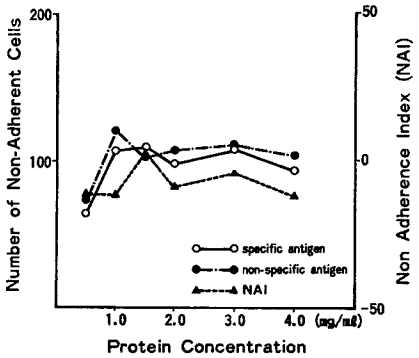

Fig. 4. Titration lcurves of the tumor extract from patients with renal pelvic tumor

Table 1. Mean number of non-adherent cells with or without tumor antigen

	Mean number of non-adherent cells in presense of †		
	specific antigen	non-specific antigen	no antigen
Patients with renal cell carcinoma	64.0±53.2*	35.9±34.6	6.6±7.6
Patients with malignant renal disease other than renal cell carcinoma	33.9±23.7	31.9±26.4	5.1±2.8
Patients with benign renal disease	35.8±29.6	32.9±32.0	2.8±1.9
Patients with cancer of organs other than the kidney	34.5±21.0	34.0±22.5	9.6±12.0
Healthy Donor	31.1±13.5	30.5±15.8	5.9±8.8

※ P<0.01 in comparison to other groups

† mean number ± standard deviation

中4人ときわめて少ないことより，NAI 値40以上を本検査陽性とした．そこで腎癌症例および対照各群の陽性率を示すと Table 2 のごとく，腎癌症例では30例中26例（87%）ときわめて高く，対照各群はおのおの，腎癌以外の腎悪性腫瘍症例で8例中1例（13%），腎の良性疾患症例で10例中1例（10%），腎以外の他臓器性腫瘍症例で17例中1例（6%）ときわめて低い．また健康成人では，本検査陽性を前述のごとく定義したので，陽性を示した者は1人もいなかった．

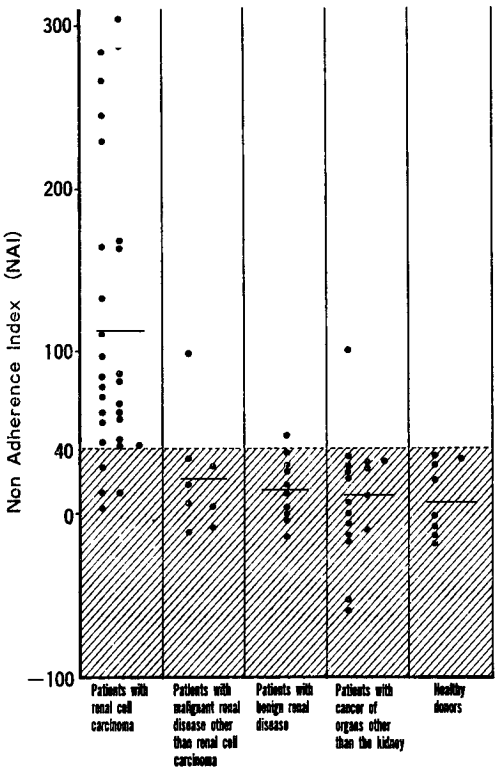

Fig. 5. Distribution of NAI values of patients with renal cancer, other disease and healthy donors

4）腎癌症例 NAI 値の臨床病期別検討（Fig. 6）

Robson ら[15]の分類により各症例の stage を定め，stage Ⅰ，Ⅱ の low stage 群と stage Ⅲ，Ⅳ の high stage 群に分けて NAI 値を検討した．NAI 値の平均は low stage では102で high stage 群の平均123 に比べてやや低いが有意の差ではなかった．また腎癌症例で陰性を示したのはすべて low stage 群であった．

5）術前・後における NAI 値の変動（Fig. 7）

9例の腎癌症例について腎摘出術前と術後1～2週間における NAI を比較してみると，9例すべての症例において術後 NAI 値は低下していた．low stage 群と孤立性転移や播種性転移を有する high stage 群の間にとくに差は認めなかった．

6）術後5～6カ月後における NAI 値の検討（Table 3）

腎摘出術前 LAI 陽性を示した腎癌症例のうち4症例で術後5～6カ月後の NAI 値を調べてみると，臨床的に再発．転移を認めていない3症例では，NAI 値は術前310，266，245から術後5～6カ月で−22，14，12とおのおの LAI 陰性となっていた．いっぽう術後5カ月で骨転移を有していた症例では NAI 値は術前229で，術後5カ月においても215といぜんとして LAI 陽性であった．

考　　察

実験動物に発生した癌や人癌のなかには，その経過

Table 2. Tube LAI assay in patients with renal cancer, other disease and healthy donors

	Percentage of positive LAI
Patients with renal cell carcinoma	87% (26/30)
Patients with malignant renal disease oter than renal cell carcinoma	13% (1/8)
Patients with benign renal disease	10% (1/10)
Patients with cancer of organs other than the kidney	6% (1/17)
Healthy donor	0% (0/8)

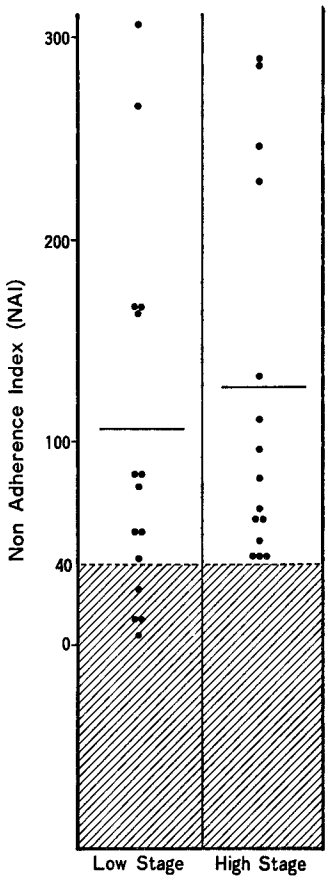

Fig. 6. Distribution of NAI values of patients with renal cancer according to the stage of cancer

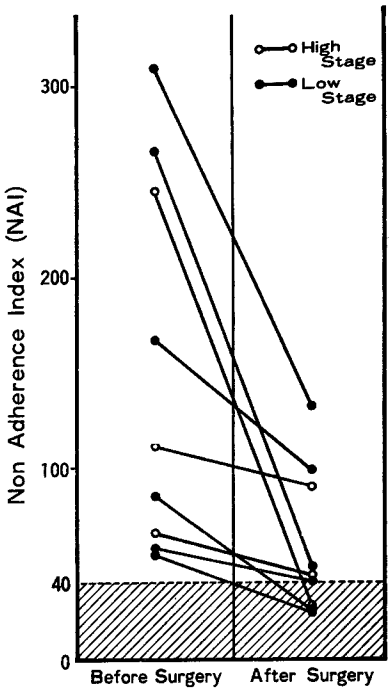

Fig. 7. NAI of patients with renal cancer before and 1～2 weeks after surgery

Table 3. NAI of patients with renal cancer before and 5～6 months after surgery

Patients	before Surgery	5-6 Ms after Surgery
Y V ※	310	−22
T F ※	266	14
I O ※	245	12
I I ※※	229	215

※ : tumor free
※※ : residual tumor.

中に自然消退する例があり癌に対する免疫現象の存在が示唆されて来た[16]．それを解明するためには癌抗原の証明が必要であり，さまざまの検索がなされ，動物においては腫瘍移殖実験により腫瘍移殖特異抗原が証明された[17~19]．人癌については基礎的な研究領域において，遅延型過敏反応[20]，コロニー形成阻止試験[3]白血球遊走阻止試験[4]などにより，神経芽細胞腫，悪性黒色腫，乳癌および消化器癌において，また泌尿器科領域においても殺細胞試験により腎癌[21]および膀胱癌[22]において癌抗原の存在が示唆された．いっぽう，これらの免疫現象を臨床に応用し，人癌の診断，治療方針の決定および予後推測に役立てようと多くの試みがなされてきた．しかしこれら諸試験は前述しようにおもに基礎領域でおこなわれてきた研究であり，それらの操作は複雑であったり，長時間を要するなどのことから各種人癌の免疫学的研究に汎用されるにいたらず，臨床領域でつねにおこなうには困難な点があった．

1972年 Halliday & Miller[5] により開発された白血球粘着阻止試験（Leukocyte Adherence Inhibition assay）は細胞性免疫現象を検討する方法で，癌抗原に対する特異性が高く，特別な装置を必要とせず，手技も簡便で，約5時間と短時間で結果が得られるなどの利点を有するため，臨床領域において癌抗原の検出に有用な手段と考えられている．LAI 現象とは，末梢白血球が本来持っていつガラス表面に対する粘着能が，ある抗原と反応することにより失われるという現象に基づいたものである．LAI 現象の機序に

関しては現在までに2つの見解がありいまだ定説が得られていない．すなわち Halliday らによる hemocytemeter LAI assay[5,6] では，癌抗原に反応したT cell より産生された lymphokine ようの factor により白血球のガラス粘着能が失われると報告されているが，Grosser らの tube LAI assay[7~11] では reactive cell は monocyte であり，癌抗原に反応した B cell より産生された IgG 抗体が monocyte の Fc-receptor に結合し，この IgG を介して癌抗原と反応した結果ガラス粘着能が失われると述べられている．また microplate LAI assay では，Holt ら[12] は lymphokine ようの factor の存在を示唆しているのに対して，いっぽうの Russo ら[13]は同測定法ながら LAI 現象は IgG と monocyte の直接反応によるとしているごとく統一した見解は得られていない．いずれにしても reactive cell は lymphocyte あるいは monocyte とされている．著者が tube LAI assay 施行後に非粘着細胞を検索したところ，そのほとんどは peroxidase 陽性の monocyte であった．以上のごとく現在 LAI assay は3通りの方法がおこなわれており，LAI 現象の本質は完全に解明されているとはいえないが，その特異性はきわめて高く同種腫瘍間に共通する交叉抗原を明瞭に証明していると考えられている．今回著者は Grosser ら[7~11] の方法に準じた tube LAI assay を施行して以下のごとき考察をおこなった．

まず検査に用いる腫瘍組織抽出液の至適濃度に関しては，Marti ら[23] は悪性黒色腫症例に対して著者と同様の方法にて作製した悪性黒色腫組織抽出液を specific antigen，乳癌組織抽出液を non-specific antigen としてさまざまな濃度にて検討を加えた結果，悪性黒色腫症例においては specific antigen，non-specific antigen のいずれに対しても蛋白濃度の上昇にともない非粘着細胞数は増加してゆくが，3～4 mg/ml 付近からプラトーとなり，NAI 値は 1.0～1.5 mg/ml 付近にて最高値を示し，いっぽう対照群においては，やはり両抗原濃度の上昇にともない非粘着細胞数は増加してゆくが 3～4 mg/ml 付近からプラトーとなり，NAI 値はいずれの濃度においても陽性境界値以下であったとし，至適蛋白濃度は，1.0～1.5 mg/ml であると報告している．また Flores ら[25]は乳癌，肝癌および悪性黒色腫症例において，森實ら[26]は肝癌症例においてほぼ同様な結果を報告している．著者の成績においても，腎癌症例においては，腎癌組織抽出液および膀胱癌組織抽出液のいずれに対しても非粘着白血球数は 1.0～1.5 mg/ml 付近からプラトーとなり，NAI 値は同濃度付近で最高値を示すが，腎盂移行上皮癌症例においては，非粘着細胞数は同様の変化を示すものの NAI 値はいずれの濃度においても低値であった．したがって蛋白濃度 1.0～1.5 mg/ml 付近にて一番明瞭な反応が得られるものと考えられる．

著者の今回の LAI assay における正常対照例の結果では，NAI 値は－19～36までに分布し平均は約70であったので，陽性境界値を40と定めた．いっぽう Thomson ら[25] の報告では，正常対照例の NAI 値は－10～30の間に分布し，平均約10.0であることより陽性境界値を30としている．また Tataryn ら[31]も大腸癌および膵癌組織抽出液に対する正常対照例の結果にて，NAI 値は －20～30 の間に分布し，平均は約－3であるので，陽性境界値を30と定めている．ところが森實ら[26] は肝癌および正常肝組織抽出液に対して，正常対照例の NAI 値は0～50まで分布することより，陽性境界値を50と定めている．このように著者を含む諸家の陽性境界値がおのおの異なるのは，使用抗原の違いや，抗原の製作過程が各研究者により異なることなどが原因するものと推測している．逆にこのことから本 LAI assay では各施設において NAI 値の陽性境界値が設定されてしかるべきとも考えられる．したがって施設での試験方法が一定で，技術上の問題がなければ，施設間での陽性境界値の差違は特別な問題ではないものと考える．

各種悪性腫瘍の LAI assay の陽性率をみると，Grosser ら[7]は乳癌症例47例中40例（85%）が陽性であったのに対して，対照群では32例中2例（6%）のみが陽性を示したにすぎないと報告し，Fujisawa ら[27]は乳癌症例において66例中42例（63%）が陽性で対照群は39例中3例（8%）が陽性，また Lopez ら[28]は48例の乳癌症例中39例（78%）が陽性で対照群では347例中17例（5%）が陽性であるとしている．さらに Marti ら[23]の悪性黒色腫における成績では患者群25例のうち20例（80%）が陽性であるのに対して対照群では39例中3例（7%）が陽性，Shani ら[29]は大腸癌患者群33例中25例（76%）陽性，対照群で22例中2例（9%）が陽性，Douglass ら[33]は，膵癌患者群15例中13例（87%），対照群31例中2例（6%）が陽性と報告している．いずれの報告においても対象患者群においては高い陽性率を示し，しかも対照群における偽陽性の出現率はきわめて低いという結果である．著者の成績でも腎癌症例の陽性率は30例中26例（87%）と他家の報告と同様に高率を示しており，また対照群における偽陽性の出現率は43例中3例（7%）

と低率であった.

腎癌の診断は血管造影やコンピューター断層撮影なを利用することにより現在ではさほど困難ではないが，それでも血管造影において腫瘤内の血管像が乏しいなどにより腎のう胞が強く疑われるも，他の所見より腎癌の存在も完全に否定しえないような症例を経験することがある．今回の著者の腎癌症例のなかにも，術前に前述したような所見で腎癌を完全に否定しえなかった症例で，積極的に手術をおこない術後の摘出標本にてのう胞壁の一部に癌組織を認めた例が含まれている．この例の術前 LAI assay では NAI 値84と陽性で，結果的には本 assay の成績のみで術前より腎癌の存在が予測しえたと考えられる症例であった．いっぽう術前の諸検査では腎癌の疑いが非常に強かったが，術後の病理診断にて腎細胞癌でなく腎実質より発生した悪性リンパ腫とされた症例では，術前の NAI 値は6と陰性を示していた．この事実は，用いる腫瘍組織抽出液（specific antigen）と異種の悪性腫瘍，いい変えれば組織像の異なる腫瘍の診断には本検査法は不適当であることを示すもので，このことは本法が免疫反応による検査法であるため当然の結果といえる．したがって本検査はあくまで用いた specific antigen の材料である悪性腫瘍と同一組織像を有する悪性腫瘍の存在の有無に対する補助診断として十分に価値があるものであり，本検査法が陰性であれば，高い確率で当該する悪性腫瘍を認めないことを示唆するのみで，もちろん前述のごとく異種の悪性腫瘍の存在を否定するものではない．

癌の進行度と LAI に関しては，Lopez ら[28]が乳癌で，Marti ら[23]が悪性黒色腫で，Shani ら[29]が大腸癌で，そして Tataryn ら[31]が胃癌にておのおの high stage 群は low stage 群に比べ NAI の平均値は有意に低く，また偽陰性の症例も多いと報告している．著者の成績では high stage 群と low stage 群の間で NAI 値の平均に有意の差を認めておらず，前記の諸家の成績と異なっている．この理由としては，Lopez ら[28]および Tataryn ら[31]の報告を見ると，同じ high stage 群においても孤立性転移を有する症例においては NAI 値が高い例が多く，播種性転移例にて NAI 値が低い，あるいは偽陰性を示す例が多いと述べている．このことは，単に stage 別では LAI の反応性に差を認めず，その転移の程度，範囲が大きく影響するものと考えられ，今回の著者の検索した high stage 群においては孤立性転移の症例が多く含まれていたのでこのような結果になったものと思われる．播種性転移を有する症例において NAI 値が低下したり偽陰性となる機序に関しては，Grosser ら[10]や Thomson ら[32]は，偽陰性の症例においては非粘着白血球数は specific antigen および non-specific antigen に対してともにほぼ同数で，しかも LAI 陽性症例の specific antigen に対する非粘着白血球数ともほぼ同数であり，また偽陰性症例の白血球をあらかじめトリプシンで処理しておくと LAI 反応性が回復することより，播種性転移を有する症例では血中に過剰の抗原が遊離し，生体内ですでに monocyte のレセプターを占拠しているためではないかと報告している．また別に，反応細胞がガラス粘着能を失うのは細胞内のカルシウム濃度の変化が一因ではないかという報告[33]をもとに，Kaneti ら[34]は LAI 陰性の進行性前立腺癌症例において，白血球を Prostaglandin E2 で前処置しておくと LAI 反応性を示すようになることより，進行性癌において LAI が陰性となるのは，単に反応細胞のレセプターが抗原に占拠されているからでなく，体内にてたびたび血中抗原の刺激を受けた結果，反応細胞の膜カルシウム輸送機構に変化をきたしガラス粘着能が失なわれているからであり，Prostaglandin E2 によって膜カルシウム輸送機構の変化を解除することによりガラス粘着能が回復し，以後の実験にて LAI 陽性を示すようになると報告している．

つぎに手術による NAI 値への影響を調べてみると，Grosser ら[7]は乳癌症例において，Marti ら[23]は悪性黒色腫症例において，転移などの残存腫瘍の有無にかかわらず主病巣摘出1～2週間後に NAI 値は有意に低下していたと報告している．著者も9例の腎癌症例について調べてみたが，全例 NAI 値は低下していた．この機序に関して当初 Grosser ら[7]は手術時に多量の腫瘍抗原が血中に遊離し，blocking factor として働くのではないかと考えていたが，最近 *in vitro* で白血球を corticosteroid で前処置した場合や，患者にあらかじめ corticosteroid を投与した場合 LAI が陰性化し[35]，しかも手術後数日間は血中 corticosteroid レベルは上昇している[36]という事実より，steroid による免疫抑制が原因ではないかとしている．

最後に主病巣摘出後の LAI の反応性の経時的変化に関しては，Ayeni ら[37]が残存腫瘍の存在しない場合，NAI 値は術後1～2週間で低下し，その後再び上昇するが2～3カ月後には陰性化し，主病巣摘出時残存腫瘍の存在した症例では，やはり術後1～2週間で NAI 値は低下するがその後上昇し，5～6カ月後においても LAI 陽性を示し，さらに臨床的に再発を

認めず術後数カ月においても LAI 陰性であった症例が，再度 LAI 陽性となった場合，しばらくして臨床的にも腫瘍の再発を認めた例があると報告している．著者も例数はわずかであるが，術前 LAI 陽性で術後臨床的に再発を認めていない3症例に対して5～6カ月後に LAI assay を施行したところいずれも陰性を示したが，術後5カ月時骨転移を有していた症例では，術後および化学療法後一過性に LAI は陰性化したが，術後5カ月後に LAI 陽性を示していた．したがって LAI assay は腫瘍の消長を観察する有用な手段としての可能性が示唆された．

以上のごとく LAI assay はその機序にいまだ若干の不明な点は残しているが，癌抗原に対する免疫反応としてはその特異性はきわめて高く，また操作もさほど複雑でなく，長時間を要しないなどの利点を持つので，癌の補助診断法として，また経過観察や再発の発見の一手段として臨床上きわめて有用であると考えられる．

結　　語

30例の腎癌症例および43例の対照群に対して白血球粘着阻止試験を施行し以下のごとき結果を得た．

1）正常対照の Non-Adherence Index (NAI) 値は－19～36の間に分布し，その平均は7.0で，本検査の陽性境界値を40と定めた．

2）腎癌患者群は対照群に比べ LAI 陽性率は有意に高く，腎癌に共通な癌関連抗原の存在が示唆された．

3）腎癌の low stage 群と high stage 群との間には，LAI の反応性にとくに差は認められなかった．

4）主病巣摘出1～2週間後には，検索した9症例すべての NAI 値が低下していた．

5）術後5～6カ月後において臨床上再発を認めない3症例では，LAI 陰性であったが，術後5カ月で骨転移を有していた症例では LAI 陽性であった．

6）今回 low stage 群において15例中4例が陰性であったこと，また high stage 群でも blocking factor の存在による陰性例が報告されていることを考えあわせると，早期診断としては問題が残されている．しかし陽性を示した場合当該腫瘍の存在する確率はきわめて高い．

本論文の要旨は第20回日本癌治療学会において発表した．

稿を終えるにあたり，終始御指導ならびに御校閲を賜わりました恩師石神襄次教授に深甚なる感謝の意を表します．本研究に際し直接御指導いただきました守殿貞夫助教授に感謝の意を表します．この研究に症例の提供を賜った関連病院の諸先生に深く感謝致します．

文　　献

1) Hellström IE, Hellström KE, Pierce GE and Bill AH : Demonstration of cell-bound and humoral immunity against neuroblastoma cells. Proc Natl Sci USA **60**: 1231～1238, 1968

2) Hellström KE and Hellström IE : Cellular immunity against tumor antigen. Advan Cancer Res **12**: 167～223, 1969

3) Thor DE, Jureziz RE, Veach SR, Miller E and Dray S Cell migration inhibition factor released by antigen from human peripheral lymphocyte. Nature **219** : 755～757, 1968

4) Roed-Petersen B, Roed-Petersen J and Bendixen G: Cell-mediated immunity to human oral leukoplakia demonstrated by leukocyte migration test. Int J Cancer **12** : 66～72, 1973

5) Halliday WJ and Miller S : Leukocyte adherence inhibition : A simple test for cell-mediated tumor immunity and serum blocking factors. Int J Cancer **9**: 477～483, 1972

6) Halliday WJ · Histological background and aspects of the mechanism of leukocyte adherence inhibition. Cancer Res **39**: 558～563, 1979

7) Grosser N and Thomson DMP: Cell-mediated antitumor immunity in breast cancer patients evaluated by antigen-induced leukocyte adherence inhibition in test tube. Cancer Res **35**: 2571～2579, 1972

8) Grosser N, Marti JH, Prostor JW and Thomson DMP : Tube leukocyte adherence inhibition assay for the detection of anti-tumor immunity. I. Monocyte is the reactive cell. Int J cancer **18**: 39～47, 1976

9) Marti JH, Grosser N and Thomson DPM : Tube leukocyte adherence inhibition assay for the detection of anti-tumor immunity. Ⅱ. Monocyte reacts with tumor antigen via cytophilic anti-tumor antibody. Int J Cancer **18**: 48～57, 1976

10) Grosser N and Thomson DMP : Tube leukocyte (monocyte) adherence inhibition assay

for the detection of anti-tumor immunity. Ⅲ. Blockade of monocyte reactivity by excess free antigen and immune complex in advanced cancer patients. Int J Cancer **18**: 58～66, 1976

11) Thomson DMP and Grosser N: Immunological mechanisms of tube leukocyte adherence inhibition. Cancer Res **39** : 576～581, 1979

12) Holt PG, Roberts LM, Fimmel PJ and Keart D : The LAI microtest : A rapid and sensitive procedure for the demonstration of cell-mediated immunity in vitro. J Immunol Methods **8**: 277～288, 1975

13) Russo AJ, Howell JH, Levesson SH, Holyoke ED and Goldrosen MH : Micro-leukocyte adherence inhibition : Cellular basis of the mechanism of reactivity. J Immunol **121** 1914～1919, 1978

14) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL and Randoll RJ: Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. J Biol Chem **193**: 265～275, 1951

15) Robson CJ, Churchill BM and Anderson W : The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. J Urol **101**: 297～301, 1969

16) Everson RC and Cole WH : Spontaneous regression of cancer. Saunders Company, Philadelphia, 1966

17) Foley EJ : Antigenic properties of methylcholanthrene-induced tumors in mice of the strain of origine. Cancer Res **13**: 835～837, 1953

18) Klein G, Sjögren HO, Klein E and Hellström KE Demonstration of resistance against methylcholanthrene-induced sarcomas in the primary autochtonous host. Cancer Res **20**: 1561～1572, 1960

19) Takeda K, Aizawa M, Kikuchi Y, Yamazaki S and Nakamura K : Autoimmunity against methylcholanthrene-induced sarcomas of the rat in the autochtonous host. Gann **57**: 221～240, 1966

20) Hughes L and Lytton B : Antigen properties of human tumors ; Delayed cutaneous hypersensitivity reaction. Brit Med J **3**: 209～212, 1964

21) Bubenic J, Jakoubkova J, Krakora P, Baresova M, Helbich P, Viklicky V and Malaskova V : Cellular immunity to renal carcinomas in man. Int J Cancer **8** : 503～513, 1971

22) Bubenic J, Perlmann P, Helmstein K and Moberger G : Immune response to bladder tumors in man. Int J Cancer **5** : 39～46, 1970

23) Marti JH and Thomson DMP : Anti-tumor immunity in malignant melanoma assayed by tube leukocyte adherence inhibition. Brit J Cancer **34**: 116～133, 1976

24) Flores M, Marti H, Grosser N, MacFarlane JK and Thomson DMP : An overview : Antitumor immunity in breast cancer assayed by tube leukocyte adherence inhibition. Cancer **39**: 494～505, 1977

25) Thomson DMP, Rauch JE and Weatherhead JP : Isolation of human tumor specific antigen associated with β_2 microglobulin. Brit J Cancer **37**: 733～775, 1978

26) Morizane T, Kawagai N, Tsuchimoto K, Watanabe T and Tsuchiya M : Specific immunodiagnosis of hepatomas by tube leukocyte adherence inhibition assay and a modified method of repeated tube leukocyte adherence inhibition assay. Cancer Res **40**: 2928～2934, 1980

27) Fujisawa T, Waldamn SR and Yonemoto RH: Leukocyte adherence inhibition by soluble tumor antigen in breast cancer patients. Cancer **39**: 506～513, 1977

28) Lopez M, O'Conar R, MacFarlane JK and Thomson DMP : The natural history of antitumor immunity in human breast cancer assayed by tube leukocyte adherence inhibition. Br J Cancer **38**: 660～673, 1978

29) Shani A, Ritty RE, Thynne GS, Weiland L H, Silvers A, Moertell CG and Go VLW A prospective evaluation of the leukocyte adherence inhibition test in colorectal cancer and it's correlation with carcinoembryonic antigen level. Int J Cancer **22**: 113～119,

1978

30) Douglass HO, Russo AJ, Howell JH, Moore MC, Arburch SG, Chu TM and Goldrosen MH: Selectivity of the micro-leukocyte adherence inhibition assay in pancreatic cancer. Cancer **43**: 898～912, 1979

31) Tataryn DN, MacFarlane JK, Murray D and Thomson DMP : Tube leukocyte adherence inhibition (LAI) assay in gastrointestinal (GIT) cancer. Cancer **43** : 898～912, 1979

32) Thomson DMP, Tataryn DN, Schwartz R and MacFarlane JK: Abrogation of the phenomenon of leukocyte adherence inhibition by excess circulating antigen. Eur J Cancer **15**: 1095～1106, 1979

33) Foreman JC and Lichtenstein LM: Clinical pharmacology of acute allergic disorders. Ann Rev Med **31**: 181～190, 1980

34) Kaneti J, Thomson DMP and Reid EC : Prostaglandin E_2 affect the tumor immune response in prostatic carcinoma. J Urol **126** : 67～70, 1981

35) Grosser N, Thomson DMP, Flores M and MacFarlane JK : A mechanism of suppression of antitumor immunity (LAI reactivity) by surgery. Cancer Immunol Immunother **7**: 263～269, 1980

36) Flores M, Thomson DMP and MacFarlane JK: Effect of surgery on antitumor immunity measured by tube leukocyte adherence inhibition assay in breast cancer. Surg Forum **XXVII**: 71～73, 1976

37) Ayeni RO, Tataryn DN, MacFarlane JK and Thomson DMP : A computerized tube leukocyte adherence inhibition assay to detect antitumor immunity in early human cancer : A review of two year's experience. Surgery **87**: 380～389, 1980

(1984年3月19日受付)