

## 進行腎細胞癌に対する Interferon- $\gamma$ 療法の免疫学的検討

防衛医科大学校泌尿器科学教室 (主任: 中村 宏教授)

青柳貞一郎, 村井 勝, 木村 文宏, 澤村 正之  
浅野 友彦, 小田島邦男, 長倉 和彦, 中村 宏

### IMMUNOLOGICAL STUDY OF INTERFERON-GAMMA THERAPY FOR ADVANCED RENAL CELL CARCINOMA

Teiichiro Aoyagi, Masaru Murai, Fumihiko Kimura,  
Masayuki Sawamura, Tomohiko Asano, Kunio Odajima,  
Kazuhiko Nagakura and Hiroshi Nakamura

*From the Department of Urology, National Defense Medical College*

Immunologic and anti-tumor effects of interferon-gamma were studied in six patients with advanced renal cell carcinoma. A daily dose of  $10 \times 10^6$  JRU/m<sup>2</sup> of interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) was given consecutively for five days and the treatment reiterated nine days later. Then the same dose was given every two days for three times and this regimen was also reiterated nine days later. Peripheral blood lymphocytes were analyzed before and one, three, five and eight weeks after the initial administration of IFN- $\gamma$ . Although the total number of lymphocytes and monocytes were not changed, CD8 (23.4 to 31.2%,  $p < 0.05$ ), CD16 (12.4 to 19.3%,  $p < 0.01$ ) and LeuHLA-DR (29.0 to 39.5%,  $p < 0.01$ ) positive lymphocytes were significantly increased after the therapy. Non-induced LAK activity (0.6 to 10.8%,  $p < 0.05$ ) and serum neopterin (3.5 to 10.8 nmol/L,  $p < 0.01$ ) were also increased. These immunological parameters drastically changed during the consecutive administration of IFN- $\gamma$ , and tended to return to the previous value after this period. However, tumor regression was not clinically obtained. Our findings indicate that interferon-gamma stimulated the anti-tumor activity of the host, and administration of IFN- $\gamma$  is thought to be of immunological significance even in the advanced high stage cases.

(Acta Urol. Jpn. 38: 1357-1360, 1992)

**Key words:** Renal cell carcinoma, Interferon-gamma, Flow cytometry, Immunotherapy, Lymphocyte analysis

### 緒 言

インターフェロン(以下 IFN)投与は、進行腎細胞癌に対して確立された治療法がない現在、もっとも注目されている治療のひとつである。IFN の作用機序については、直接的な抗腫瘍作用のほか、宿主の免疫系に働きかけて腫瘍細胞を排除させる作用が考えられているが、その明確な機構はいまだ解明されていない。IFN の治療効果は  $\alpha$  型を中心に報告されてきたが、近年抗原性や生体内における作用も異なる  $\gamma$  型も進行腎癌患者に投与されている<sup>1)</sup>。われわれは6名の進行腎癌患者に対し IFN- $\gamma$  の大量間歇投与を行い、免疫系に与える影響と抗腫瘍効果を末梢血リンパ球サブセットの変化を中心に観察することにより検討し

た。

### 対象と方法

患者は他臓器転移を有する腎癌患者6名で、年齢は60歳から75歳、男性2名、女性4名。すでに原発巣の摘出された患者が5名、塞栓術を受けたものが1名であった。原発巣の診断時に転移を有したものが2名、手術後2年以内の再発が2名、10年以上経て再発したものが2名あった。全例 performance status 3 以下で、IFN 投与に耐えうると考えられた (Table 1)。

投与法は遺伝子組み換え型 IFN- $\gamma$  (イムノマックス<sup>®</sup> シオノギ) 1,000万/JRU/m<sup>2</sup> を1日1回点滴静注により5日間連続投与した後、9日間休薬した。これを2回繰り返した後、同量を隔日3回投与し9日休薬

Table 1. Clinical profiles of patients treated with IFN- $\gamma$ .

	年齢	性別	組織型および治療	手術後 IFN- $\gamma$ 開始までの期間	転 移
1	63	M	RCC G2 alveolar	1か月	肝 副腎 腹膜
2*	61	F	RCC G3 sarcomatoid	1か月	肺
3	63	M	RCC	11年	骨 肺 副腎
4*	75	F	RCC G3 solid	2年	肺 骨
5	71	F	RCC	20年	リンパ節 肺
6*	60	F	(塞栓術)	10か月	脳

\* 治療後死亡例 症例6以外は根治的腎摘除を施行した

し、さらに同量を3回隔日投与することを原則とした。

免疫系の検討には末梢血リンパ球サブセット、CD3, 4, 8, 11b, 16, 25 と Leu HLA-DR を測定した。また NK 活性, LAK 活性, 血清ネオプテリン値についても測定した。検査は投与前および投与開始後1, 3, 5, 8週目に行った。また評価可能な病変についても臨床的効果判定を行った。

リンパ球サブセットは各種モノクローナル抗体を用い、フローサイトメーター (Orth 社 Spectrum III) で測定した。NK 活性は K562 を標的細胞とし, LAK 活性は Daudi 細胞を標的とする  $^{51}\text{Cr}$  放出試験により測定した。血清ネオプテリン値は HPLC 法を用いて測定した。

検査結果は各パラメーターについて変動する時期が異なり, また個人差もあることから, 投与前の値と比較し, それぞれが最も大きく変動した時の値を採り, データは6名の平均値を two-tailed paired "t" test で検討した。

## 結 果

IFN- $\gamma$  投与前後で, 末梢血のリンパ球数, 単球数に変動はなかった。しかし CD4 陽性細胞は 45.6% から 38.3% に減少 ( $p < 0.05$ ), 逆に CD8 陽性細胞は 23.4% から 31.2% に有意に増加した ( $p < 0.01$ )。CD 16 は平均値 12.4% から 19.3% に増加し ( $p < 0.01$ )。Leu HLA-DR の値も平均 29.0% から 39.5% に有意に増加した ( $p < 0.05$ )。NK 活性は平均値 5.8% から 18.0% に増加の傾向を示し, LAK 活性は IL-2 で誘導しない非誘導 LAK 活性が平均値 0.6% から 10.8% に有意の増加を示した ( $p < 0.05$ )。また血清ネオプテリン値も平均 3.5 から 18.7 nmol/L と有意に増加した ( $p < 0.01$ )。しかし CD3, 25, 11b サブセットについては有意な変動はみられなかった (Table 2)。

臨床的には, IFN 投与により, 画像診断的に転移巣の縮小がみられた例はなかった。症例1は投与10カ

Table 2. Changes of immunological values in the six patients treated with IFN- $\gamma$ .

	投与前	投与後	P
末梢血リンパ球数 /mm <sup>3</sup>	1547	1760	
末梢血単球数	475	380	
CD 3 %	67.9	69.6	
CD 4	45.6	38.3	<0.05
CD 8	23.4	31.2	<0.01
CD 11b	23.8	31.0	
CD 16	12.4	19.3	<0.01
CD 25	4.3	5.7	
Leu HLA DR	29.0	39.5	<0.01
NK 活性	5.8	18.0	
LAK 活性	31.3	55.3	
非誘導 LAK 活性	0.6	10.8	<0.05
血清ネオプテリン nmol/L	3.5	18.7	<0.01

月後, 症例2は3カ月後, 4および6は1カ月後に死亡した。

投与前後で検査結果に有意差の出たパラメーターについて, 全例の推移を示す (Fig. 1)。各パラメーターの増減は同様の傾向にあるものの, そのパターンにはかなりばらつきが見られた。CD4, CD8, HLA-DR は5日間の連続投与中に変化が多く, 休業, 間歇投与期間にはやや前値に復している。血清ネオプテリンは症例1, 2, 5では投与中緩やかに増加し, 症例3, 4, 6では連続投与中よく増加したが, 休業中減少した。非誘導 LAK 活性は連続投与で活性が上がったものの, 症例1, 3以外では IFN 投与中であるにもかかわらず活性が低下する傾向が見られた。症例6は, 初回投与後イレウス症状が出現したため一時投与を中断し, 改善してから再度投与を行った。

IFN 投与により発熱や全身倦怠感, 白血球減少症などの副作用がみられるとされているが, 今回検討した6例では投与を中断せざるをえないほどの重篤な症状はみられなかった。

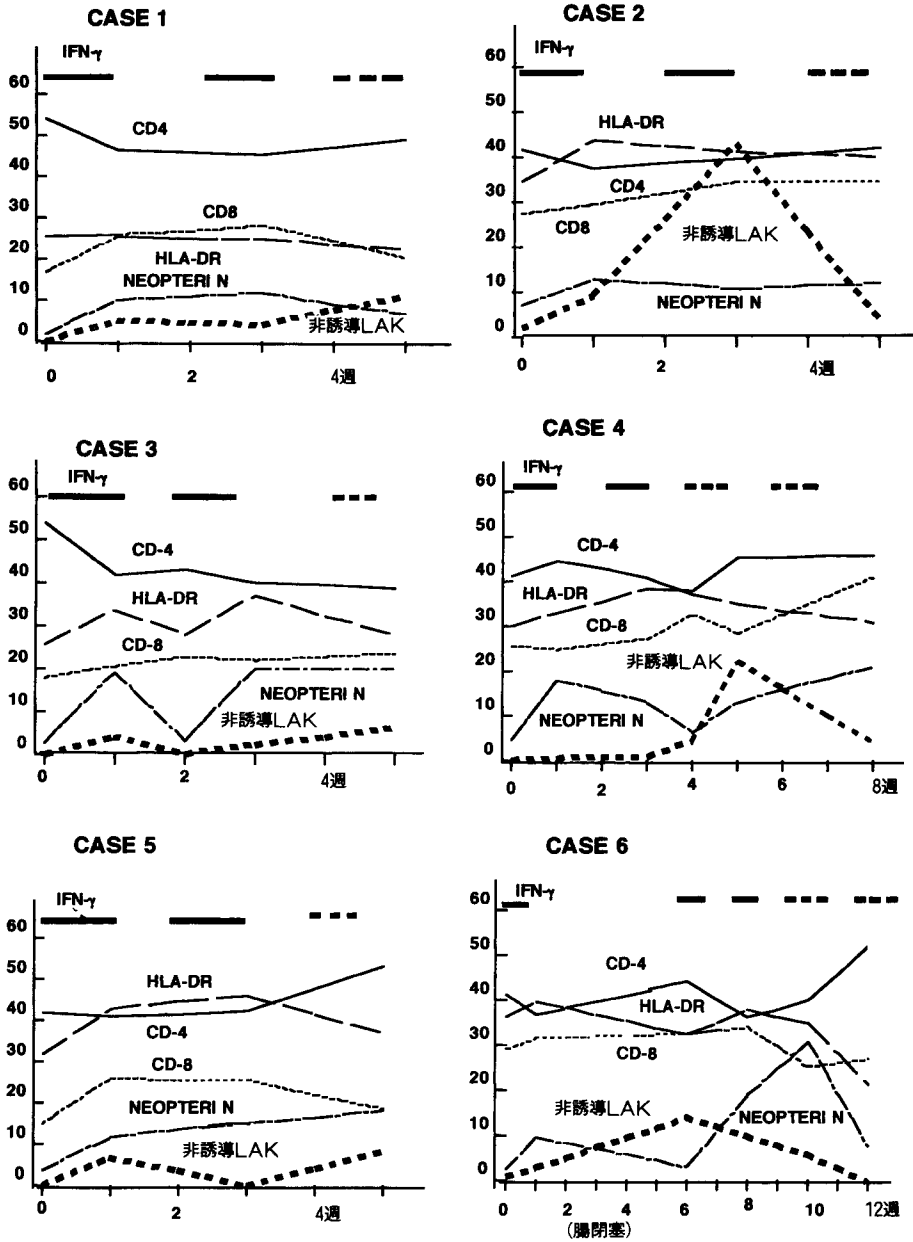


Fig. 1. Immunological changes of the six patients with IFN- $\gamma$ .

考 察

IFN は直接的な抗腫瘍効果および宿主の免疫系を高めることによる biological response modifier (以下 BRM) としての効果の両方から腎癌を始め各種の悪性腫瘍に対して用いられてきた。IFN は細胞増殖の抑制, NK 細胞の活性化, 細胞傷害性 T 細胞の活性化, クラス I 組織適合性抗原の誘導などの作用が知

られているが,  $\gamma$  型は, (1) クラス II 組織適合性抗原の提示を誘導する, (2) マクロファージを活性化する, (3) インターロイキン 1 および 2 の産生を刺激するなど  $\alpha$ ,  $\beta$  型にない作用も有している<sup>2)</sup>。

われわれの検討では, IFN- $\gamma$  の投与により, 末梢血中のリンパ球, 単球の総数は変わらなかったが, リンパ球の CD4 サブセットが減少し, CD8 サブセットが有意に増加した。このうち CD11b 陽性の細胞数

は変化がなかったことから、増加した CD8 陽性細胞は細胞傷害性 T 細胞を主体としたものであることが示唆された<sup>3)</sup>。免疫学的に抗腫瘍作用を持つのは NK 細胞、細胞傷害性 T 細胞を始め、多くの細胞が関与すると考えられている。しかし腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) については、IFN- $\gamma$  投与により CD8 陽性細胞が増加すると報告されており<sup>4)</sup>、また TIL 中の T リンパ球のうち、cytolytic な作用を発揮するのはおもに CD8 陽性細胞である<sup>5,6)</sup>といわれていることから、末梢血中に CD8 陽性細胞が増加したことは、IFN の BRM としての作用を反映しているといえよう。今回の検討では末梢血中の NK 活性自体は強くならなかったが、NK 細胞に陽性である CD16 抗体を持つ細胞が増加した。また LAK 活性の増加も IFN- $\gamma$  がマクロファージを活性化させ、また IL-2 などのサイトカイン産生を促進させたことによる反応と考えられた。それに関連して、血中ネオプテリン値の増加は、IFN のマクロファージ活性化因子としての作用を反映しているといえよう。

IFN 投与による末梢血中のリンパ球の変動を解析した報告はいままでに散見される<sup>4,7)</sup>が、IFN 投与の量および期間や、投与後採血を行う時期については一定していない。どの時点での変動がもっとも抗腫瘍効果を反映するか、また抗腫瘍効果自体は何を指標として検討すればよいのかも問題である。われわれの検討では、各症例のパラメーターの推移を見ると、免疫学的には連続投与により、大きな変動が見られ、休薬、間歇投与時にはしだいに元の状態に戻りつつあった。投与量、投与経路についても 50万/JRU/m<sup>2</sup> の連日皮下注射を推奨する報告もあり<sup>8)</sup>、より少量を継続して投与することでも免疫学的には有益である可能性もある。また腫瘍の悪性度や stage によって IFN に反応する TIL の内容が異なるという報告もあり<sup>4)</sup>、個々の症例によって至適投与量が異なることも考えられる。そのような場合、ある指標を設けて、末梢血検査で投与量、投与方法を検討できればじつに有意義である。現在のところ IFN の免疫学的解明はまだ完全ではなく、臨床面とのつながりも緒に就いたばかりであ

る。今回の検討は進行例を対象としており、残念ながら臨床的に腫瘍の縮小した例はなかった。しかし結果に示したように IFN 投与により宿主の抗腫瘍能力を高めるように免疫系が変動しており、進行例においても IFN 投与は免疫的に意義があるものと思われた。

本論文の要旨は第56回日本泌尿器科学会東部総会で発表した。

## 文 献

- 1) 吉本 純, 松村陽右, 大森弘之: 転移を有する腎細胞癌症例に対する Interferon 療法. 西日泌尿 51: 57-62, 1989
- 2) Vicek J, Gray PW, Rinderknecht E, et al.: Relationship of IFN- $\gamma$  to Type I IFNs. In Lymphokines, vol 11 Edited by Pick E., pp. 13-15, Academic Press, Orland 1985
- 3) Yamada H, Martin PJ, Michael AB, et al.: Monoclonal antibody 9.3 and anti-CD 11 antibodies define reciprocal subsets of lymphocytes. Eur J Immunol 15: 1168-1172, 1985
- 4) 大西哲郎: 腎細胞癌原 発巣浸潤リンパ球 subset の評価と、IFN- $\gamma$  投与がおよぼす免疫的効果に関する研究. 日泌尿会誌 82: 216-224, 1991
- 5) Okada Y, Yahata G, Takeuchi S, et al.: A correlation between the expression of CD8 antigen and specific cytotoxicity of tumor-infiltrating lymphocytes. Jpn J Cancer Res 80: 249-256, 1989
- 6) Ioannides CG, Platsoucas CD, Rashed S, et al.: Tumor cytolysis by lymphocytes infiltrating ovarian malignant ascites. Cancer Res 51: 4257-4265, 1991
- 7) Marumo K, Murai M, Deguchi N, et al.: Immunologic effects of recombinant interferon-gamma in patients with renal cell carcinoma. Keio J Med 39: 97-101, 1990
- 8) Maluish AE, Urba WJ, Longo DL, et al.: The determination of an immunologically active dose of interferon-gamma in patients with melanoma. J Clin Oncol 6: 434-445, 1988

(Received on May 8, 1992)  
(Accepted on September 2, 1992)