

膀胱癌患者の細胞性免疫能に関する研究

第5報：LAI test における患者血清の blocking,
unblocking 効果について

大阪市立大学医学部泌尿器科学教室（主任：前川正信教授）

西尾正一・和田誠次

堀井明範・森川洋二

川喜多順二・西島高明

前川正信

STUDIES ON THE CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN
PATIENTS WITH URINARY BLADDER CARCINOMAV. DETECTION ON SPECIFIC SERUM FACTORS IN PATIENTS
BY LEUKOCYTE ADHERENCE INHIBITION TESTShoichi NISHIO, Seiji WADA, Akinori HORII, Youji MORIKAWA,
Junji KAWAKITA, Takaaki NISHIJIMA and Masanobu MAEKAWA*From the Department of Urology, Osaka City University Medical School**(Director: Prof. Masanobu Maekawa)*

The specific immune reactivities of leukocytes to tumor associated antigens and specific serum immune reactivities of leukocytes to tumor associated antigens and specific serum factors in cancer patients were studied on 10 urinary bladder carcinoma, 4 prostatic carcinoma, 3 renal carcinoma and 10 control subjects.

The specific reactivities were measured by means of leukocyte adherence inhibition test(LAI) following Halliday et al. and LAI index was calculated.

Autologous and allogeneic crude extracts were prepared from resected bladder carcinoma and prostatic sarcoma tissues for antigens. Tumor and normal tissues were homogenized and centrifuged at 20,000 g, 4°C for 60 minutes. Supernate filtered by millipore filter (0.45 μ) was used as antigen. Final concentration of tissue extracts was adjusted to 100 μ g/ml of protein, that was optimal dose as antigen.

Sera used in this experiment were taken from patients with urinary bladder carcinoma before and after operation, renal carcinoma, prostatic carcinoma and normal subjects.

When leukocytes from patients with bladder carcinoma were challenged against transitional cell carcinoma extract(TCC-extract), LAI index was about 0.58. But leukocytes from normal subjects or other patients with urological malignant diseases showed no reaction against TCC-extracts.

The reaction of leukocytes from preoperative bladder carcinoma patients to TCC-extracts could be blocked by sera from bladder carcinoma patients before operation. Otherwise the leukocytes from the same patient did not show LAI reaction against prostatic sarcoma extract and there was no blocking effect of sera.

The present study also demonstrated that sera from bladder carcinoma patients after operation,

who were clinically tumor-free, could unblock the blocking effect of sera from bladder carcinoma patients before operation. And it was shown that the blocking and unblocking effects of sera from bladder carcinoma patients might be exchanged each other on 3 to 6 months after operation.

Immunological parameters and immunotherapy were discussed about urinary bladder carcinoma patients.

はじめに

癌患者の非特異的細胞性免疫能は癌の種類に関係なく低下することは多くの研究により認められている^{1,2)}。この事実は膀胱癌患者においても認められた^{3,4)}。一方、癌特異的免疫能は癌細胞の抗原性が弱いことならびに組織固有の抗原性を有する点より癌抗原の検出は困難であるとされている。しかし近年、癌細胞を標的とした殺細胞試験⁵⁾、癌細胞をリンパ球の stimulator とした mixed lymphocyte tumor cell culture (MLTC)⁶⁾、およびマクロファージ遊走阻止試験⁷⁾などによって癌特異的な抗原性の存在が示唆されている。

私どもも膀胱癌組織粗抽出液を抗原とした leukocyte adherence inhibition test (LAI) を用いて膀胱癌(移行上皮癌)に特異的な抗原の存在を示唆されたが、その際、癌の進展状態あるいは摘除することによって LAI の反応性が変化することを認めた⁸⁾。その要因として患者血清の影響が考えられるので、今回は治療前後の患者血清が LAI 反応に与える影響について研究した。その結果興味ある所見が得られたので報告する。

対象および方法

1) 対象

対象とした症例は大阪市大病院泌尿器科に入院した膀胱癌患者10例(男子8例, 女子2例)で平均年齢は61.4歳である。組織学的にはすべて transitional cell carcinoma (TCC) で、癌の浸潤度は Broders⁹⁾ の分類に従い、また癌の浸潤度は Jewett¹⁰⁾ and Marshall¹¹⁾ の分類に従った。なお膀胱癌と比較する泌尿器科的悪性疾患として前立腺癌4例(平均年齢68.2歳)、腎癌3例(平均年齢58.7歳)を選び、対照群として免疫学的に異常を認めない良性疾患10例(尿管結石5例, 高血圧2例, 膀胱頸部硬化症1例, 腎出血1例, 尿道狭窄1例, 男子7例, 女子3例で平均年齢60.1歳)を選んだ。

2) 方法

a) 組織粗抽出液の作製

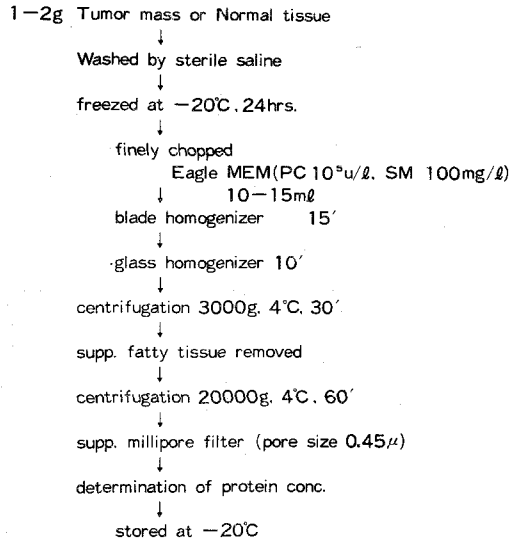


Fig. 1. Crude extract

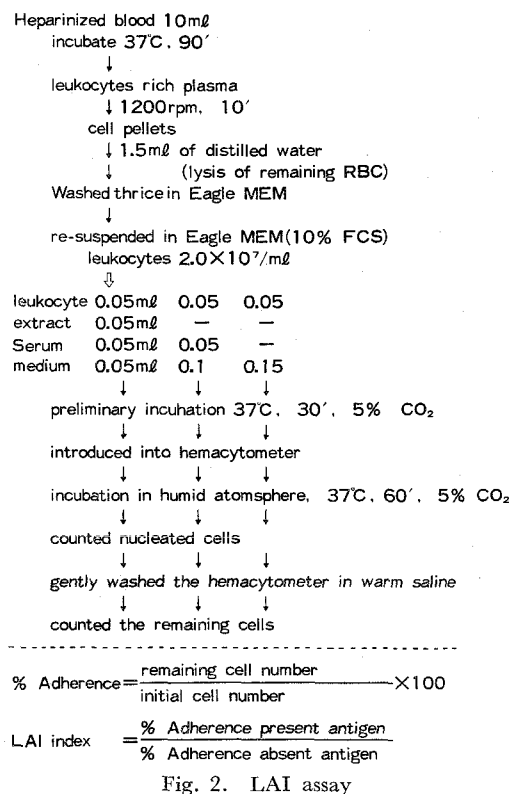
手術にて摘出された標本より癌組織および肉眼的に正常と思われる部位の組織をそれぞれ 1~2g ずつ採取し、以下 Fig. 1 に示す方法にて組織粗抽出液を作製した(詳細は既報⁸⁾にて述べたので略す)。本実験で得られた癌組織粗抽出液(膀胱癌10例, 以下 TCC-Ext, 前立腺肉腫1例, 以下 PS-Ext と略す)の蛋白濃度¹²⁾は 1~5 mg/ml, 正常組織より得られた粗抽出液(9例, 以下 N-Ext と略す)は 1~3 mg/ml であった。

b) 使用した血清

まず血清に含まれると考えられる諸因子を除外する意味で fetal calf serum (FCS) を用い、ついで血清の影響を調べるため術前・術後の膀胱癌患者、正常人、術前腎癌患者、術前前立腺肉腫患者より得られた血清をそれぞれ 56°C, 30 分間 incubate し非働化したものを用いた。

c) leukocyte adherence inhibition test (LAI)

LAI test は Halliday ら¹³⁾の方法に順じて行なった。Fig. 2 に示すとうりヘパリン加(10~20 u/ml)末梢血 10 ml を採取し滅菌試験管に移し 37°C にて 90 分間静置する。この間に赤血球は沈降し上層の白血球が豊富に含まれた層を採取する。これを 1200 rpm



で10分間遠沈して白血球を得るが、このとき混入した赤血球は 1.5 ml の滅菌蒸留水を加えて軽く振とうし、破壊する。その後、速やかに Eagle MEM 培養液 15 ml を加えよく攪拌して 1200 rpm, 10分間遠沈する。この操作を 3 回くり返して白血球を洗浄後、Eagle MEM 培養液を加えて細胞数を 2.0×10^7 cells/ml に調整する。つぎに小試験管 (7×70 mm) に白血球浮遊液を 0.05 ml (細胞数 1×10^6 cells)、自家または他家の癌組織粗抽出液 0.05 ml (最終濃度 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調整したもの⁸⁾、血清 (56°C 30分間 incubate にて非働化したもの) 0.05 ml および Eagle MEM 培養液 0.05~0.15 ml を Fig. 2 に示す組み合わせで混合し、全量 0.2 ml となるように入れ、全試験管を 5分毎に振とうしながら 37°C, 30分間, 5% CO₂ の条件下で incubate する (preliminary incubation)。その後、血球計算盤に各白血球浮遊液を入れ、100%湿度下で 37°C にて 60分間 incubate し計算盤の一定区画内の有核細胞数を顕微鏡下 (×400) に count する (initial cell number)。ついで計算盤を 37°C に保温した生理食塩水中に静かに沈め、カバーガラスを除き静かに計算盤を動かして非粘着性白血球を除去後、ふたたびカバーガラスをのせて Eagle MEM 培養液 1 滴を滴下し前回算定した同一区画内の有核細胞数を count する

(remaining cell number)。そして Fig. 2 の下段に示す計算式により % adherence および LAI index を求めた。

結 果

1) LAI test における TCC-Ext の活性

Table 1 は膀胱癌組織より得た TCC-Ext を抗原とし、白血球は膀胱癌患者 (10例)、対照群 (10例)、前立腺癌患者 (4例) および腎癌患者 (3例) より得たものを用いて行なった場合の LAI test の結果である。ただし患者血清の影響を除外するため血清はすべて FCS を使用している。まず、膀胱癌患者白血球に TCC-Ext を添加した場合 LAI index は 0.58 ± 0.12 と著明な ($p < 0.02$) 反応性を示すが、対照群、前立腺癌および腎癌患者白血球に TCC-Ext を添加した場合の LAI index はそれぞれ 0.88 ± 0.19 , 0.81 ± 0.14 , 0.85 ± 0.20 とほとんど反応性を示さない。したがって TCC-Ext は膀胱癌患者白血球と特異的に反応するといえる。つぎに種々の血清を加えた際の LAI index の変化より血清の影響を調べた。

Table 1. Activity of antigen on LAI

Leukocytes Donor	Antigen	Serum	LAI index (M±SD)
Bladder Carcinoma (n=10)	TCC	FCS	$0.58 \pm 0.12^*$
Normal Subjects (n=10)	TCC	FCS	0.88 ± 0.19
Prostatic Carcinoma (n=4)	TCC	FCS	0.81 ± 0.14
Renal Carcinoma (n=3)	TCC	FCS	0.85 ± 0.20

TCC: transitional cell carcinoma

FCS: fetal calf serum

* $P < 0.02$

2) 癌患者血清の LAI blocking 効果

Table 2 の上段は術前の膀胱癌患者白血球に TCC-Ext を加え、血清を FCS とした場合 LAI index は 0.43 ± 0.08 と著明な反応を示すが、これに術前の膀胱癌患者血清を加えると LAI index は 0.78 ± 0.13 となり反応が阻止されることを示す。Table 2 の中段は術後 2 週間目の膀胱癌患者白血球を用いて同様な実験を行なったもので、術前膀胱癌患者血清では阻止効果が認められるものの、腎癌患者血清では何ら血清の影響は認められないことを示す。また Table 2 の下段は術前膀胱癌患者白血球に PS-Ext を抗原として添

Table 2. Blocking effect of appropriate tumor serum on LAI

Leukocytes Donor	Antigen	Serum (n)	LAI index (M±SD)
pre op. B.C. (III, B ₁)	—	FCS (6)	0.89±0.11
	TCC	FCS (6)	0.43±0.08**
	TCC	FCS+pre op. B.C. (8)	0.78±0.13**
p.o. 2W B.C. (II, A)	—	Normal (5)	0.92±0.12
	TCC	Normal (5)	0.48±0.16*
	TCC	N+pre op. B.C. (6)	0.80±0.21**
	TCC	N+Renal ca. (4)	0.51±0.14
pre op. B.C. (III, B ₁)	—	Normal (4)	0.88±0.16
	Prost. Sar.	Normal (4)	0.86±0.18
	Prost. Sar.	N+pre op. B.C. (7)	0.82±0.12
	Prost. Sar.	N+Prost. Sar. (4)	0.81±0.10

BC: bladder carcinoma
 TCC: transitional cell carcinoma
 * leukocytes reactive
 ** serum blocking effect positive. P<0.01

加し、正常人、術前膀胱癌患者血清および前立腺肉腫患者血清をそれぞれ加えても LAI index は0.80前後でほとんど変化を示さない。すなわち膀胱癌患者白血球は異種の癌組織抗原とは反応しないこと、およびこの場合は血清は何ら影響力を持たないことを示している。

3) 癌患者血清の LAI blocking, unblocking 効果

Table 3 は術前・術後の膀胱癌患者白血球に TCC-Ext を作用させ、その際に正常人血清、膀胱癌患者血

Table 3. Blocking & unblocking effect of serum on LAI

Leukocytes Donor	Antigen	Serum (n)	LAI index (M±SD)
B.C. (III, B ₁) pre op.	—	Normal (6)	0.88±0.09
	TCC	Normal (6)	0.45±0.11*
	TCC	N+pre op. B.C. (8)	0.80±0.13**
	TCC	N+pre op. B.C. +p.o. B.C. (8)	0.54±0.10***
B.C. (II, B ₁) P.O. 1M.	—	Normal (5)	0.90±0.14
	TCC	Normal (5)	0.51±0.11*
	TCC	N+pre op. Renal ca. (4)	0.87±0.12
	TCC	N+pre op. Renal ca. +p.o. Renal ca. (4)	0.89±0.08
B.C. (III, C) P.O. 9M. recurrence	—	Normal (6)	0.79±0.09
	TCC	Normal (6)	0.31±0.10*
	TCC	N+p.o. 9M Auto. (5)	0.71±0.06**
	TCC	N+Auto. +p.o. B.C. (8)	0.47±0.11***

post op. blood samples were taken 3~6 months after operation.

* leukocytes reactive. P<0.001
 ** serum blocking effect. P<0.001
 *** serum unblocking effect. P<0.001

清、腎癌患者血清を添加した場合の LAI index をみたものである。Table 3 の上段は正常人血清では患者白血球はよく反応することを示しているが、これに術前の膀胱癌患者血清を加えるとその反応が阻止されることを示している。さらに上記2種の血清に術後の膀胱癌患者血清を加えると LAI 反応の著明な (p<0.001) 回復がみられることを示している。すなわち、術後患者血清の unblocking 効果がうかがわれる。Table 3 の中段は同様な組み合わせによる LAI index の比較であるが、腎癌患者血清を使用している。この場合、患者白血球の TCC-Ext による LAI 反応に対して術前・術後の腎癌患者血清はほとんど影響を与えないことを示している。さらに Table 3 の下段は膀胱全摘除術後9カ月目に局所再発を認めた症例の白血球の TCC-Ext に対する LAI 反応をみたものである。この場合は自己血清の blocking 効果が認められ (p<0.001)、また術後膀胱癌患者血清の unblocking 効果も認められる (p<0.001)。

4) 膀胱癌患者の術後における LAI index の経時的変化

つぎに手術にて腫瘍を摘除した後の LAI index がどのように変化するかを10例の膀胱癌患者 (うち1例は術後9カ月目に再発) を選んで術後1週間~2年間にわたって観察した。血清はすべて FCS を使用している。Table 4 に示すとうり、術後4週目までは測定しえたすべての症例が LAI test 陽性 (normal limits 0.64~1.16)⁸⁾ である。しかし術後3カ月目では測定した4例中2例は陰性となり、さらに術後6カ月では測定しえた5例全例が LAI test 陰性となっている。そして術後1年目では8例中7例 (88.9%) が陰性とな

Table 4. LAI index used autologous antigen in postoperative course of bladder carcinoma

Case (G.S)*	Period after operation						
	1W	2W	4W	3M	6M	1Y	2Y
1 (III, B ₁)	0.42			0.57	0.81	0.84	
2 (III, C)	0.45		0.59		0.76	0.88	
3 (III, B ₁)	0.43	0.49	0.45		0.98	0.96	
4 (II, A)		0.44				1.12	1.10
5 (II, A)	0.56			0.73	0.79	0.87	
6 (III, A)		0.56	0.53	0.64			
7 (III, C)	0.49		0.57			0.31**	
8 (II, ?)	0.52		0.48		0.85	0.94	
9 (III, B ₁)		0.46					0.38
10 (II, B ₁)	0.51			0.69		0.82	

* G: grade, S: stage
 ** Recurrence at P.O. 9M.
 Case 8: TUR Case, stage unknown

っている。ところが Case 7 のように再発を認めた症例では LAI index 0.31 と強陽性を示している。また Case 9 のように再発も転移も認めないが LAI index は術後 2 年目においても 0.38 と陽性を示す症例もある。

5) 術後における膀胱癌患者血清の blocking, unblocking 効果の経時的変化

Table 5 は術後 1 週間～6 カ月間における膀胱癌患者血清の LAI test に及ぼす効果をみたものである。この実験を行なった 5 症例はすべて経過観察中に再発あるいは転移を認めず tumor free と考えられる症例である。まず術後 1 週間目では 5 例とも blocking 効果が認められ ($p < 0.05$, $p < 0.001$)、一方 unblocking 効果はまったく認められない。しかし術後 4 週目では 5 例中 1 例に blocking 効果が認められなくなり、さらに術後 3 カ月では検査しえた 4 例すべてが blocking 効果陰性となっている。ところが unblocking 効果は逆に 4 例とも認められる ($p < 0.05$)。そして術後 6 カ月目では検査しえた 4 例中 3 例に unblocking 効果を認めている。しかし 1 例ではあるが Case 3 のように blocking 効果、unblocking 効果がともに認められなくなる症例もある。

Table 5. Blocking & unblocking effect of serum on LAI in postoperative course of bladder carcinoma

Serum Donor (G. S)		period after operation			
		1W	4W	3M	6M
1 (III. B ₁)	B	卄	+	-	-
	U	-	-	+	卄
2 (III. C)	B	卄	+	-	-
	U	-	-	+	+
3 (III. B ₁)	B	+	-	-	-
	U	-	-	+	-
4 (II. A)	B	卄	卄	-	-
	U	-	-	+	-
5 (II. ?)	B	+	+	-	-
	U	-	-	-	+

G. S: grade & stage of bladder carcinoma

B: blocking effect of serum

U: unblocking effect of serum

(-: negative. +: $P < 0.05$. 卄: $P < 0.01$. 卄: $P < 0.001$)

考 察

癌に対する免疫学的防禦機構の存在が言われてから久しくなるが、今なお癌を免疫療法単独で治癒せしめることは困難であるといわざるをえない。したがって、現在までに明らかにされている担癌患者の各種免

疫学的パラメータ^{14~16)}では説明のできない点が多々存在すると考えられる。1971年 Hellström ら¹⁷⁾は colony inhibition test にて癌特異的免疫反応を in vitro で検討した際に、患者血清を加えることで本反応が阻止される事実を見だし、免疫学的に腫瘍の増殖が enhancement される可能性を示唆した。このような患者血清の作用を Hellström ら blocking factor はまたは腫瘍に対する抗体の 1 種と考えて blocking antibody とよんできた。以来、癌に対する特異的免疫反応は宿主の防禦能および反防禦能を検討する目的の 1 手段として多く利用されてきている¹⁸⁾。私どもはこれまで膀胱癌患者の LAI test について検討してきたが、今回は LAI test に及ぼす患者血清の影響について調べた。その結果、興味ある所見が得られたので以下若干の文献的考察を加えながら述べる。

1) LAI test の臨床的応用について

私どもは既報にて⁸⁾、膀胱癌患者の LAI test における癌組織粗抽出液の非特異的細胞毒性および特異的免疫反応としての LAI test の妥当性について検討を加えた結果、TCC-Ext 100 $\mu\text{g/ml}$ の添加では白血球の生存率にはほとんど影響しないことが明らかとなった。また、自家および他家膀胱癌組織粗抽出液には交叉反応性の存在すること、ならびに他臓器癌組織抽出液とは交叉反応の存在しないことも認められた。

文献的には Halliday & Miller¹⁹⁾、Grosser ら¹⁹⁾、亀井ら²⁰⁾、Hellström ら²¹⁾が各種の癌患者について LAI test を試み、本検査の臨床的有用性について述べている。私どもも泌尿器科的悪性腫瘍患者で LAI test を行ない Table 1 に示したとおり、膀胱癌に関する限り癌関連抗原の存在することおよびその特異性が認められた。しかし問題となるのは in vivo における血清の存在である。Lewis ら²²⁾、Hellström ら²³⁾は細胞性腫瘍免疫に関して血清中の blocking factor または blocking antibody の存在を指適し、かつその特異的作用についても報告している。さらに Hellström ら²³⁾は殺細胞試験を用いて tumor-free となった患者の血清中には tumor-bearer の血清中に存在すると考えられている blocking factor の作用を打ち消すような因子 (unblocking factor) の存在を示唆している。そこで私どもも LAI test を用いて膀胱癌患者血清中の blocking, unblocking factor について検討した。

2) 癌患者血清中の blocking factor, unblocking factor について

ここ数年間の癌患者の免疫能に関する研究は著しい進歩を遂げ、その結果から導かれた理論に基づいて癌

の免疫療法が臨床的にも多用されつつある。しかし、実状は理論どりの効果が得られないことも多く、腫瘍免疫に与っている因子の複雑性を示している。Harris ら²⁴⁾は癌患者の免疫能とその病態像について以下の矛盾を指適している。すなわち、1) 癌患者の免疫能が保持されている場合でも腫瘍は着実に増殖することがあり、逆に、2) 癌患者の免疫能が低下している場合でも腫瘍の寛解が認められたり、維持されることがある点である。また、現在広く施行されている非特異的免疫療法は再々腫瘍の増殖を促す結果になる場合がある (immunological enhancement)。以上のような不合理性を解く1つの因子として免疫抑制機構の介在が考えられている。その中でも癌患者全般 (特に末期癌患者) にみられる細胞性免疫能の低下に関しては担癌患者の代謝異常などに基づく物質および癌組織由来の物質による非特異的免疫抑制作用が考えられている^{16, 25)}。私どもは既報にて膀胱癌患者血清中の非特異的免疫抑制因子について述べたが²⁷⁾、その際腫瘍を摘除した後 tumor-free で再発 および転移を認めない場合、免疫抑制因子は減弱ないしは消失することがわかった。したがって血清中免疫抑制因子の検討は術後における患者の免疫能を表現するパラメータになりえると考えられるが、免疫療法を行なう場合は特異的免疫抑制因子の存在を考慮せねばならない。Hellström ら¹⁷⁾は cytotoxicity test を用いて81例の癌患者中67例 (82.7%) の患者血清に blocking 効果を確認、かつ組織型が同じ癌なら特異的に交叉反応を有するとしている。一方、術後で symptom free となった場合は19例中わずか3例 (15.8%) にしか blocking 効果がみられず、これは in vivo の腫瘍増殖状態と in vitro の血清 blocking 効果の相関性を示唆するとしている。その後、Hellström ら²⁷⁾は blocking activity の

メカニズムとして感作リンパ球の receptor が soluble tumor antigen で block されることを説き、 antigen-antibody complex の抗体は腫瘍抗原をリンパ球のレセプターに誘導する役目を持ち、そのリンパ球のレセプターをマスクすると述べている。Currie ら²⁸⁾も癌患者血清が感作リンパ球に作用する特異的免疫抑制因子 (inhibition factor) の存在を報告している。私どもは LAI test を用いて、まず血清の blocking factor の検出を試みたところ、術前および術後2週目の患者白血球は TCC-Ext によく反応するが、この反応は術前患者血清 (8検体, 6検体) により有意差をもって block されることが判明した。一方、組織型の異なる腎癌患者血清 (4検体) では blocking 効果はみられなかった。さらに PS-Ext を抗原とした場合には何ら反応を示さず、血清の影響も全く認められなかった点より膀胱癌患者血清の特異的免疫抑制因子の存在が示唆された。ところが Table 3 に示したとおり上記実験系に術後の膀胱癌患者血清を加えると、一旦 block された反応が回復する現象が認められた。したがって術後膀胱癌患者血清中の unblocking 効果も示唆された。Halliday ら²⁹⁾および Maluish ら³⁰⁾も LAI test にて悪性黒色腫、乳癌患者血清中の blocking 効果、unblocking 効果を検索し、私どもの成績と同様な結果を報告している。そして彼らは LAI test は細胞性および体液性免疫反応を腫瘍の状態 (すなわち、増殖、退縮、術後、再発) に応じて変化する indicator として用いると述べている。換言すれば、担癌生体の特異的免疫反応は抗原刺激の強さによって変化することも言える。そこで腫瘍摘除前・後の LAI index を FCS のみ用いて調べたところ (Table 4) 例外はあるが術後3~6カ月で LAI 反応は弱くなる傾向にあることが分った。このような現象は 1) 術後3~6カ月

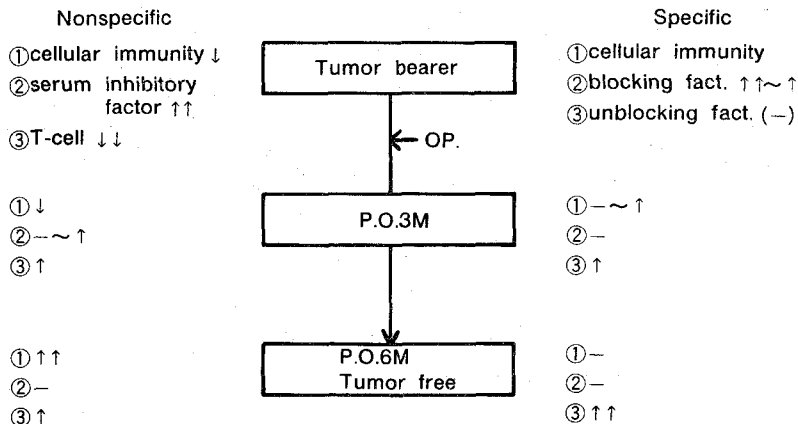


Fig. 3. Immunological parameters of bladder carcinoma

の間は血中に癌抗原が存在する。2) あるいは術前に癌抗原を認識した免疫記憶細胞が術後3~6カ月まで存続することを示している。一方、術後の blocking, unblocking 効果を経時的にみると Table 5 に示したとおり、blocking 効果は術後3カ月頃に消失する症例が多く、代ってそのころより unblocking 効果が出現してくることが判明した。したがって、もし blocking factor が抗原・抗体複合体であるなら抗原が消失したあとただちに血中 blocking factor は消え去り unblocking factor の性格をもった free antibody とおき換る可能性が考えられる。以上のように担癌患者は術後その特異的免疫反応は複雑に変化していくものと推測されるが、血中の unblocking factor をうまく利用できれば特異的免疫療法の補助的効果が期待される。また、すでに報告したとおり^{3,4,8,21)}、リンパ球の非特異的免疫反応は一般に術後漸次上昇し、血清の非特異的免疫抑制作用は術後漸次低下する事実をふまえながら免疫療法の施行時期を考えねばならない。Fig. 3 は私どもがこれまでに調べてきた膀胱癌患者の免疫能を術前・術後を通じて非特異的および特異的の2面よりまとめたものである。このような結果から理論的に考えれば、免疫療法はリンパ球の反応性が回復し血清の blocking 効果が弱くなる術後3カ月前後に行なうのが最も効果的と言える。しかし実際的には手術以外に化学療法や放射線療法などを併用する場合も少なくはなく、*in vivo* における免疫反応はさらに複雑な変化をする可能性が大であり、Fig. 3 のように一元的には考え難いが、このような状況も考慮しながら今後は以上の理論に基づいた膀胱癌の免疫学的治療を臨床的に応用していきたい。

ま と め

1) 膀胱癌患者10例、対照群10例、前立腺癌患者4例および腎癌患者3例について膀胱癌組織粗抽出液を抗原とした LAI test を試みた結果、膀胱癌患者に特異的免疫反応が認められた。

2) 術前または術後早期の膀胱癌患者血清中には LAI 反応を阻止する作用 (blocking factor) の作用は存在することが明らかとなった。またこの特異的であることも分った。

3) 一方、術後膀胱癌患者血清中には blocking factor を阻止する unblocking factor の出現することが認められた。そして術後 tumor free な場合は約3カ月目で blocking factor と unblocking factor は入れかわる傾向が認められた。

本論文の要旨は第16回日本癌治療学会総会において発表した

文 献

- 1) Kikuchi, K., Kanaya, T., Yamaoka, H., Suzuki, T. and Ishii, Y.: Lymphoblastogenesis with phytohemagglutinin, local response of mononuclear cells and prognosis of cancer patients. *Tumor Res.*, **10**: 12~19, 1975.
- 2) 漆崎一郎：癌患者の免疫能。癌の臨床, **24**: 378~385, 1978.
- 3) Nishio, S., Morikawa, Y., Horii, A., Kawakita, J., Nishijima, T., Kishimoto, T. and Maekawa, M.: Studies on nonspecific cellular immune response in patients with urinary bladder carcinoma. *Osaka City Med. J.*, **24**: 51~71, 1978.
- 4) 西尾正一：膀胱癌患者の細胞性免疫能に関する研究。第2報：末梢血リンパ球の subpopulation について。泌尿紀要, **23**: 367~375, 1977.
- 5) Hellström, I.: A colony inhibition (CI) technique for demonstration of tumor cell destruction by lymphoid cells in vitro. *Int. J. Cancer*, **2**: 65~68, 1967.
- 6) 金谷 隆：癌患者における細胞性免疫能に関する研究。第2編。自家癌細胞抗原による癌患者リンパ球の特異的幼若化について。札幌医誌, **43**: 60~68, 1974.
- 7) 秋山 毅・秦 彰良・辻 秀男：マクロファージ遊走阻止試験による人腫瘍の細胞性免疫の検索。I. 悪性腫瘍患者のリンパ球と自家腫瘍組織粗抽出液との培養上清のマクロファージ遊走阻止能。臨床免疫, **5**: 761~767, 1973.
- 8) 西尾正一・堀井明範・森川洋二・川喜多順二・西島高明・前川正信：膀胱癌患者の細胞性免疫能に関する研究。第4報：自家および他家膀胱癌粗抽出液を用いたについて。日泌尿会誌, **70**: 305~316, 1979.
- 9) Broders, A. C.: Epithelioma of the genito-urinary organs. *Ann. Surg.*, **75**: 574~604, 1922.
- 10) Jewett, H. T. and Strong, G. H.: Infiltrating carcinoma of the bladder; Relation of depth of penetration of the bladder wall to incidence of local extension. *J. Urol.*, **55**: 366~372, 1946.
- 11) Marshall, V. F.: The choice of surgical therapy for epithelial neoplasms of the urinary bladder.

- Brit. J. Urol., **29**: 228~231, 1957.
- 12) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265~275, 1951.
 - 13) Halliday, W. J. and Miller, S.: Leukocyte adherence inhibition test; a simple test for cell-mediated tumor immunity and serum blocking factors. *Int. J. Cancer*, **9**: 477~483, 1972.
 - 14) 小川一誠・井上雄弘: 免疫療法とパラメーター. *in vitro* のパラメーター. *癌の臨床*, **24**: 477~482, 1978.
 - 15) 久野悟郎・曾根三郎・大口秀利・螺良英郎: 免疫療法とパラメーター. *皮膚反応*. *癌の臨床*, **24**: 483~487, 1978.
 - 16) 石谷邦彦: 免疫療法とパラメーター. *体液性免疫抑制因子*. *癌の臨床*, **24**: 488~494, 1978.
 - 17) Hellström, I., Sjogren, H. O., Warner, G. and Hellström, K. E.: Blocking of cell-mediated tumor immunity by sera from patients with growing neoplasms. *Int. J. Cancer*, **7**: 226~237, 1971.
 - 18) 菊地浩吉: 細胞性免疫の臨床的意義, *がんと免疫総合臨床*, **26**: 2874~2882, 1977.
 - 19) Grosser, N., Marti, J. H., Proctor, J. W. dan Thomson, D. M.: Tube leukocyte adherence inhibition assay for the detection of antitumor immunity. I. monocyte is the reactive cell. *Int. J. Cancer*, **18**: 39~47, 1976.
 - 20) 亀井秀雄・桃井 良・葛谷 元・中江万二・殿村邦彦・杉本一好・大倉国利・近藤達平: 胃癌補助診断法として leukocyte adherence inhibition test (LAI). *の医学のあゆみ*, **97**: 71~72, 1976.
 - 21) Hellström, I., Hellström, K. E. Van Belle, G. and Warner, G. A.: Leukocyte-mediated reactivity to human tumors as detected by leukocyte adherence inhibition test. I. demonstration of tumor type specific reactions. *Am. J. Clin. Pathol.*, **68**(Suppl.): 706~714, 1977.
 - 22) Lewis, M. G., Ikonopisov, R. L., Nairn, R. C., Phillips, T. M., Hamilton, F. G., Bodenhan, D. C. and Alexander, P.: Tumor-specific antibodies in human malignant melanoma and their relationship to the extent of the disease. *Brit. Med. J.*, **3**: 547~552, 1969.
 - 23) Hellström, I., Hellström, K. E., Sjogren, H. O. and Warner, G. A.: Serum factors in tumor-free patients cancelling the blocking of cell-mediated tumor immunity. *Int. J. Cancer*, **8**: 185~191, 1971.
 - 24) Harris, J. E. and Sinocovics, J. B.: Immunity in human malignant disease. C. V. Mosby Co. Saint Louis, 1976.
 - 25) 漆崎一朗・後町洋一・長井忠則・西条 登・小山隆三・福田守道: *がん血清中のリンパ球の PHA 反応抑制因子*. *最新医学*, **29**: 1775~1783, 1974.
 - 26) 西尾正一: 膀胱癌患者の細胞性免疫能に関する研究. 第3報: 患者血清のリンパ球幼若化能に与える影響について. *日泌尿会誌*, **69**: 347~356, 1978.
 - 27) Hellström, K. E. and Hellström, I.: Leukocyte-mediated cytotoxicity and blocking serum activity to tumor antigens. *Adv. Immunol.*, **18**: 209~277, 1974.
 - 28) Currie, G. A. and Basham, C.: Serum mediated inhibition of the immunological reactions of the patients to his own tumor: a possible role for circulating antigen. *Brit. J. Cancer*, **26**: 427~438, 1972.
 - 29) Halliday, W. J., Maluish, A. and Isbister, W. H.: Detection of antitumor cell mediated immunity and serum blocking factors in cancer patients by the leukocyte adherence inhibition test. *Brit. J. Cancer*, **29**: 31~35, 1974.
 - 30) Maluish, A. and Halliday, W. J.: Cell-mediated immunity and specific serum factors in human cancer; The leukocyte adherence inhibition test. *J. Natl. Cancer Inst.*, **52**: 1415~1420, 1974.
 - 31) 西尾正一: 膀胱癌患者の細胞性免疫能に関する研究. 第1報: PHA 添加培養による患者末梢血リンパ球の幼若化能について. *日泌尿会誌*, **67**: 589~600, 1976.

(1979年4月25日受付)