

癌性胸膜炎に対する Lentinan 胸腹腔内投与の試み —特に免疫学的検討を中心に—

山口大学第2外科

吉野 茂文, 岡 正朗, 裕 彰一, 鈴木 徹

〔原稿受付:平成元年2月17日〕

Effect of Intrapleural and/or Intraperitoneal Lentinan Therapy on Carcinomatous Pleuritis and Peritonitis with Specific Reference to Immunological Evaluation

SHIGEFUMI YOSHINO, MASAAKI OKA, SHOICHI HAZAMA and TAKASHI SUZUKI

Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, Yamaguchi, Japan

Eleven patients, seven with carcinomatous pleuritis and four with carcinomatous peritonitis, were treated with the intrapleural and/or intraperitoneal administration of Lentinan (4 mg/week × 4). And the following results were obtained.

(1) Eight patients revealed a clinical effect; malignant effusion disappeared in two and diminished in two. In six, the cytological grade decreased.

(2) Subpopulations of peripheral blood lymphocytes (PBL) and pleural or peritoneal effusion mononuclear cells (PEMNC) were examined using monoclonal antibodies (OKT4, OKT8, Leu7, CD8 × CD11). These showed no change during the course of treatment.

(3) NK activities of PBL didn't improved but those of PEMNC significantly improved ($P < 0.01$) during this therapy. Anti-Daudi activities of PEMNC tended to be augmented during this therapy. Especially in effective cases, anti-Daudi activities were highly augmented.

(4) As a side effect, only one showed an elevation of body temperature.

These results indicate that intrapleural and/or intraperitoneal Lentinan administration is a useful treatment for carcinomatous pleuritis and peritonitis.

Key words: Lentinan, Carcinomatous pleuritis, Carcinomatous peritonitis, Intrapleural administration, Intraperitoneal administration.

索引語: レンチナン, 癌性胸膜炎, 癌性腹膜炎, 胸腔内投与, 腹腔内投与.

Present address: Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, 1144 Kogushi, Ube, Yamaguchi 755, Japan.

はじめに

対象及び方法

癌性胸腹膜炎は、われわれ消化器外科医が、消化器癌に対し治療切除を行ったにも拘らず、よく遭遇する再発形式の1つであり、しばしばその治療には難渋する。特に、多量の胸腹水が貯留するため、そのコントロールが難しい。利尿剤やアルブミン製剤の投与にて、一時的には胸腹水の減少をもたらすことは出来るが、腫瘍に対する根本治療ではないため、再度胸腹水が貯留してくることが多い。最近では、胸腹水中の腫瘍細胞を死滅させる目的で、さまざまな治療法が試みられており^{8,10,11,12,13,14,16,18)}、比較的良好な治療成績を散見されるが、全般的になお不満足である。

今回われわれは、胸腹水の貯留している癌性胸腹膜炎の患者に対し、新らしく、抗腫瘍多糖体であるLentinanの胸腹腔内投与を試みた。胸腹水の減少、胸腹水中の腫瘍細胞の変化という2点につき臨床効果をもとに、種々の免疫学的パラメーターを測定し、若干の知見を得たので報告する。

1. 対象症例 (表1)

癌性胸腹水の貯留している11例の癌性胸腹膜炎患者を対象とした。癌性胸膜炎7例、癌性腹膜炎4例であり、原発巣は、胃癌8例、膵癌1例、不明2例であった。胃癌症例の6例、膵癌症例の1例において原発巣は切除されていた。癌性胸腹膜炎の診断は、胸腹水細胞診により行ったが、class Vでなくとも、血性胸腹水など、臨床的に明らかに癌性胸腹膜炎と思わせる症例も検討対象とした。

2. Lentinan 投与方法 (図1)

Lentinan は、シイタケ (*Lentinus edodes*) の子実体の部分より抽出、精製された高分子グルカンであり、 $\beta(1\rightarrow3)$ 結合を主体とし、分子式は $(C_6H_{10}O_5)_n$ 、平均分子量は50万ダルトンである⁹⁾。Lentinan 4 mg を生理的食塩水 10 ml に溶解し、週1回、計4回胸腹腔内へ投与した。また、Tegafur 400~800 mg/日を経口、あるいは点滴静注にて併用投与した。Lentinan 投与中

表1. Lentinan 胸腹腔内投与症例

| 症 例 | 原発巣 | 胸腹水 | 胸腹水の変化 | 胸腹水細胞診 | | 副作用 |
|----------|-----|-----|-----------|--------|-----|-----|
| | | | | 投与前 | 投与後 | |
| 1. 36 F | 胃 癌 | 腹 水 | 不 変 | V | V | な し |
| 2. 76 F | 胃 癌 | 腹 水 | 不 変 | V | IV | な し |
| 3. 53 M | 胃 癌 | 腹 水 | 不 変 | V | I | な し |
| 4. 65 M | 胃 癌 | 腹 水 | 減 少 | III | IV | な し |
| 5. 68 F | 胃 癌 | 胸 水 | 消 失 (7日) | II | II | な し |
| 6. 56 M | 胃 癌 | 胸 水 | 不 変 | V | IV | な し |
| 7. 66 M | 胃 癌 | 胸 水 | 不 変 | V | V | な し |
| 8. 68 M | 胃 癌 | 胸 水 | 不 変 | II | I | な し |
| 9. 72 M | 膵 癌 | 胸 水 | 不 変 | V | V | な し |
| 10. 77 M | 不 明 | 胸 水 | 消 失 (28日) | IV | I | 発 熱 |
| 11. 78 M | 不 明 | 胸 水 | 減 少 | V | III | な し |

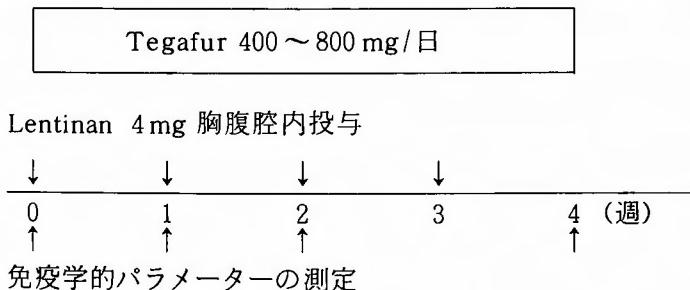


図1. Lentinan 胸腹腔内投与スケジュール

は、患者が苦しまぬ限り、胸腹水を吸引しないようにし、利尿剤、アルブミン製剤等の投与も極力避けた。

3. 臨床効果の判定

胸腹水の減少あるいは消失、細胞診検査におけるclassの改善のいずれかが認められた症例を有効例とした。胸水症例においては胸部X線写真で胸水量を判定し、本治療において胸水が減少、消失し、本治療中増加のみられなかった症例を有効とした。腹水症例においては臍を通る腹囲で腹水量を判定し、腹囲が5cm以上減少し、本治療中増加がみられなかった症例を有効とした。

4. Lentinan 投与後の胸腹水浸出細胞の変化

Lentinan 投与後、1, 3, 7日目の胸腹水塗抹標本を作製し、胸腹水浸出細胞の経時の変化を光顕的に観察した。染色は、Papanicolaou, May-Giemsa 染色にて行った。

5. 末梢血リンパ球 (Peripheral Blood Lymphocytes, PBL) 及び胸腹水単核球 (Pleural or Peritoneal Effusion Mononuclear Cells, PEMNC) の分離

i) PBL の分離

ヘパリン加末梢血 15ml を Phosphate Buffer Saline (PBS) にて希釈し、Lymphoprep に重層し、比重遠心法にてリンパ球分画を回収した。PBS にて3回洗浄ののち、5% Fetal Calf Serum (FCS) 添加 RPMI 1640 に浮遊させた。

ii) PEMNC の分離

Uchida ら¹⁷⁾の方法に準じ胸腹水中の単核球と腫瘍細胞を分離した。すなわち、300~500mlの胸腹水を遠心し、細胞成分が 1×10^6 個/ml となるよう 10% FCS 添加 RPMI1640 に浮遊させた。重層した100%及び75%の Ficoll-Paque の上に細胞浮遊液を重層し、非連続比重遠心法により単核球と腫瘍細胞に分離した。100%と75%の Ficoll-Paque の境界に集まる単核球層を回収、3回洗浄ののち、5%FCS 添加 RPMI1640 に浮遊させた。腫瘍細胞が5%以下であることを確認し、以下の実験に使用した。

6. 免疫学的パラメーターの測定 (図1)

i) PBL, PEMNC の subpopulation

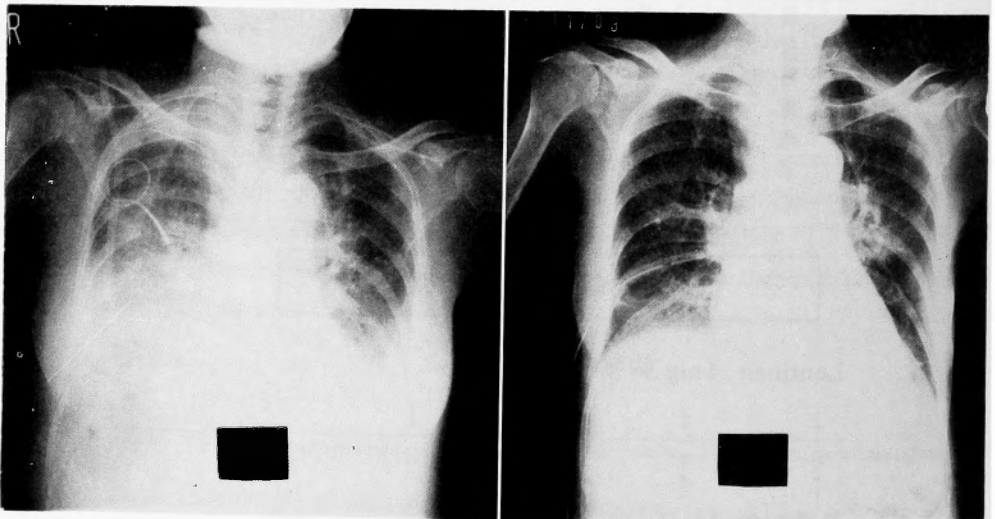
PBL, PEMNC においてモノクローナル抗体を使用し、リンパ球 subpopulation を測定した。使用したモノクローナル抗体は、OKT4, OKT8, Leu 7, CD8×CD11 である。

ii) PBL, PEMNC の細胞障害活性

PBL, PEMNC において、NK 活性を測定した。

表2. Lentinan 胸腹腔内投与の臨床効果

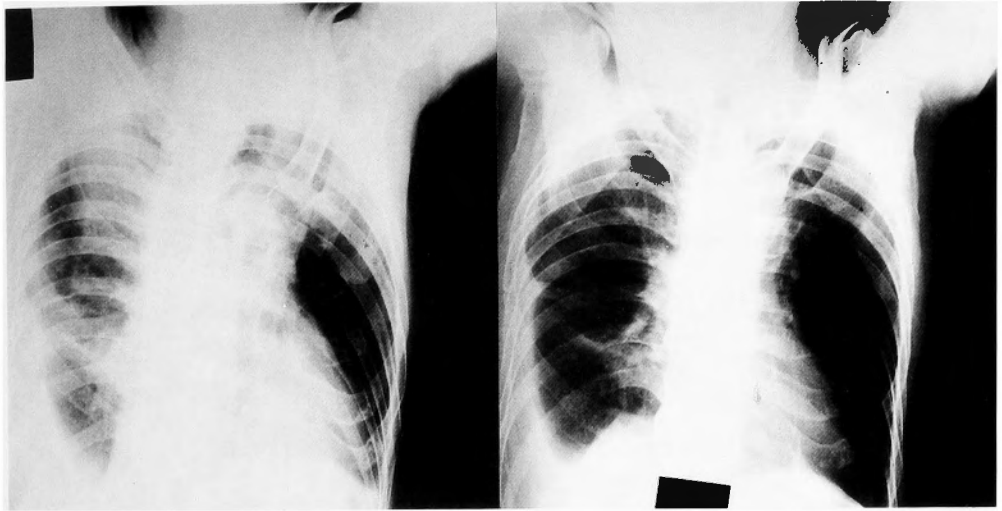
| | |
|--------------|----|
| 症例数 | 11 |
| 有効例 | 8 |
| 胸腹水消失 | 2 |
| 胸腹水減少 | 2 |
| 細胞診 class 改善 | 6 |
| 無効例 | 4 |



Lentinan 投与前

Lentinan 投与7日後

図2. 胸水消失例の胸部X線写真 (症例5)



Lentinan 投与前

Lentinan 投与28日後

図3. 胸水減少例の胸部X線写真(症例11)

Target cell は K-562 を使用し, Effector: Target ratio (E:T ratio)=40:1 の4時間 ^{51}Cr -release assay にて測定した. また, PEMNC においては Daudi を Target cell とする細胞障害活性も測定した. これも E:T ratio=40:1 の4時間 ^{51}Cr -release assay にて測定した.

i) ii) の免疫学的パラメーターは, Lentinan 投与前, 投与1, 2, 4週後に測定し, その推移をみた.

結 果

1. 臨床効果(表1, 2)

11例中胸腹水の消失が2例に, 減少が2例に認められた. 消失した2例は, ともに胸水症例であり1例は Lentinan 投与後7日目に, もう1例は28日目に消失が認められた. 他の7例の胸腹水量は不変であった. 細胞診における class 改善は6例において認められた. 胸水症例の2例においては, 胸水の減少, 消失と細胞診における class の改善がともに認められた. 従って, 本治療における有効例は, 11例中8例であり, 有効率は73%であった. 副作用は1例に発熱(38°C 以上)がみられたのみであった.

胸水消失例及び減少例の本治療前後の胸部X線写真をそれぞれ図2, 図3に示す.

2. Lentinan 投与後の胸腹水浸出細胞の経時的変化(図4)

Lentinan 投与によりほとんどの症例で1, 3日後に

好中球またはマクロファージが多数みられるようになり, 7日後には, リンパ球がほとんど占めるような傾向があった.

3. 免疫学的パラメーターの推移

i) PBL, PEMNC の subpopulation

Lentinan 投与前, 投与中における, PBL, PEMNC の subpopulation の変化を図5及び図6に示す. PBL, PEMNC とともに, OKT4, OKT8, Leu7, CD8×CD11 陽性細胞の割合に変化はみられなかった.

ii) PBL NK 活性(図7)

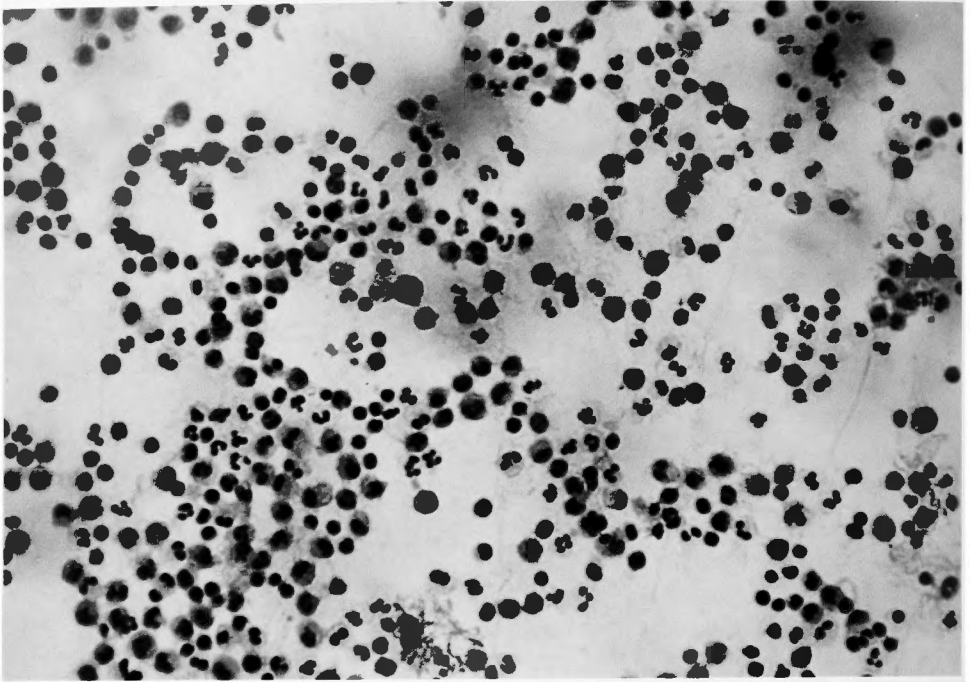
Lentinan 投与前, 投与4週間後の PBL NK 活性を比較すると, 3例に上昇がみられたものの, 8例で低下しており, 一定の傾向はみられなかった.

iii) PEMNC NK 活性, 抗 Daudi 活性

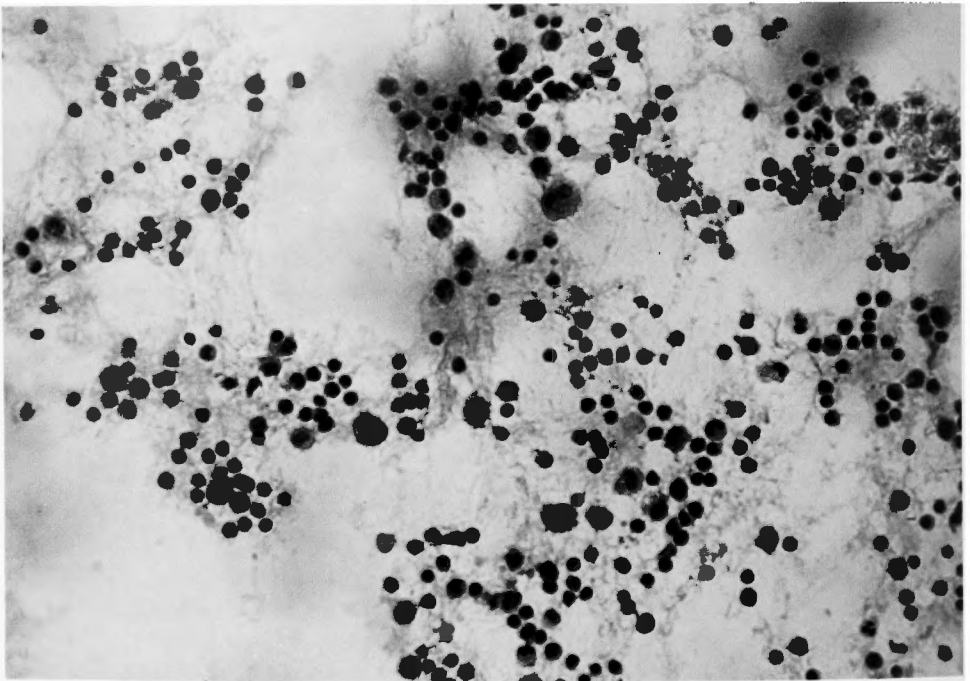
PEMNC の NK 活性の推移を図8に, 抗 Daudi 活性の推移を図9に示す. NK 活性, 抗 Daudi 活性とともに, 左側は Lentinan 投与前値を示し, 右側は投与後最高に達した時の値を示す. PEMNC の NK 活性は, 測定出来た10例のうち9例で増強が認められた($P<0.01$). また PEMNC の抗 Daudi 活性も11例中8例に活性の増強が認められ, しかも2例においては10倍以上の高い活性増強が認められた.

iv) 有効例における PEMNC 抗 Daudi 活性の推移

図9に示した抗 Daudi 活性のうち, 有効例8例における値を表3に抜粋して示した. 症例3, 4, 8, 11では Lentinan 投与後の抗 Daudi 活性が高く誘導さ



Lentinan 投与3日後



Lentinan 投与7日後

図4. Lentinan 投与後の胸水塗抹標本の変化 (症例11, Papanicolaou 染色) 3日後には好中球, マクロファージの浸出が, 7日後にはリンパ球の浸出がみられる.

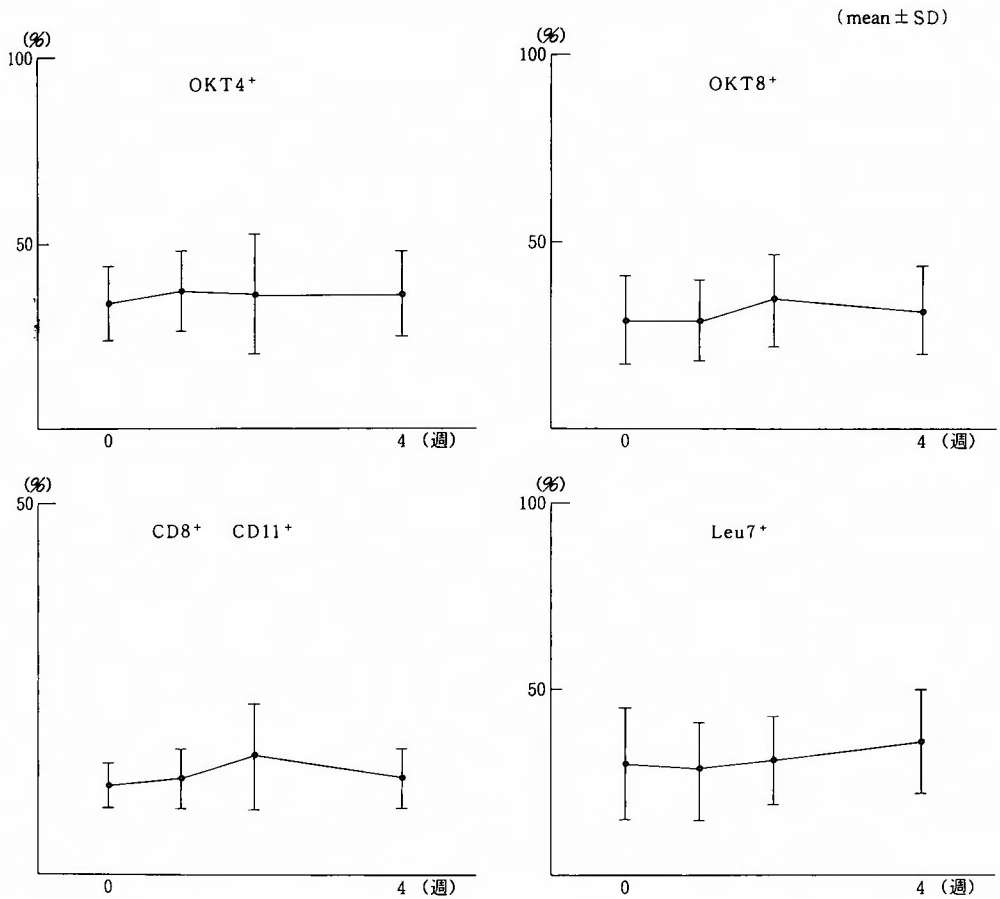


図5. Lentinan 投与前, 投与中における末梢血リンパ球 subpopulation の推移

れていた。しかし、有効例8例における、抗 Daudi 活性の有意な増強は認められなかった。

考 察

担癌患者、特に消化器癌患者の末期の病像の1つとして癌性胸腹膜炎があり、時には、主病巣を外科的に完全に切除してもいづれ癌性胸腹膜炎という形で再発してくる症例があり、外科医の満足感をはかなくも消し去ってしまうものである。また、かかる再発例ではしばしば胸腹水のコントロールに難渋する。このような癌性胸腹膜炎に対し、近年では、免疫療法が注目を浴びようになってきた。

片野ら⁸⁾は、Biological Response Modifier (BRM) の1つである OK-432 を癌性腹膜炎患者に対し腹腔内投与を試み、良い治療成績をあげている。また、

Interleukin-2 の胸腹腔内投与^{12,14,18)}や、胸腹腔内への局所的 Adoptive immunotherapy^{12~14)}なども最近さかんに行なわれており、これらも治療成績が良いようである。われわれも、癌性胸腹膜炎に対して抗腫瘍多糖体である Lentinan を胸腹腔内という局所に投与し、その治療効果のみとともに、免疫学的パラメーターの推移を追ってみた。

もともと Lentinan は、再発、進行胃癌症例に対し静脈内投与することにより、延命効果が得られている^{2,15)}。しかも Lentinan の免疫学的作用機序は詳しく解明されており、特に、直接的細胞障害性のないこと¹⁾、in vivo における細胞障害性Tリンパ球の産生増強⁴⁾、NK 活性の増強¹⁾、活性化マクロファージの誘導増強⁵⁾、ADMC の増強⁷⁾、また、細胞障害性Tリンパ球の Interleukin-2 による活性化誘導の増強⁶⁾などが

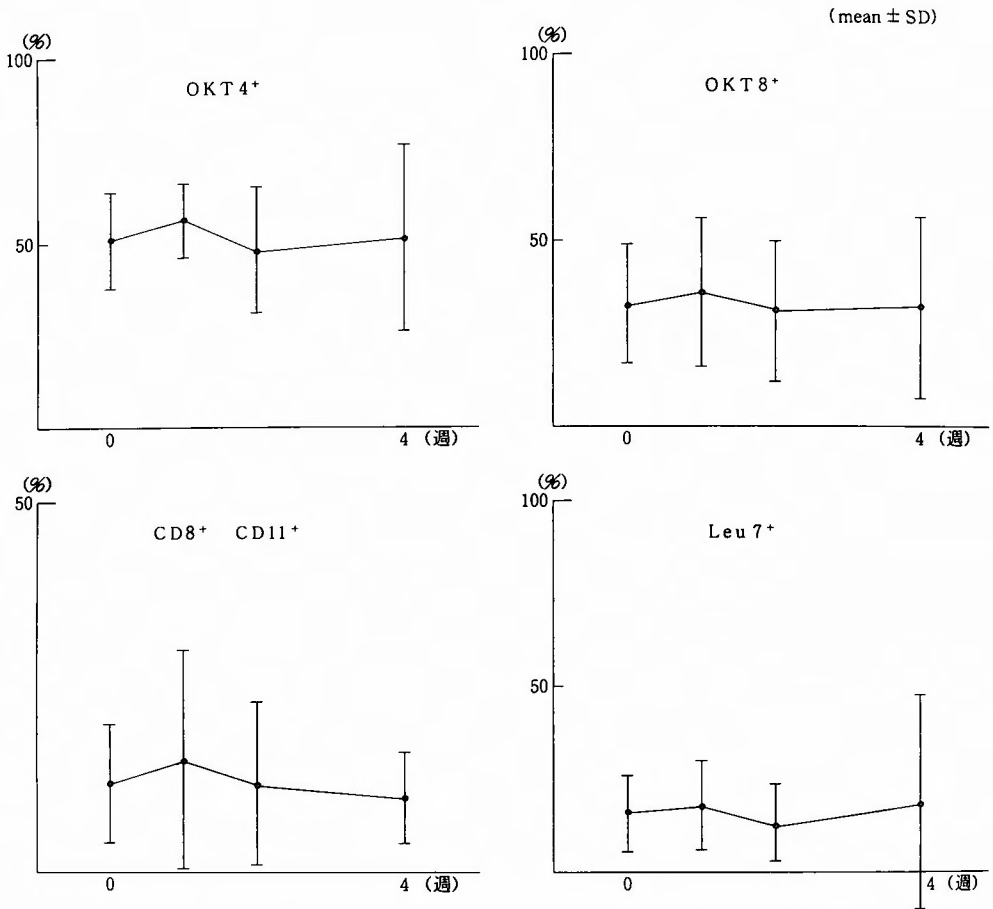


図 6. Lentinan 投与前, 投与中における胸腹水単核球 subpopulation の推移

認められており, Lentinan は BRM に属するものといえる。その Lentinan の BRM としての作用に期待し, 新たに, 癌性胸腹膜炎患者の胸腹腔内投与に着目, 施行した。

本治療における有効例は11例中8例であり, 有効率は73%であった。癌性胸腹膜炎の治療効果を判定する上では, 胸腹水の減少, 浮遊腫瘍細胞の死滅という2点が重要である。有効例8例のうち, 胸腹水の消失が2例, 減少が2例, 細胞診における class 改善が6例に認められた。われわれの有効例の判定基準は, ややあまい感があり, そういった意味では, 有効率73%は過大評価しすぎかもしれないが, しかし, 胸水が完全に消失した症例や, 胸腹腔内の腹瘍細胞が完全に消失した症例があり, 確かに有効な治療法であるということ実感出来た。また, 治療前の細胞診が class V でな

い症例が4例含まれているが, 血中腫瘍マーカーの上昇など, 明らかに癌性胸腹膜炎と診断されたため対象症例に含めた。興味あることに, これら4例のうち, 2例は胸水の消失, 1例は腹水の減少がみられており, 胸腹水中に明らかな腫瘍細胞が証明されていない方が, 臨床的治療効果が良かった。OK-432 の腹腔内投与では, 腫瘍細胞陽性の方が治療効果が良いとの報告がある¹¹⁾が, これとは対照的であった。片野ら⁹⁾は, 主病巣の切除されていない癌性腹膜炎症例に対し, OK-432 を腹腔内投与し, 主病巣の縮小した症例を報告している。われわれの症例でも主病巣が切除されていない症例が4例あった(2例は原発不明)が, 主病巣の変化を観察していないため, その効果は不明である。

Lentinan 胸腹腔及投与後の胸腹水浸出細胞の変化をみると, 投与1~3日目には好中球が多くみられた。

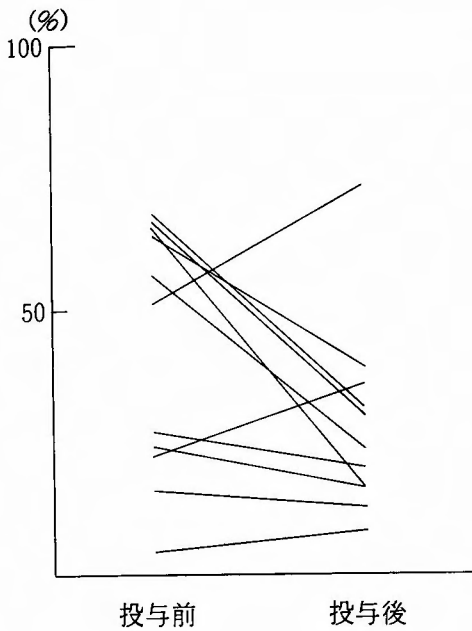


図7. Lentinan 投与前, 投与4週後の末梢血リンパ球 NK 活性の変化

しかし, 7日目には好中球はほとんど消失し, リンパ球が主体となっていた. 投与初期に好中球の浸出が発現するという現象は, OK-432 腹腔内投与の際みられる現象^{10,11)}と同じであり, Lentinan 投与に際しても, この浸出好中球が何らかの抗腫瘍効果をもたらしていることは推察されるが, その機能を測定していないため確かなことは言えない. また, 胸腹水浸出 Effector cell が腫瘍細胞を取り巻く像や, 腫瘍細胞を破壊している像は, 残念ながら促えることは出来なかった.

免疫パラメーターの推移をみるために, PBL, PEMNC の subpopulation, NK 活性, 及び PEMNC の抗 Daudi 活性を測定した. subpopulation は, T cell subset, NK 細胞の割合を測定した. T cell subset では OKT8 が suppressor/cytotoxic T cell という相反する機能をもつ細胞のマーカーであるため, CD8×CD11 にて suppressor T cell のみの推移も追ってみた. しかし, PBL, PEMNC とともにその subpopulsyion の割合に変化はみられなかった. 今回, われわれは subpopulation の割合のみ注目し, その推移を追ってみたが, 各々の細胞の絶対数の変化をみることも大事ではなかったかと思われる. 次に NK 活性について

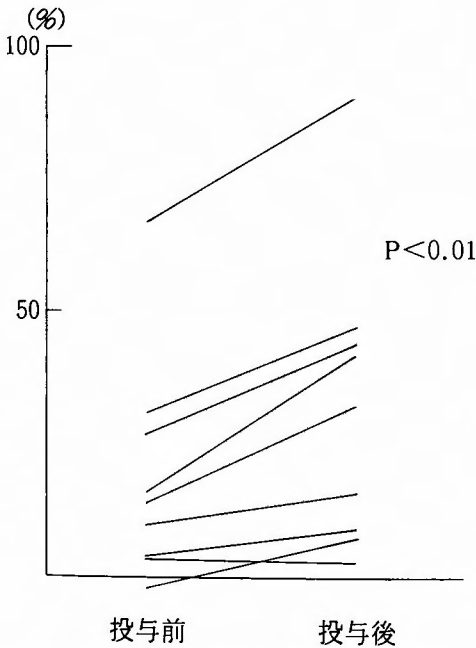


図8. Lentinan 投与前, 投与後の胸腹水単核球 NK 活性 (Target: K562, E: T=40:1)

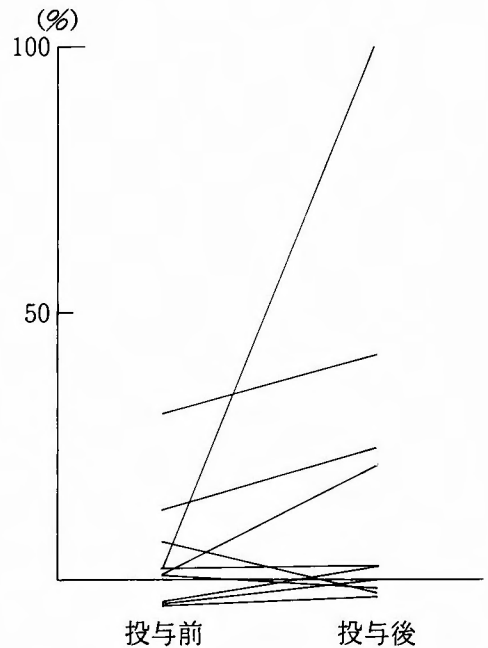


図9. Lentinan 投与前, 投与後の胸腹水単核球抗 Daudi 活性 (E: T=40:1)

表3. Lentinan 投与有効例における胸腹水単核球抗 Daudi 活性の推移

| 症例 | 胸腹水の変化 | 胸腹水細胞診 | | 抗 Daudi 活性 (%) | |
|-----|--------|--------|-----|----------------|-------|
| | | 投与前 | 投与後 | 投与前 | 投与後 |
| 2. | 不変 | V | IV | -5.5 | -0.1 |
| 3. | 不変 | V | I | 1.2 | 21.2 |
| 4. | 減少 | III | IV | 31.5 | 41.9 |
| 5. | 消失 | II | II | 測定不能 | |
| 6. | 不変 | V | IV | -5.2 | 2.3 |
| 8. | 不変 | II | I | 2.1 | 100.9 |
| 10. | 消失 | IV | I | -5.1 | -2.9 |
| 11. | 減少 | V | III | 13.0 | 24.4 |

症例 No. は表1の No. と一致.

であるが、PBLにおいては、その変化に一定の傾向がなかった。NK 活性, subpopulation とともに PBL では変化がなく、胸腹腔内という局所への Lentinan の投与では、全身の免疫能にまでは、影響を及ぼさないものと思われた。

PEMNC においては、Lentinan 投与により subpopulation の割合に変化はみられなかったが、NK 活性は、ほとんどの症例で増強がみられ、また抗 Daudi 活性も高く誘導された症例があった。これらは、Lentinan の BRM としての作用を裏付ける、興味ある結果である。特に抗 Daudi 活性の増強がみられたということには、非常に興味を持たれる。Lentinan 投与により、胸腹腔内において NK 細胞以外の Effector cell が誘導されている可能性が示唆されるからである。

胸腹水の消失、減少例や、細胞診における class 改善例など、本剤投与有効例における PEMNC の抗 Daudi 活性の推移をみると、有効例8例のうち、4例において高く活性が誘導されていた。このように抗 Daudi 活性が、この治療法の有効性を見極める1つのパラメーターになることが示唆された。

副作用は、1例に発熱がみられたのみであり、Lentinan 胸腹腔内投与は、患者を苦しめずに行える治療であることが確認出来た。

結 語

癌性胸腹膜炎症例に対し、新しく Lentinan の胸腹腔内投与(4 mg/週×4回)を試み、以下の結果を得た。

1. 11例中、胸膜水消失が2例、減少が2例、細胞診における class 改善が6例に認められた。

2. 末梢血リンパ球、胸腹水単核球の subpopulation の割合に経時的変化は認められなかった。

3. Lentinan 投与により、末梢血 NK 活性は増強されなかったが、胸腹水単核球の NK 活性、抗 Daudi 活性は増強された。特に、有効例において胸腹水単核球の抗 Daudi 活性が高く増強されており、胸腹水単核球の抗 Daudi 活性は、本治療法における1つのパラメーターになると思われた。

4. 副作用は、1例に発熱がみられたのみであった。

以上より、癌性胸腹膜炎に対する Lentinan 胸腹腔内投与は有効な治療法と思われた。

文 献

- 1) 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.
- 2) 古江 尚, 伊藤一二, 木村 正, 他: レンチナンの Phase III Study——消化器(胃・大腸)がんにおける無作為化比較試験(封筒法)——. 癌と化学療法 8: 944-966, 1981.
- 3) Hamuro J, Chihara G: Lentinan, a T-cell-oriented immunopotentiator—its experimental and clinical applications and possible mechanism of immune modulation. Immune modulation agents and their mechanism (ed. by R. L. Fenichel, et al): 409-435, 1984.
- 4) Hamuro J, Rölinghoff M, Wagner H: $\beta(1\rightarrow3)$ Glucan—mediated augmentation of alloreactive murine cytotoxic T-lymphocytes in vivo. Cancer Res 38: 3080-3085, 1978.
- 5) Hamuro J, Rölinghoff M, Wagner H: Induction of cytotoxic peritoneal exudate cells by T-cell immune adjuvants of the $\beta(1\rightarrow3)$ glucan-type len-

- tinan and its analogues. Immunology 39: 551-559, 1980.
- 6) Hamuro J, Takarada M, Kashima 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.
 - 7) Herlyn D, Kaneko Y, Powe J : Monoclonal antibody-dependent murine macrophage-mediated cytotoxicity against human tumors is stimulated by lentinan. Jpn J Cancer Res 76: 37-42, 1985.
 - 8) 片野光男 : 末期癌性腹膜炎患者の治療 (第1報) : 溶連菌製剤腹腔内投与法の臨床効果. 福岡医誌 72: 532-542, 1981.
 - 9) 片野光男, 溝口哲郎, 山本裕士 : 癌性腹膜炎患者に対する OK-432 腹腔内投与による主病巣縮小効果. 日外会誌 88: 1676-1683, 1987.
 - 10) 長尾啓一 : 癌性胸膜炎の治療に関する研究一とくに OK-432 の効果について一. 千葉医学 58: 345-353, 1982.
 - 11) 坂田正毅, 鳥巢要道 : 癌性腹膜炎の免疫療法. 消化器外科 6: 1195-1203, 1983.
 - 12) 鈴木裕之, 阿保七三郎, 辻 和男, 他 : IL-2 を用いた新しい癌免疫療法の検討—IL-2 の胸腔内投与と養子免疫療法について—. 診療と新薬 24: 1425-1430, 1987.
 - 13) 田口鐵男 : インターロイキン 2 (IL-2) と癌治療. 癌と化学療法 13: 1-10, 1986.
 - 14) 田口鐵男, 堂本憲司 : LAK 細胞と Adoptive Immunotherapy. 癌と化学療法 14: 914-921, 1987.
 - 15) 田口鐵男, 古江 尚, 木村 正, 他 レンチナン Phase III Study の遠隔成績—消化器 (胃・大腸) がんにおける無作為化比較試験 (封筒法) の追跡調査—. 癌と化学療法 12: 366-378, 1985.
 - 16) 高尾尊身, 前之原茂穂, 吉永淳教, 他 : 消化器癌由来癌性腹膜炎に対する Two-route chemotherapy—Cisplatin 腹腔内投与と中和剤 Sodium Thio-sulfate 経静脈投与併用療法—. 日癌治誌 23: 1696-1709, 1988.
 - 17) Uchida A, Micksche M : Lysis of fresh human tumor cells by autologous peripheral blood lymphocytes and pleural effusion lymphocytes activated by OK-432. JNCI 71: 673-680, 1983.
 - 18) Yasumoto K, Miyazaki K, Nagashima A, et al : Induction of lymphokine-activated killer cells by intrapleural instillations of recombinant interleukin-2 in patients with malignant pleurisy due to lung cancer. Cancer Res 47: 2184-2187, 1987.

正 誤 表

日本外科宝函第58巻第3号に誤植がありましたので、ここに慎んで訂正させていただきます。

| | 誤 | 正 |
|---------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 310頁 タイトル中 | 癌性胸腹炎に対する Lentinan 胸腹腔内 投与の試み | 癌性胸腹膜炎に対する Lentinan 胸腹腔内投 与の試み |
| 312頁 表 2 | 無効例 4 | 無効例 3 |