

膀胱癌患者の細胞性免疫能に関する研究

第7報：患者血中 β_2 -Microglobulin (β_2 -MG) 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・池本慎一

尾崎祐吉・和田誠次

堀井明範・川喜多順二

前川正信

STUDIES OF CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS
WITH URINARY BLADDER CARCINOMAVII. EVALUATION OF SERUM β_2 -MICROGLOBULIN (β_2 -MG)

Shoichi NISHIO, Shinichi IKEMOTO, Yukichi OZAKI,

Seiji WADA, Akinori HORII, Junji KAWAKITA

and Masanobu MAEKAWA

From the Department of Urology, Osaka City University Medical School

(Director: Prof. M. Maekawa, M.D.)

Various immunological inhibitory factors were found in patients with malignant diseases. The β_2 -microglobulin (β_2 -MG) was synthesized by many kinds of nuclear cells and malignant human cells; and, this protein had a structural relationship to immunoglobulins and HLA antigen. In the present study, we measured the serum β_2 -MG of 12 control subjects and 45 patients with urinary bladder carcinoma having normal renal function by radioimmunoassay. The serum β_2 -MG concentration was elevated in high grade and high stage patients. But the difference was not significant between control subjects and low grade or low stage patients. The level of β_2 -MG was markedly decreased after operation in high grade and high stage groups.

There was a correlation between β_2 -MG concentration and phytohemagglutinin-induced lymphocyte blastogenesis in the patients. It is suggested that β_2 -MG might be effective in augmenting the cellular immune response in patients with urinary bladder carcinoma.

Key words: Bladder carcinoma, β_2 -microglobulin, Stimulation index

はじめに

ある種の癌患者血清中には特異的に上昇すると考えられる物質が血中に見いだされている。その代表的なものは α -フェトプロテインや CEA であり、いわゆる腫瘍マーカーとして臨床的に広く利用されている^{1,2)}。いっぽう、癌患者の血清には免疫抑制性の物質が増加するといわれ多くの物質が患者血清を用いて分析されている³⁾。 β_2 -MG は主として有核細胞で産生

され⁴⁾、分子量 11,800 と小さいため安易に腎糸球体より濾過され、そのほとんどが尿細管で再吸収・分解される。したがって β_2 -MG は腎機能障害の評価や、とくに糸球体性蛋白尿と尿細管性蛋白尿との識別に利用されている⁵⁾。また β_2 -MG は腎機能が正常である各種の癌患者でも上昇することが報告されている⁶⁾。さらにリンパ球表面の HLA 抗原の L 鎖と同一構造であることが明らかにされて以来、生体の免疫機能との関連性について検討されつつある⁷⁾。今回私どもは

膀胱癌患者を対象として血中 β_2 -MG を測定し癌の進行度との関係ならびに腫瘍摘除前後における変化を検討し、さらにリンパ球サブセット (IgG Fc receptor positive T-cell, T_H 細胞) やリンパ球の phytohemagglutinin (PHA) による幼若化能 (stimulation index, S.I.) との関連性について検討した。

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 45 例で男子 34 例、女子 11 例、平均年齢は 65.8 歳である。膀胱癌の組織学的所見はすべて移行上皮癌で grade, stage は膀胱癌取扱い規約に基づいた⁹⁾。また対照群として泌尿器科的良性疾患 12 例を選んだ。その内訳は前立腺肥大症 3 例、腎結石 3 例、副睾丸炎 2 例、尿道カルンケル 2 例、腎のう胞 1 例、水腎症 1 例で男子 7 例、女子 5 例、平均年齢 63.8 歳である。

2) 方 法

β_2 -MG の測定方法は Phadecbas β_2 -microglobulin kit (Pharmacia Diagnostics, Sweden) を用いておこ

なった。本キットの原理は抗体をセファデックス粒子に結合させた。セファデックス固相法である。操作手順の詳細は説明書を参照されたい。また T_H 細胞画分の測定には JIMRO S-1 キット (日本抗体研究所) を用いた⁹⁾。さらに PHA 刺激による S.I. の測定には微量全血培養法を用いた¹⁰⁾。なお推計学的処理は student *t*-test, paired *t*-test にておこなった。

結 果

1) 対象群と患者群の β_2 -MG 比較

Fig. 1 は対照群と患者群の末梢血 β_2 -MG を比較したものである。対照群の平均値は $1.77 \pm 0.80 \mu\text{g/ml}$ ($M \pm SD$) で、患者群は $2.38 \pm 1.27 \mu\text{g/ml}$ と患者群は増加傾向にあったが有意差は認めなかった。つぎに癌の悪性度 (grade) および深達度 (stage) の別に分けて対照群との比較検討を試みた。Fig. 2 は対照群, low grade 群 (G0-1), high grade 群 (G2-3) の 3 者間で比較したものである。対照群と low grade 群の間にはほとんど差を認めず、また low grade 群と high grade 群との間にも有意なる差は認めなかったが、high grade 群 27 例のうち 10 例 (37.0%) は β_2 -MG

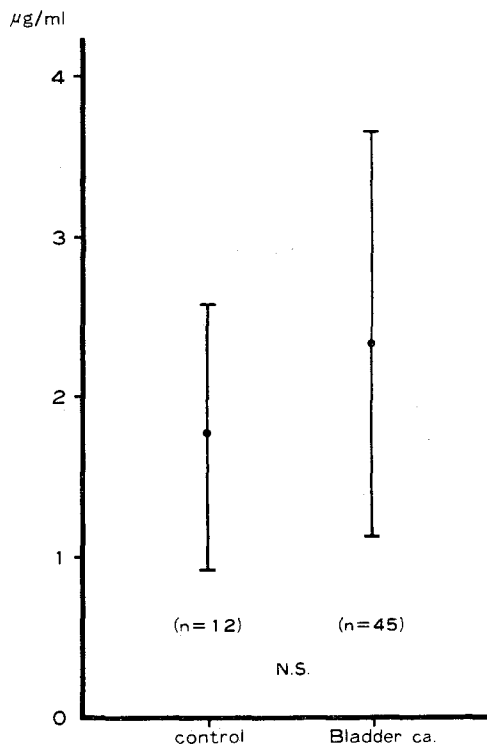


Fig. 1. Comparison of serum β_2 -MG between control subjects and patients with bladder carcinoma.

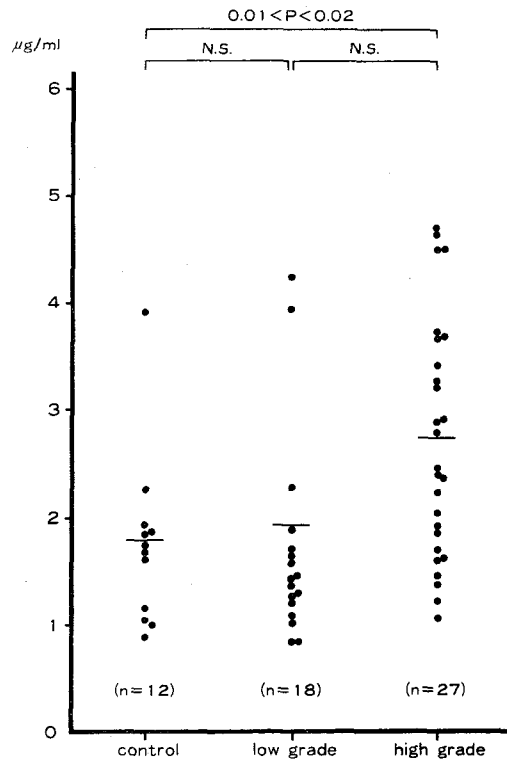


Fig. 2. Comparison of serum β_2 -MG between control subjects and low or high grade bladder carcinoma patients.

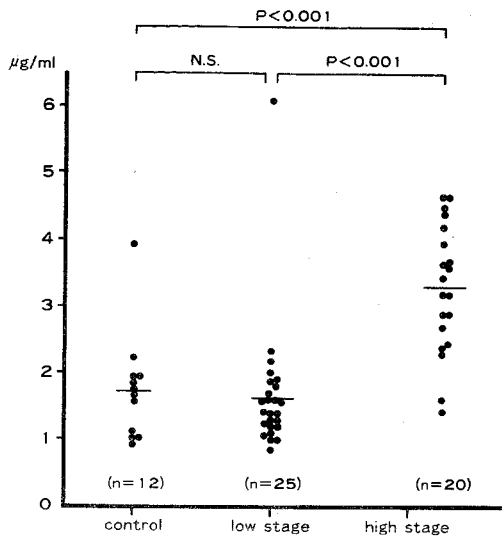


Fig. 3. Comparison of serum β_2 -MG between control subjects and low or high stage bladder carcinoma patients.

3.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示した。いっぽう、対照群に比して high grade 群では明らかに上昇していた ($0.01 < P < 0.02$)。同じく low stage 群 (T0-2) と high stage 群 (T3-4) に分けて比較すると、Fig. 3 に示すとおり対照群と low stage 群の間には差を認めないが対照群と high stage 群の間ならびに low stage 群と high stage 群の間には明らかな差を認め high stage 群の症例では著明な β_2 -MG の上昇を示すものがあった。そして high stage 群20例のうち 3.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示した症例は12例 (60.0%) であった。

2) 手術前・後における β -MG の変化

今回対象とした45例のうち44例は腫瘍に対して何らかの手術操作が加えられた (膀胱全摘除術18例, TUR-Bt 14例, 膀胱部分切除術10例, 腫瘍凍結術2例)。これら44例について手術前と後における β_2 -MG の変動を比較検討した。Table 1 は手術例全体の比較を示すもので、術前の β_2 -MG 2.38 $\mu\text{g/ml}$ に対して

Table 1. Comprison of serum β_2 -MG in patients with bladder carcinoma before and after operation.

	before	after
N	44	44
Mean	2.382	1.918
SD	1.274	0.714
SE	0.189	0.106

paired t-test, $0.001 < P < 0.01$

術後は 1.92 $\mu\text{g/ml}$ と約20%減少していた。これら症例を grade, stage 別について同一症例で検討すると low grade 群では術前に 3.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示した症例は術後に明らかな低下を示すが、多くの症例では著明な変動は示さなかった (Fig. 4)。いっぽう high grade 群の症例では Fig. 5 に示すとおり27例中6例 (22.2%) は術前に比して術後の β_2 -MG が上昇しているものの、8例 (29.6%) は術後明らかな低下を示し ($0.001 < P < 0.01$)、とくに術前値が 3.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示した症例では10例中9例 (90.0%) が術後に明らかな低下を示した。つぎに low stage 群についてみると、Fig. 6 に示すとおり手術前・後において著明な差は認めなかった。しかし high stage 群ではほとんどの症例が術後に明らかな低下を示し ($P < 0.001$)、術前の β_2 -MG が 3.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上の症例では12例中11例 (91.7%) が術後に低下していた (Fig. 7)。

3) β_2 -MG と T_T 細胞画分および S.I. との相関性

つぎに β_2 -MG 測定時とはほぼ同じ時期に測定した末梢血中 T_T の細胞画分 (%) との相関性を検討した。

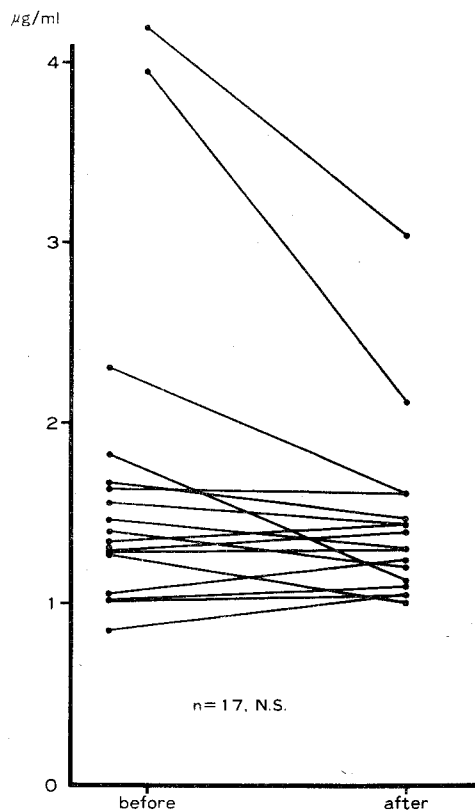


Fig. 4. Comparison of serum β_2 -MG in low grade bladder carcinoma patients before and after operation.

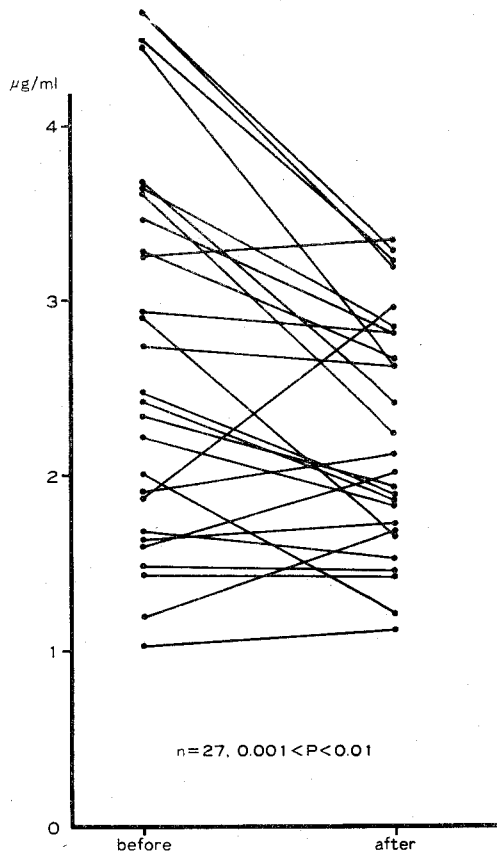


Fig. 5. Comparison of serum β_2 -MG in high grade bladder carcinoma patients before and after operation.

まず膀胱癌患者全体でみるとこの二者間には何ら相関性が認められなかった。さらに grade, stage の別に分けて検討したが明らかな相関関係は認められなかった (Fig. 8, 9)。しかし β_2 -MG と S.I. について検討すると, Fig. 10 に示すとおり S.I. 値が高くなるにつれて β_2 -MG の値は低くなる傾向が認められた。すなわち負の相関関係が認められた。 ($0.001 < P < 0.01$)。

考 察

近年、癌患者の癌に対する宿主抵抗性が実験癌、移植癌 (化学誘発癌) などを用いて解明されつつあるが^{10,11)}、臨床癌 (自然発生病) においては癌の特異性、宿主の個体差が大きく未解決の点が多く残されている。しかし多くの報告例より癌患者の細胞性免疫能は一般に健常者に比して低下するとされている。私どもはこれまで主として膀胱癌患者の細胞性免疫反応に関して検討してきたがその結果、膀胱癌患者の非特異

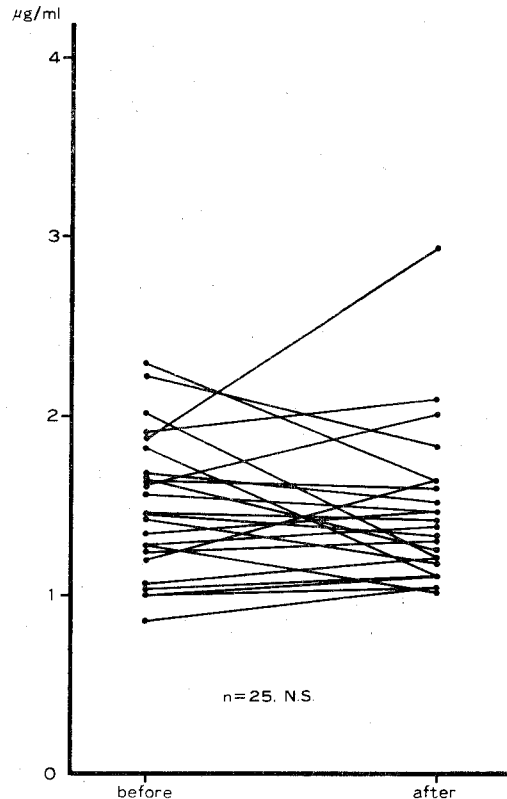


Fig. 6. Comparison of serum β_2 -MG in low stage bladder carcinoma patients before and after operation.

的細胞性免疫反応は低下しており、かつ癌の進行度と相関して低下することを見いだした¹²⁾。いっぽう、患者血清中には非特異的細胞性免疫反応を抑制する因子が存在することも示唆されたが、この血清中の抑制因子は癌の摘除により消失ないしは減弱することから血清中の抑制因子は癌組織に由来するものと考えられる¹³⁾。今回私どもが検討した β_2 -MG は生体内の多くの有核細胞で産生され、血中、尿中、乳汁、ダ液より検出されており¹⁴⁾、癌細胞でも産生されといわれている^{6,15)}。また β_2 -MG の化学構造は免疫グロブリンの H 鎖、L 鎖の一部と似ており HLA 抗原の一部を構成していることが明らかにされ免疫学的にも注目されている⁷⁾。現在のところ臨床的には β_2 -MG は腎機能の評価法の1つとして広く応用されているが、私どもは膀胱癌患者の病勢と治療による β_2 -MG の変動を観察し、またほかの免疫学的パラメータとの相関性を調べることでいわゆる tumor marker になりうるか否かを検討した。なお腎機能障害によって β_2 -MG は上昇するため血中クレアチニン値が 1.5 mg/dl をこえ

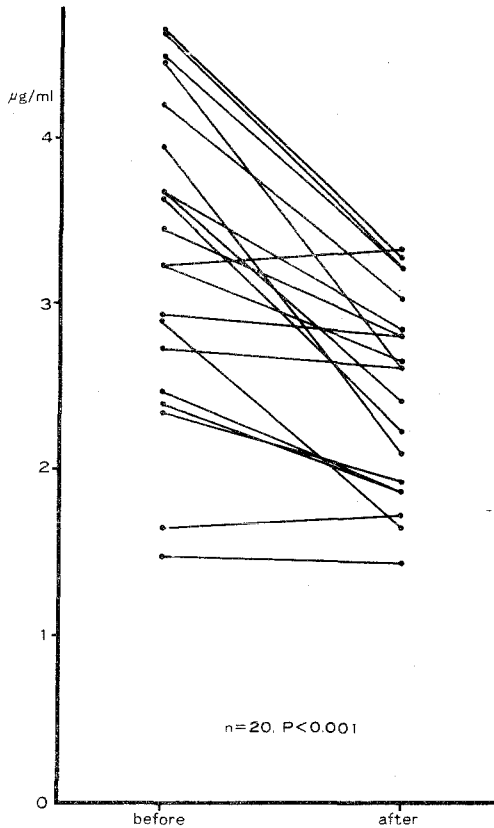


Fig. 7. Comparison of serum β_2 -MG in high stage bladder carcinoma patients before and after operation.

る症例は除外した。まず術前の膀胱癌患者全体と対照群とを比較検討すると有意な差は認めなかったが癌の深達度、悪性度の別に分けて検討すると、high grade,

high stage 群においては明らかに上昇していた。すなわち癌がある程度以上に進行した場合、 β_2 -MG は tumor marker の1つになりうると考えられるが、肺癌、肝癌、胆のう癌でも高値を示すと報告されており¹⁶⁾、膀胱癌に特異的とはいえない。川村らも泌尿生殖器癌について β_2 -MG を検討した結果、腫瘍マーカーとしては臓器特異性に乏しいが、予後判定に対しては有用な指標になると報告している¹⁷⁾。一方、腫瘍摘除が血中 β_2 -MG 値に影響するか否かを検討したところ手術例44例全体では明らかに術後の β_2 -MG が術前に比して低下していた。しかし術前値が対照群とほとんど差を認めない low grade 群、low stage 群では手術前・後における差は認めなかった。ところが術前値の高い high grade 群、high stage 群では術後に著明な低下を示す症例が多くみられ、再発した場合に再び上昇する症例も認められた。したがって β_2 -MG は進行癌に対する手術療法にて強く影響を受けると考えられ、腫瘍組織からの産生もかなり大きいものと推測される。つぎに suppressor T-cell と killer T-cell と考えられている T_T 細胞画分を同一患者末梢血について測定し、 β_2 -MG 値と比較検討したところ症例数が少なく明確なことは言えないが進行癌患者群では何ら相関性は認めず、low grade 群および low stage 群でも推計学的に有意なる相関関係は得られなかった。しかし β_2 -MG 値の高い症例では T_T 細胞画分も増加する傾向がうかがえた。このような結果から β_2 -MG が免疫学的にいかなる作用（抑制的作用なのか、促進的作用なのか）を有しているのかは判断できない。そこでつぎに β_2 -MG 測定とほぼ同じ時期に末梢血リンパ球の PHA 刺激による幼若化能 (S.I.) を測定し、この二者間における相関性を検討したところ β_2 -MG

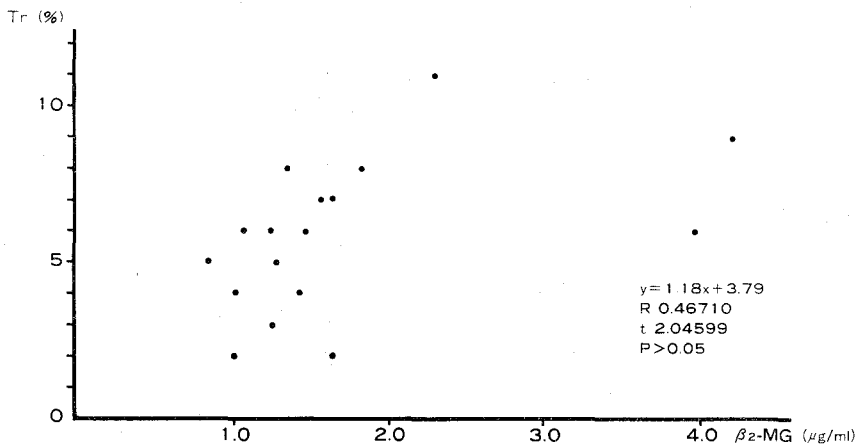


Fig. 8. Correlation T_T cell population and serum β_2 -MG in patients with low grade bladder carcinoma.

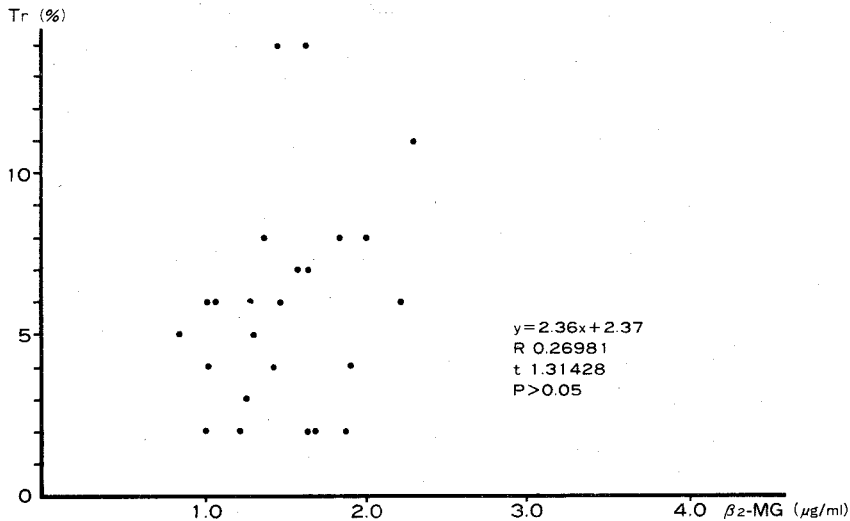


Fig. 9. Correlation T_7 cell population and serum β_2 -MG in patients with low stage bladder carcinoma.

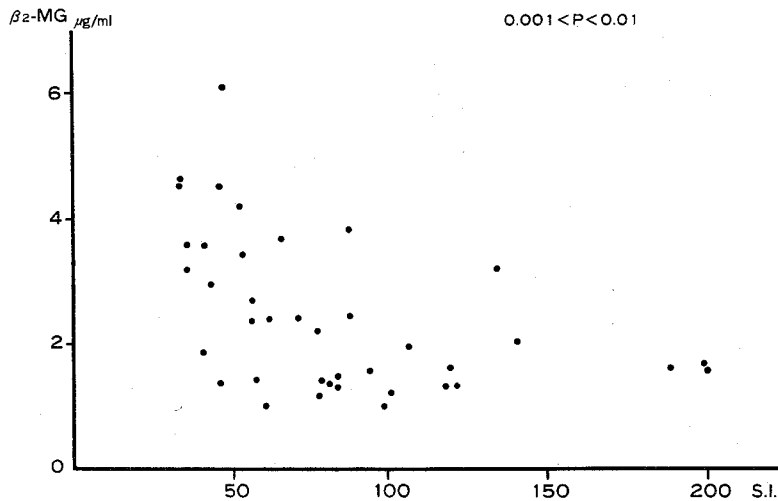


Fig. 10. Correlation serum β_2 -MG and PHA-induced blastogenesis (S.I.) of lymphocytes from patients with bladder carcinoma.

値の高い症例では S.I. 値の低下するものが多くみられ、推計学的にも有意なる負の相関関係が認められた。この場合の S.I. 値測定法としては全血培養法を用いているので血清は同一患者のものであり、血清の培養リンパ球に対する影響はよく反影されるものと考えられる。したがって β_2 -MG は数多く見いだされている癌患者血清中の免疫抑制因子の 1 つに加えられる可能性があると考えている。このように血中の β_2 -MG を測定することは術前においては癌の病勢ならびに宿主の免疫学的抵抗性を知る手段の 1 つとして有用であ

り、また術後においては腫瘍の残存、再発など腫瘍の消長を示す 1 つの指標になりうるものと考えられる。さらにリンパ球系細胞を中心とした細胞性免疫能は放射線療法や化学療法の影響を強く受けるものであり、このような併用療法を施行した場合の宿主免疫学的抵抗性の把握には細胞を用いる検索よりも血清中の因子を検索した方がより有利であると言える。 β_2 -MG は先にも述べたとおり腎機能障害によって明らかに上昇するのでとくに advanced case で検討する場合は注意する必要がある。今後、combine therapy を施行した

場合の β_2 -MG の変動について検討する予定である。

ま と め

1) 膀胱癌患者45例について血中 β_2 -MG の測定をおこない、癌の悪性度、深達度による変化ならびに手術前後における比較を試みた結果、high grade 群、high stage 群では明らかに上昇することを認めた。また、術前値の高い症例では術後に明らかな低下を示すものが多かった。

2) β_2 -MG 値と T 細胞画分との間にはとくに関連性は認められなかったが、 β_2 -MG と全血培養法による S.I. 値の間には負の相関関係が認められた。

3) 以上のことより β_2 -MG は宿主の抵抗性を知る1つの手段として有用であると考えられる。

文 献

- 1) 谷内 昭・坂本真一：Alpha-fetoprotein (AFP), 臨床の立場から。臨床科学 16: 801~807, 1980
- 2) 森 武貞・奥田 博・中尾照逸・稻治英生・神前五郎：Carcinoembryonic Antigen (CEA), 臨床の立場から。臨床科学 6: 818~819, 1980
- 3) 石谷邦彦：血清の免疫抑制物質の測定。臨床免疫 13 (Suppl. 3): 297~305, 1981
- 4) Poulik MD and Bloom AD: β_2 -Microglobulin Production and Secretion by Lymphocytes in Culture. J Immunol 110: 1430~1433, 1973
- 5) Peterson PA, Ervin PE and Berggard I: Differentiation of glomerular, tubular and normal proteinuria: Determinations of urinary excretion of β_2 -microglobulin, albumin and total protein. J Clin Invest 48: 1189~1198, 1969
- 6) Ervin PE and Nilsson K: β_2 -Microglobulin production in vitro by human hematopoietic, mesenchymal and epithelial cells. J Immunol 112: 137~144, 1974
- 7) 鎌倉恵子・谷本潔昭・横張龍一・堀内淑彦： β_2 -Microglobulin. 医学のあゆみ 94: 283~288, 1975
- 8) 膀胱癌取扱い規約：日本泌尿器科学会，日本病理学会編，金原出版，東京，1980
- 9) 西尾正一・池本慎一・尾崎祐吉・和田誠次・川喜多順二・前川正信：膀胱癌患者の細胞性免疫能に

関する研究，第6報：患者末梢血中の T_r 細胞画分の変動について。泌尿紀要（投稿中）

- 10) 川喜多順二：実験的膀胱腫瘍発生に及ぼす BCG および BCG-CWS 投与の影響について。日泌尿会誌 70: 1259~1277, 1979
- 11) Prehn RT and Main JM: Immunity to methylcholanthrene induced sarcomas. J Nat. Cancer Inst 18: 769~778, 1957
- 12) Nishio S, Horii A, Morikawa Y, Kawakita J, Nishijima T, Kishimoto T and Maekawa M: Studies of the nonspecific cellular immune response in patients with urinary bladder carcinoma. I. PHA-induced lymphocyte transformation. Invest Urol 16: 336~341, 1979
- 13) Nishio S, Horii A, Morikawa Y, Kawakita J, Nishijima T, Kishimoto T and Maekawa M: Studies of the nonspecific cellular immune response in patients with urinary bladder carcinoma. II. Immunodepressive effect of sera from bladder carcinoma. Invest Urol 16: 342~345, 1979
- 14) Berggard I and Bearn AG: Isolation and properties of a low molecular weight β_2 -globulin occurring in human biological fluids. J Biol Chem 243: 1095~1101, 1968
- 15) Kin K, Sakurabayashi I and Kawai T: β_2 -microglobulin levels of serum and ascites in malignant diseases. Gann 68: 427~434, 1977
- 16) 地曳和子・出村 博・福永隆幸・山中優和子・星野優子・出村黎子・鎮目和夫：悪性腫瘍における血中 β_2 -microglobulin についての検討，tumor marker としての意義。最新医学 35: 819~825, 1980
- 17) 川村寿一・添田朝樹・岡田謙一郎・吉田 修・高坂唯子・中島言子・吉井正雄・森田隆司・鳥塚莞爾：泌尿器癌における腫瘍マーカー：hCG, AFP, Prostatic serum acid phosphatase (PSAP), CEA, β_2 -microglobulin (β_2 -MG)。泌尿紀要 27: 269~278, 1981

(1982年3月11日受付)