

進行腎癌に対する LAK (Lymphokine-Activated Killer) 療法

大阪大学医学部泌尿器科学教室 (主任 : 奥山明彦教授)

中 野 悦 次

LYMPHOKINE-ACTIVATED KILLER (LAK) THERAPY FOR METASTATIC RENAL CELL CARCINOMA

Etsuji Nakano

From the Department of Urology, Osaka University Medical School

Fifteen patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC) were treated by administration of autologous lymphokine-activated killer (LAK) cells given together with systemic administration of interleukin-2 (IL-2). Pulmonary metastases alone were found in 10 cases, pulmonary and mediastinal nodal metastases in 3, and pulmonary and bone metastases in 2. LAK cells, generated by incubation in 700 units/ml of IL-2 for 3~4 days, were intravenously administered once a week. In addition, beginning on the day of the first LAK cell infusion, 3.5×10^5 units of IL-2 were intravenously infused once or twice a day with occasional supplementation of 3.5×10^5 units of IL-2 on each day of LAK cell infusion. The total number of LAK cells and total amount of IL-2 administered per patient in this study ranged from 0.8×10^{10} to 6.9×10^{10} cells and from 10.2×10^6 to 74.9×10^6 units, respectively. As toxic effects caused by the infusion of LAK cells, headache, shaking chills, fever and leukocytosis were found in all cases. Side effects possibly induced by IL-2 infusion were tolerable fever, fluid retention (body weight gain of 2~3 kg) and eosinophilia. Out of 15 patients, a partial response was observed in 4 patients who had pulmonary metastases alone. One of the 4 patients with a partial response was clinically free of disease after undergoing a thoractotomy for resection of residual lesions, but a brain metastasis was detected 10 months after the thoracotomy. The remaining 3 patients are being closely followed up at present. In 3 of 11 patients who did not response to this therapy, brain metastases were observed during or after the immunotherapy.

In conclusion, although a complete response could not be obtained, it can be said that this immunotherapy may be effective against RCC, particularly lung metastases, since a partial response was achieved in 4 of the 15 patients. However, it should be taken into consideration that this immunotherapeutic approach may risk an increase in the frequency of brain metastases.

(Acta Urol. Jpn. 38: 1305-1309, 1992)

Key words: Renal cell carcinoma, Interleukin-2, Lymphokine-activated killer cells

結 言

腎癌には、原発巣摘除後10年以上経過してから再発転移がみられたり¹⁾、また、ごく稀ではあるが原発巣摘除により転移巣が自然に消失することが認められることから²⁾、その治療の一つとして免疫療法に興味もたれている。事実、進行腎癌は放射線療法、化学療法ならびに内分泌療法に対してはまったく反応しないといってよい³⁻⁵⁾。唯一インターフェロンを用いた免疫療法に奏功するのみである⁶⁾。しかし奏功するとはいえ、約20%の有効率とまだ満足すべき状態ではない。このため本腫瘍に対しインターフェロン療法以外の有効な治療法の確立が望まれるところである。

ところで腎癌の免疫学的背景についてはすでに autologous mixed lymphocyte tumor cell culture の手法で解析し⁷⁾、腎癌の治療の一つとして細胞性免疫能の賦活が有用であることを示してきた。そしてその細胞性免疫賦活剤として interleukin-2 (以下 IL-2) に着目し、その有用性について in vitro の系で検討をかさね、lymphokine-activated killer cells (以下 LAK 細胞) と呼ばれる IL-2 刺激末梢血リンパ球が自己腫瘍細胞に対して殺細胞効果を有し、また培養後5日目に最も強い活性を示すようになることから、臨床的に LAK 細胞を用いる場合には4~6日間培養が至適な条件であることを報告してきた^{8,9)}。そしてこの LAK 細胞を移入する治療、すなわち L-

AK 療法が腎癌に対し有効であると考え、すでに14例の進行腎癌を対象にして LAK 療法をおこない、その成績について報告しているが¹⁰⁾、今回1例を追加し本療法の有効率ならびにその限界について報告するとともに、本療法の今後の展開についても私見を述べてみたい。

対象ならびに方法

腎摘除術により組織学的に腎癌と診断され、かつ測定可能病変を有する年齢37歳から72歳までの男性12例、女性3例を対象にして本治療をおこなった。腎摘除術時すでに転移巣を有していたのは9例であり (Table の症例 1, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 15), 残り6例は腎摘除術後17カ月から56カ月後に転移巣が発見されている。転移部は肺のみが10例、肺および縦隔リンパ節が3例に、肺ならびに骨が2例にみられた。IL-2 は武田薬品工業から供与をうけた比活性 1.2×10^7 Jurkat units/mg protein の遺伝子組換え型のものを使用した¹¹⁾。原則として LAK 細胞は週に一度、IL-2 全身投与は連日とした。LAK 生成法についてはすでに報告しているので¹⁰⁾、簡単に述べる。leukapheresis でえた lymphocyte-rich fraction から ficoll-hypaque による比重遠心法にてリンパ球を分離、このリンパ球を 700 units/ml の IL-2 を含む培養液に浮遊させ、37°C の 5% CO₂ incubator 内で培養した。培養後この LAK 細胞を約1時間で経静脈的に点滴投与した。前述のように至適培養条件が4～6日

間であったことから、原則として、月曜日に leukapheresis をおこない金曜日に LAK 細胞を投与した。月曜日に採取したリンパ球が少ない時は火曜日もリンパ球を採取し、この両日の LAK 細胞を金曜日に投与した。症例4のみ月曜日に採取したリンパ球を金曜日に、金曜日に移入する前に取ったリンパ球を翌週の火曜日に投与する週2回のスケジュールで治療した。IL-2 全身投与については、LAK 細胞を投与する日から、 3.5×10^6 units の IL-2 を1日ないし2回点滴静注した。症例1から4までは1日に1回を、症例5から15までは1日に2回 IL-2 を投与した。また症例によっては、さらに LAK 細胞投与日に 3.5×10^6 units の IL-2 を追加投与した。

効果判定はすべての病変の最大面積の和が50%以下になった時に partial response (PR) と、25%以上の増大時は progressive disease (PD) とし、それ以外の時は no change (NC) とした。効果判定は治療開始後2ないし3週間毎におこない、NC の時には最低6週間の治療をおこない、PD と考えられた時に本免疫療法を中断した。

結 果

Table に本免疫療法を適応した15例の年齢、性別、治療期間、投与した LAK 細胞ならびに IL-2 の総量、転移部位、治療効果ならびに転帰を一括して示した。肺転移巣のみを有する10例 (症例1, 2, 4～6, 8, 11～13, 15) のうち4例 (症例1, 12, 13, 15)に PR

Table 1. Patients characteristics, total dosages of LAK cells and IL-2, metastatic lesions, clinical response and outcome

Pt/Age/Sex	Treat. duration (weeks)	Total dosage		Metastatic lesions	Clinical response	Outcome ¹⁾
		LAK ($\times 10^{10}$)	IL 2 ($\times 10^6$)			
1. 55 m	16	6.9	24.9	Lung	PR	Dead 16 m
2. 72 m	12	5.8	9.2	Lung	NC	Dead 28 m
3. 54 m	9	3.3	23.5	Lung + Mediast	NC	Dead 1 m
4. 41 m	5	3.8	11.2	Lung	PD	Dead 36 m
5. 58 m	8	4.1	10.2	Lung	NC	Dead 30 m
6. 54 m	4	0.8	17.5	Lung	PD	Dead 1 m
7. 37 m	10	4.0	49.7	Lung + Bone	NC	Dead 5 m
8. 61 m	7	8.3	34.7	Lung	NC	Alive 46 m
9. 53 m	14	4.5	74.9	Lung + Mediast	NC	Dead 51 m
10. 46 f	7	2.4	43.8	Lung + Mediast	NC	Dead 14 m
11. 51 m	6	4.4	34.0	Lung	NC	Dead 19 m
12. 60 f	5	4.1	30.8	Lung	PR	Alive 45 m
13. 59 m	6	2.7	33.3	Lung	PR	Alive 41 m
14. 55 f	3	3.4	14.0	Lung + Bone	PD	Dead 9 m
15. 40 m	6	3.2	20.8	Lung	PR	Alive 5 m

1) Months after completion of the adoptive immunotherapy.

がみられた。症例1はLAK療法開始6週目にはPRになったため、さらに治療を続行したところ、LAK細胞総投与数 6.9×10^{10} 、IL-2 総投与量が 24.9×10^6 単位に達した16週目にはレ線以上80%以上の病巣が消失した。本症例は最終的に残存腫瘍を外科的に切除することにより、tumor free の状態にすることができた。しかし、本症例は肺の手術後10カ月目に脳転移が発見されず、脳転移に対して3回の手術にもかかわらず、本免疫療法終了16カ月目に死の転帰をとった。症例12は腎摘除術時すでに肺転移巣を有していたが、腎摘除後3週目から本治療をおこなった。治療開始後5週目には肺転移巣はPRの状態になったが、患者がこれ以上の治療継続を拒否したためこの段階で治療を断念した。以降インターフェロンならびにOK432投与し経過を観察しているが、LAK療法中止後41カ月経過した現在 tumor free の状態である。症例13は腎摘除術後56カ月に肺転移がみられたため、LAK療法をおこなったところ、6週目にPRとなった。以降、何ら他の治療をおこなっていないにもかかわらず、転移巣は縮小が続いたが、治療中止8カ月目に新たな肺転移巣が出現したため、現在インターフェロン投与中である。症例15も腎摘除時肺転移巣をみとめたため、術後 α インターフェロンの投与をおこなったが、効果がみられずLAK療法に変更した。治療6週目にはPRとなったため、この段階で治療を中断、現在治療中断後5カ月になるが、本症例も症例13と同様治療中断後も縮小が続いている。副作用として、LAK細胞移入直後から頭痛、悪寒、戦慄が出現、数時間後には38°C以上の発熱がみられた。これらの症状は全例にみられたが、経口の解熱剤等でコントロールした。また全例ともLAK細胞移入翌日には白血球増多がみられた。またIL-2全身投与によると思われる副作用としては、発熱、浮腫、好酸球増多がみられた。38°C程度の発熱が出現したが、一過性であり、解熱剤は必要とはしなかった。浮腫による体液貯留のため体重が2~3kg増加し、また好酸球増多も全例に認められた。これらの症状はIL-2投与を中止すると速やかに消失した。

PRであった4例中1例が前述のように脳転移で死亡したが、残り3例は現在生存中である。また本療法に対しNCあるいはPDであった残り11例中3例(症例3, 9ならびに11)にLAK療法施行中あるいは施行後に脳転移が認められた。症例3は本療法開始後10週目に脳転移巣の急速な増大のため死の転帰をたどり、症例9はLAK療法中止後35カ月目に脳転移巣が出現したため外科的摘除をおこなったが、51カ月に死の転帰をとった。症例11は肺転移巣がNCであったため治療を中断し経過をみていたところ、中止後8カ月目に右前頭葉に転移がみられた。本症例は2回にわたる脳転移巣の摘除にもかかわらず、本免疫療法中止後19カ月目に死亡した。このように本療法施行中あるいは施行後に実に15例中4例に脳転移がみられた。

考 察

本免疫療法時にはLAK細胞だけではなく、IL-2同時投与が必要であることは動物実験などから明らかにされている¹²⁻¹⁶⁾。このような事実をふまえ、Rosenbergらは腎癌を含む進行癌患者を対象にしてLAK細胞とIL-2による免疫療法を最初におこない、著明な抗腫瘍効果がえられたことを述べている^{17,18)}。かれらの結果は本免疫療法の腎癌に対する有用性を示したものといえよう。以降、追試がなされ、Fisherら¹⁹⁾は16%、Negrierら²⁰⁾は27%の有効率を報告している。われわれもCRはえられなかったものの、15例中4例(26.7%)にPRが認められた。この成績はRosenbergらにはおよばないが、Negrierら²⁰⁾とほぼ同程度である。また有効例がすべて肺転移のみを有していた症例であった点については、Rosenbergらも報告しているように、本免疫療法に反応した症例のほとんどが肺転移を有していた症例であったこと^{17,18)}から、この免疫療法は肺転移に対して有効と考えられる。

LAK細胞投与による副作用としては戦慄、発熱がみられたが、これはRosenbergらの報告とほぼ同じである。かれらはIL-2投与による副作用として、毛細血管の透化性に起因すると考えられる気管内挿管を必要とするほどの呼吸困難や10%以上の体重増加を報告しているが、われわれがおこなった治療では、2~3kgの体重増加がみられたものの、重篤な副作用は皆無であった。この重篤な副作用は大量のIL-2投与が原因であり、われわれはかれらの使用したIL-2と比較すると、きわめて少ない量であったため、重篤な副作用がみられなかったものと考えられる。毛細血管透過性の変化としてEllisonら²¹⁾は猫を使った実験でIL-2投与後、脳血管関門の障害がみられたことを述べている。この実験結果はIL-2を用いた治療は脳転移を惹起する可能性を示唆しているものともいえよう。われわれも15例中4例に本免疫療法施行中あるいは施行後脳転移を認めた。腎癌における脳転移の頻度は3.6%から9.7%と報告されていること^{22,23)}を考えると、本免疫療法施行中あるいは後の脳転移の頻度は高

いといわざるをえない。

以上のように本免疫療法は脳転移惹起の可能性も否定できないが、ある程度の効果がえられることは事実である。今後は本療法施行時における工夫、併用療法あるいはより強いLAK活性を有する細胞の誘導も考慮すべきであると考えている。大量のIL-2は前述のように重篤な副作用をもたらす可能性があるが、IL-2の半減期はきわめて短いことから²⁴⁾、使用するIL-2が少なくとしても、Westら²⁵⁾が報告しているように持続的に投与するなどの工夫も必要であろう。また、われわれは腎癌患者の suppressor 活性は正常人のそれに比し高いことを明らかにしており²⁶⁾、腎癌治療時には suppressor 活性抑制も重要なことであると考えている。この点について Osbandら²⁷⁾は cimetidine の suppressor 活性抑制作用に注目し、LAK細胞と cimetidine の併用療法の効果について明らかにしている。cimetidine だけではなく、他の suppressor 活性抑制剤の模索も必要と考えている。また、より抗腫瘍活性を有する LAK 細胞の誘導について、Wangら²⁸⁾は IL-2 と periodate で誘導した LAK 細胞を用い、併用する IL-2 を少なくし、十分な臨床効果がえられたことも報告している。強い LAK 細胞の誘導も今後の研究課題であろう。

文 献

- 1) Nakano E, Fujioka H, Matsuda M, et al.: Late recurrence of renal cell carcinoma after nephrectomy. *Eur Urol* **10**: 347-349, 1984
- 2) Nakano E, Sonoda T, Fujioka H, et al.: Spontaneous regression of pulmonary metastases after nephrectomy for renal cell carcinoma. *Eur Urol* **10**: 212-213, 1984
- 3) McDonald MW: Current therapy for renal cell carcinoma. *J Urol* **127**: 211-217, 1982
- 4) deKernion JB: Treatment of advanced renal cell carcinoma-traditional methods and innovative approaches. *J Urol* **130**: 2-7, 1983
- 5) Nakano E, Tada Y, Fujioka H, et al.: Hormone receptor in renal cell carcinoma and correlation with clinical response to endocrine therapy. *J Urol* **132**: 240-245, 1984
- 6) Umeda T and Nijima T: Phase II study of alpha interferon on renal cell carcinoma. Summary of three collaborative trials. *Cancer* **58**: 1231-1235, 1986
- 7) Nakano E, Fujioka H, Ishibashi M, et al.: Autologous mixed lymphocyte tumor cell culture in patients with renal cell carcinoma. *J Urol* **131**: 223-226, 1984
- 8) Nakano E, Tada Y, Ichikawa Y, et al.: Cytotoxic activity of peripheral blood lymphocytes grown with interleukin 2 against autologous cultured tumor cells in patients with renal cell carcinoma: preliminary report. *J Urol* **143**: 24-28, 1985
- 9) Nakano E, Tada Y, Ichikawa Y, et al.: Lysis of autologous tumor cells by peripheral blood lymphocytes treated with interleukin 2 in patients with renal cell carcinoma. *J Urol* **137**: 641-648, 1987
- 10) 中野悦次, 岩崎 明, 瀬口利信, ほか: 進行腎癌に対する lymphokine-activated killer cell および interleukin-2 による併用療法の有用性ならびにその限界. *日泌尿会誌* **82**: 395-404, 1991
- 11) Hinuma S, Naruo O, Shiho O, et al.: Characteristics of murine non-specific killer cells induced in vivo by recombinant human interleukin 2. *Immunology* **59**: 251-259, 1986
- 12) Mazumder A, Eberlein TJ, Grimm EA, et al.: Phase I study of the adoptive immunotherapy of human cancer with lectin activated autologous mononuclear cells. *Cancer* **53**: 896-905, 1984
- 13) Rosenberg SA: Immunotherapy of cancer by systemic administration of lymphoid cells plus interleukin 2. *J Biol Response Mod* **3**: 501-511, 1984
- 14) Mule JJ, Shu S, Schwarz SL, et al.: Adoptive immunotherapy of established pulmonary metastases with LAK cells and recombinant interleukin-2. *Science* **225**: 1487-1489, 1984
- 15) Lafreniere R and Rosenberg SA: Adoptive immunotherapy of murine hepatic metastases with lymphokine activated killer (LAK) cells and recombinant interleukin 2 (RIL 2) can mediated the regression of both immunogenic and non-immunogenic sarcomas and adenocarcinoma. *J Immunol* **135**: 4273-4280, 1985
- 16) Ettinghausen SE, Lipford III EH, Mule JJ, et al.: Recombinant interleukin 2 stimulates in vivo proliferation of adoptively transferred lymphokine-activated killer (LAK) cells. *J Immunol* **135**: 3623-3635, 1985
- 17) Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al.: Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* **313**: 1485-1492, 1985
- 18) Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al.: A progressive report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med* **316**: 889-897, 1987
- 19) Fisher RI, Coltman CA Jr, Doroshow JH,

- et al.: Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. A phase II clinical trial. *Ann Intern Med* **108**: 518-523, 1988
- 20) Negrier S, Philip T, Stoter G, et al.: Interleukin-2 with or without LAK cells in metastatic renal cell carcinoma: a report of a European multicentre study. *Eur J Cancer Clin Oncol* **25**: s21-s28, 1989
- 21) Ellison MD, Povlishock JT and Merchant RE: Blood brain barrier dysfunction in cats following recombinant interleukin-2 infusion. *Cancer Res* **47**: 5765-5770, 1987
- 22) Gay PC, Litchy WJ and Cascino TL. Brain metastasis in hypernephroma. *J Neurooncol* **5**: 51-56, 1987
- 23) Saitoh H, Shimbo T, Tasaki T, et al.: Brain metastasis of renal adenocarcinoma. *Tokai J Exp Clin Med* **7**: 337-343, 1982
- 24) Donohue JH, Lotze MT, Robb M, et al.: In vitro administration of purified Jurkat derived interleukin 2 in mice. *Cancer Res* **44**: 1380-1386, 1984
- 25) West WH, Tauer KW, John R, et al. Constant-infusion recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. *N Engl J Med* **316**: 898-905, 1987
- 26) Nakano E, Iwasaki A, Seguchi T, et al.: Concanavalin A-induced suppressor cell activity in patients with renal cell carcinoma. *Cancer* **68**: 2586-2590, 1991
- 27) Osband ME, Carpinito GA, Levine SI, et al.: Successful adoptive immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with in vitro immunized autologous lymphocytes and cimetidine. *World J Urol* **4**: 217-221, 1986
- 28) Wang J, Walle A, Gordon B, et al.: Adoptive immunotherapy for stage IV renal cell carcinoma: a novel protocol utilizing periodate and interleukin-2-activated autologous leukocytes and continuous infusion of low-dose interleukin 2. *Am J Med* **83**: 1016-1023, 1987

(Received on August 19, 1992)

(Accepted on September 4, 1992)

(迅速掲載)