

膀胱腫瘍患者における IgG-FcR⁺ T cell の比率について

岐阜大学医学部泌尿器科学教室（主任：西浦常雄教授）

酒井 俊助・加藤 直樹・石山 俊次・出口 隆
藤本 佳則・村中 幸二・松田 聖士・藤広 茂
説田 修・西浦 常雄T-CELL BEARING IgG-Fc RECEPTOR
IN PATIENTS WITH BLADDER CANCERShunsuke SAKAI, Naoki KATO, Shunji ISHIYAMA, Takashi DEGUCHI,
Yoshinori FUJIMOTO, KOJI MURANAKA, Seiji MATSUDA, Sigeru FUJIIHIRO,

Osamu SETSUDA and Tsuneo NISHIURA

From the Department of Urology, Gifu University

School of Medicine

(Director: Prof. T. Nishiura)

The T-cell bearing Fc receptor (IgG-FcR⁺ T cell) has been considered as a suppressor or a part of the killer cell, as determined by its function. The population of IgG-FcR⁺ T cells was determined by Moretta's method in patients with urinary bladder cancer, urological benign diseases and in normal subjects.

The population of IgG-FcR⁺ T cells in the peripheral lymphocytes of 16 patients with urinary bladder cancer was $20.5 \pm 10.1\%$, that of 7 patients with urological benign diseases was $9.5 \pm 3.2\%$, and that of 8 normal subjects was 9.0 ± 2.1 . The population of IgG-FcR⁺ T cells in the peripheral lymphocytes patients with high stage bladder cancer was significantly higher than that of patients with low stage cancer. In low stage bladder cancer cases, the population of IgG-FcR⁺ T cells was decreased to the normal range at three weeks after-removal of the tumor. But in high stage bladder cancer cases, it was not changed at 3 weeks.

Key words: Bladder cancer, IgG-FcR⁺ T cell

緒 言

最近、ヒトにおいても単に T cell・B cell の数や機能をみるだけでなく、その subsets について検討がおこなわれるようになってきている。IgG 分子の Fc 部に対する receptor はマクロファージや B cell だけでなく、一部の T cell の表面においても存在することが知られている。T cell subsets の動態を調べることは、さまざまな疾患における細胞性免疫能を検討するうえで有用である。今回、膀胱腫瘍患者における末梢血の Fc レセプター陽性 T cell（以下：

IgG-FcR⁺ T cell と略）を測定し、泌尿器科的良性疾患患者および健常人を対照として比較するとともに、深達度および治療による推移についても検討を加えた。

対象および方法

対象は岐阜大学附属病院泌尿器科および関連病院泌尿器科を受診した膀胱腫瘍患者16例で、対照群として age match した泌尿器科的良性疾患患者7例（前立腺肥大症患者4例、尿路結石症患者3例）、健常人8例についても検討を加えた。膀胱腫瘍は組織学的にはすべて移行上皮癌であり、癌の深達度は UICC の

分類にしたがい pT_1 , pT_2 , pT_3 , pT_4 に分類した。 $pT_1 \cdot pT_2$ の low stage 群は6例であり, $pT_3 \cdot pT_4$ の high stage 群は10例であった。なお, 全症例とも制癌剤, ステロイドホルモン剤の投与および放射線治療はおこなわれていない。

IgG-FcR⁺T cell の検出法は Moretta の方法¹⁾および新保ら²⁾による double rosette の方法に準じて検討を加えた。Moretta の方法においては, リンパ球の分離調整はヘパリン加末梢血 3 ml に同容量の磷酸緩衝液 (PBS) を加え, Ficoll-Conray 比重遠心法によりリンパ球を分離し PBS にて3回洗浄後, 1 ml あたり 2×10^6 cells のリンパ球を PBS に浮遊調整しておいた。非働化した牛胎児血清 (Fetal Calf Serum: FCS と略) にて 1 ml あたり 2×10^8 cells に浮遊した羊赤血球 (Sh-E) の同量をリンパ球浮遊液に添加させた後に, 1,000回転, 5分間遠心し 4℃にて1時間放置させた。上清をすて沈降した Sh-E と rosette を形成している T cell のみを採取し, すみやかに羊赤血球を溶血させたのちに, PBS にて3回洗浄後 PBS に 1 ml あたり 1×10^6 cells の T cell のリンパ球浮遊液とした。Poly-L-Lysine にて処理したマイクロプレートの各孔に $1 \mu\text{l}$ ずつ T cell 浮遊液を滴下させ, 室温にて15分間放置後に各孔に FCS を $10 \mu\text{l}$ ずつ滴下させ PBS にて各孔を洗浄しておいた。家兎を免疫して得た IgG 抗体で感作した 1 ml あたり 2×10^8 cells の雄牛赤血球浮遊液 (OX-EA IgG, 日本抗体研究所) を各孔に $10 \mu\text{l}$ ずつ滴下させ, マイクロプレートを800回転, 5分間遠心したのちに PBS にてマイクロプレートを洗浄させ, Brilliant Cresyl-blue にて染色し鏡検した。T cell のリンパ球 200 個以上を数えて, OX-EA が3個以上附着するものを IgG-FcR⁺T cell と評価し, 全 T cell のリンパ球数に対する比率として検討した。

いっぽう, 新保らの方法においては, リンパ球の分離調整は Moretta の方法と同様に 1 ml あたり 2×10^6 cells のリンパ球を PBS に浮遊調整しておいた。家兎を免疫して得た IgG 抗体で感作した 1 ml あたり 2×10^8 cells のニワトリ赤血球浮遊液 (CK-EA IgG, 日本抗体研究所) を同量のリンパ球浮遊液に添加させ 4℃にて3時間反応させた後, さらに 1 ml あたり 2×10^8 cells の Sh-E の同量を添加させ, 1,000回転, 5分間遠心し氷水中にて3時間反応させた。その後, 再浮遊させ光顕にて観察し 200 個以上数えて CK-EA が1個以上, Sh-E が3個以上附着するものを IgG-FcR⁺T cell と評価し, 全 E-rosette forming cells に対する比率にて検討した (Table 1)。

さらに, 両測定法による IgG-FcR⁺T cell の比率を健常人 8 例において比較検討した。

なお, 各測定値の群別比較は原則として t 検定による推計学的検討によって有意差の有無を検定し, 有意水準は 5% とした。

成 績

Fig. 1 は健常人 8 例における Moretta の方法と新保らの方法の両測定法による IgG-FcR⁺T cell の比率の比較を示しており, Moretta の方法は平均 $8.0 \pm 2.1\%$ であるのに対し, 新保らの方法のそれは $2.4 \pm 1.5\%$ を示し, 両測定法において有意の差を認めた ($P < 0.05$)。

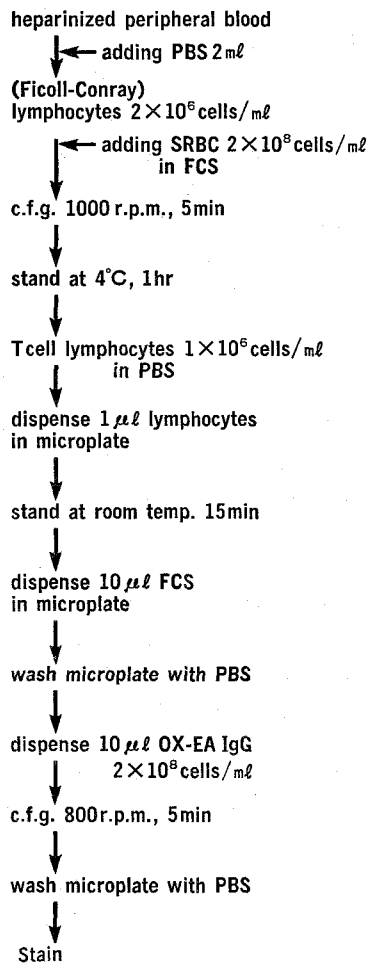
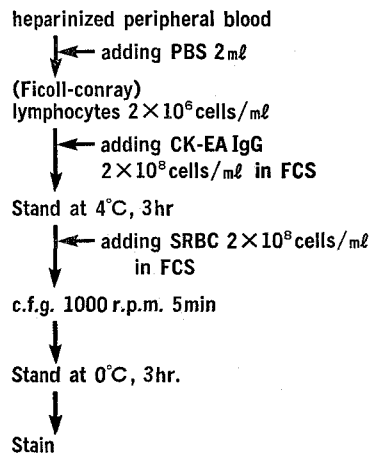
以上の結果より, 健常人において検出率の高い Moretta の方法にて膀胱腫瘍患者および泌尿器科的良性疾患患者における IgG-FcR⁺T cell の比率について検討した (Fig. 2)。

膀胱腫瘍患者 16 例における IgG-FcR⁺T cell の比率の平均は $20.5 \pm 10.1\%$ であり, そのうち最高値は 38% であり, 最低値は 6% であった。いっぽう, 泌尿器科的良性疾患患者 7 例の平均は $9.5 \pm 3.2\%$ であり, 健常人 8 例の平均は $8.0 \pm 2.1\%$ であった。すなわち, 膀胱腫瘍患者 16 例における IgG-FcR⁺T cell の比率は泌尿器科的良性疾患患者および健常人のそれと比較して, それぞれに有意の差を認めた ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

膀胱腫瘍患者 16 例における深達度別検討では, low stage 群である $pT_1 \cdot pT_2$ 6 例の平均は $11.2 \pm 3.9\%$ であるのに対し, $pT_3 \cdot pT_4$ 10 例の high stage 群の平均は $26.1 \pm 8.3\%$ を示した。膀胱腫瘍患者の high stage 群は low stage 群, 泌尿器科的良性疾患患者および健常人に比しそれぞれに有意の差を認めた ($P < 0.01$)。しかし, low stage 群における同様の検討ではいずれも有意の差を認めなかった。

膀胱腫瘍患者の 13 症例について, それぞれの手術前後の IgG-FcR⁺T cell の比率の変動を検討した (Fig. 3)。治療法のうちわけは膀胱全摘術 3 例, 膀胱部分切除術 8 例であり, 術後の測定は全症例とも約 3 週間目におこなった。術前の IgG-FcR⁺T cell の比率の平均は $17.9 \pm 9.2\%$ であるのに対し, 術後のそれは $15.4 \pm 10.5\%$ で術前よりも低値を示したものの有意の差は認められなかった。深達度別の検討では, low stage 群は術前 $11.2 \pm 3.9\%$ が術後に $8.7 \pm 1.0\%$ に, high stage 群は術前 $26.0 \pm 6.7\%$ が術後に $23.4 \pm 11.3\%$ と, それぞれ術前よりも術後に低値を示したもののいずれも有意の差を認めなかった。

Table 1

Moretta's assayDouble Rosette assay

考 察

IgG-FcR⁺ T cell は IgG の Fc 部分に対する receptor を有する T cell であり, pokeweed mitogen (PWM) 刺激による B cell の分化に対して抑制であること¹⁾, あるいは K cell 活性を保有する³⁾ことなどより suppresser cell あるいは killer cell の一部との相関が考えられている. IgG-FcR⁺ T cell の比率が増加する疾患としては, 原発性免疫不全症⁴⁾, 橋本病⁵⁾, 慢性関節リウマチ⁶⁾, アトピー皮膚炎⁷⁾, 悪性腫瘍^{2,8-11)}などの報告がみられる. 悪性腫瘍ではとくに固形悪性腫瘍に関しての報告が多くみられ, 末期癌においては著明に IgG-FcR⁺ T cell の比率が増加すると報告¹²⁾されている.

IgG-FcR⁺ T cell の検出法には主として, Morettaの方法のごとく羊赤血球により E rosette を形成させたのみ, 比重遠心法にて T cell 分画を集め, 抗体感作ウシ赤血球を rosette 形成させる方法と新保らの方法のごとく形態の異なる羊赤血球と抗体感作ニワトリ赤血球を同時に rosette を形成させる double rosette がもちいられている. 羊赤血球および抗体感作ニワトリ赤血球による double rosette は, ニワトリ赤血球が羊赤血球に比し極度に大きいため, 羊赤血球が rosette 形成しているのか, 物理的に付着しているのか判定しにくい欠点がある. 著者は両測定法にて健常人 8 例の IgG-FcR⁺ T cell の比率の検出を試みたが, Moretta の方法では平均 $8.0 \pm 2.1\%$ 認めたのに対し, 新保らの方法では平均 $2.4 \pm 1.5\%$ しか認めず,

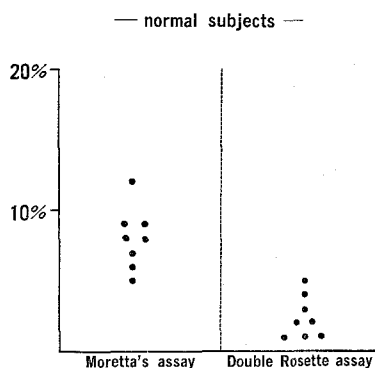


Fig. 1. Comparison of percentage of IgG-FcR⁺T cells between Moretta's assay and Double Rosetta assay
—normal subjects—

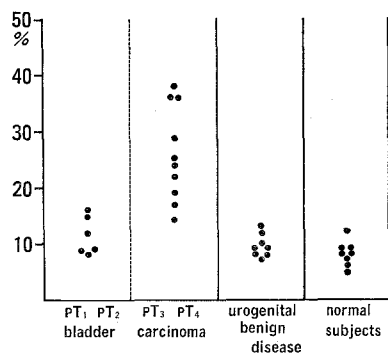


Fig. 2. Comparison of percentage of IgG-FcR⁺T cells in low or high stage bladder carcinoma patients, urogenital benign disease patients and normal subjects

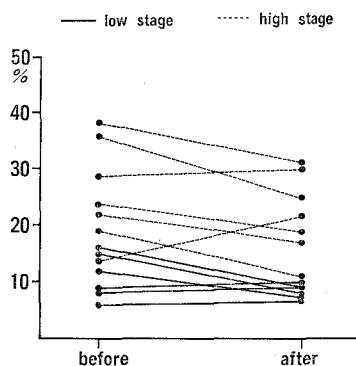


Fig. 3. Comparison of percentage of IgG-FcR⁺T cells in bladder carcinoma patients before and after operation

このことは上述した原因により検出率の差が生じたものと考えられる。そのため、著者は健常人にて検出率の高かった Moretta の方法により、膀胱腫瘍患者および泌尿器科的良性疾患患者の末梢血中の IgG-FcR⁺T cell の比率を測定した。

膀胱腫瘍患者の IgG-FcR⁺T cell の比率は泌尿器科的良性疾患患者および健常人に比し有意に高く、泌尿器科的良性疾患患者および健常人において IgG-FcR⁺T cell の比率が15%以上を示した症例は1例も認めなかったが、膀胱腫瘍患者の low stage 群は6例中2例に、high stage 群は10例中9例に認められた。膀胱腫瘍患者においても癌の深達度の高い症例に IgG-FcR⁺T cell の比率の上昇傾向がみられ、諸家の報告^{8,12)}と一致した。以上の結果より、膀胱腫瘍も非特異的細胞性免疫能の低下に IgG-FcR⁺T cell が関与していることが示唆され、IgG-FcR⁺T cell の比率が増加することは生体の免疫機構にとって不利に働くものと考えられる。

担癌患者に対して手術や免疫療法などさまざまな治療法が施されている。その治療効果を免疫能の面より検討する指標として各種のパラメーターが存在しており、今回、IgG-FcR⁺T cell の比率にて膀胱腫瘍患者における手術前後の変動を検討した。新保ら⁸⁾によれば、胃癌患者の未治療例の IgG-FcR⁺T cell の比率は健常人に比し有意に高く、腫瘍摘出後は1～3週間で正常域に復したと報告している。膀胱腫瘍の low stage 群では、IgG-FcR⁺T cell の比率が術前に高値を示した症例は術後3週間目にはいずれも正常域に達したが、high stage 群の場合には術後3週間目では IgG-FcR⁺T cell の比率が正常域に達した症例は少なかった。このことは high stage 群と low stage 群による癌の進行度および手術内容の違い、high stage 群の場合には合併症を併発しやすい要因が存在するためと考えられる。しかし、high stage 群においても腫瘍が摘出された場合には、術後3週間以上の長期観察により IgG-FcR⁺T cell の比率の正常化あるいは術前に比しあきらかな低値を示すことが予想される。今後、さらに high stage 群の症例を増やし、これらのことについて検討を加えたい。

結 語

1)膀胱腫瘍患者16例、泌尿器科的良性疾患患者7例および健常人8例について末梢血中の IgG-FcR⁺T cell の比率の検討を加えた。

2)IgG-FcR⁺T cell の比率の測定は Moretta の方法および新保らの方法により検討を加えたが、健常人に

において前者は後者に比し有意に検出率が高かった。膀胱腫瘍患者および泌尿器科的良性疾患患者の IgG-FcR⁺ T cell の比率は Moretta の方法により測定した。

3) 膀胱腫瘍患者の IgG-FcR⁺ T cell の比率の平均は対照群に比し有意に高値を示した。さらに、深達度別検討でも high stage 群は low stage 群、泌尿器科的良性疾患患者および健常人に比し有意に高値を示した。

4) 膀胱腫瘍患者 13 例について、手術前後の IgG-FcR⁺ T cell の比率の変動を検討した。low stage 群では IgG-FcR⁺ T cell の比率が術前に高値を示した症例は術後 3 週間目にはいずれも正常域に達したが、high stage 群の場合には術後 3 週間目では正常域に達した症例は少なかった。

本論文の要旨は第29回日本泌尿器科学会中部連合総会にて発表した。

文 献

- 1) Moretta L, Webb SR, Grossi CE, Lydyard PM and Cooper MD: Functional analysis of two human T-cell subpopulations, help and suppression of B-cell responses by T cells bearing receptors for IgM or IgG. *J Experimental Medicine* **146**: 184~200, 1977
- 2) 新保敏和・矢田純一・中川俊郎・漆畑 修・松元正: IgG-Fc receptor 陽性 T リンパ球の検出法と各種疾患における変動. *臨床免疫* **9**: 141~145, 1977
- 3) Perlman P: Membrane receptors of lymphocytes. North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1975, p. 161
- 4) Gupta S and Good RA: Subpopulations of human T lymphocytes. *Clin Exp Immunol* **30**: 222, 1977
- 5) 宮下 守・矢田純一・新保敏和・柿原歌子・菅原真智子・榎本仁志・宮本正浩・飯野史朗・橋本病, Graves 病における T-cell subclass の異常について. *臨床免疫* **10**: 747~754, 1978
- 6) 田中順子・矢田純一・入交昭一郎・松岡康夫・富井正邦・菅野卓郎・田中秀之: 膠原病におけるリンパ球の検討. *臨床免疫* **10**: 828~836, 1978
- 7) 漆畑 修・安田利顕・新保敏和・矢田純一: アトピー性皮膚炎にみられた IgG・Fc receptor 陽性 T-cell の増加. *日皮会誌* **87**: 501~503, 1977
- 8) 新保敏和・矢田純一・日江井歌子・菅原真智子・斉藤祺一・谷村 修: 悪性固型腫瘍患者における IgG-Fc リセプター陽性 T 細胞の意義について. *臨床免疫* **9**: 487~493, 1977
- 9) 中山拓郎・中井美智代・清水英治・仁井昌彦・田村正和・佐々木春夫・久野恒郎・小川紘一・螺良英郎: 各種疾患における Tg 細胞の変動および治療の影響. *臨床免疫* **6**: 231~239, 1979
- 10) 下川優子・平原昭子・田代正昭: 皮膚悪性腫瘍における IgG-FcR⁺ T cell の検索. *西日皮* **42**: 838~832, 1980
- 11) 島谷 昇: 膀胱腫瘍患者の IgG Fc receptor 陽性 T 細胞について. *泌尿 紀要* **27**: 637~647, 1981
- 12) 松元 正・野村紘一郎・橋本修治・松元 実・柚木一雄: 末期癌患者における IgG-Fc receptor 陽性 T 細胞の動態と癌化学療法剤投与による影響. *臨床免疫* **10**: 1187~1194, 1978

(1983年6月21日受付)