

膀胱腫瘍患者の IgG Fc receptor 陽性T細胞について

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）

島 谷 昇

STUDIES ON T CELL BEARING Fc RECEPTORS FOR IgG OF PERIPHERAL LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH BLADDER CARCINOMA

Nobori SHIMATANI

*From the Department of Urology, Kobe University School of Medicine**(Director: Prof. Joji Ishigami, M.D.)*

To test the cellular immunocompetence in patients with bladder carcinoma, a study was made on lymphocytes subpopulation of 34 patients and 35 healthy men.

T cell was identified by spontaneous rosette formation with sheep erythrocytes, and B cell was identified by EAC rosette formation. T lymphocytes bearing Fc receptors for IgG (IgGFcR⁺ T cells) was detected by double rosette formation of neuraminidase treated sheep erythrocytes and glutaraldehyde treated sensitized ox erythrocytes.

The percentages of IgGFcR⁺ T cells in total T cells in peripheral lymphocytes of 35 healthy men and 34 untreated bladder cancer patients were $5.8 \pm 1.9\%$ and $14.2 \pm 8.4\%$ respectively, the percentages of T cells in peripheral lymphocytes of 35 healthy men and 34 untreated bladder cancer patients were $81.3 \pm 6.3\%$ and $68.6 \pm 14.0\%$ respectively.

The difference of these figures was statistically significant. There was a tendency of decrease in percentage and absolute count of T cell of the patients with higher grade and stage of the tumor.

Contrary, there was a tendency of increasing percentages of IgGFcR⁺ T cells in total T cells of the patients with higher grade and stage of the tumor.

No influence of operation was found on T cell percentage, absolute count of T cell and the percentage of IgGFcR⁺ T cells in total T cells.

Steroids which was secreted by stimulation of operative stress might effect on the percentages of IgGFcR⁺ T cells in total T cells.

緒 言

先天性免疫不全患者や免疫抑制剤の投与を受けている患者で、癌の発生率が健康人に比して高いことから、癌の発生および増殖に担癌生体の免疫機構が関与していることが示唆されていた^{1,2)}。近年になり免疫の基礎的研究が進歩するとともに、免疫応答は機能を異にする数種のリンパ球の相互作用により調節されていることが明らかとなった。特に細胞性免疫において主役を演じると言われている胸腺由来のリンパ球（T細胞）は、液性免疫をおもに担当しているB細胞の抗体産生への分化増殖過程を抑制し、あるときには促進

的に働く subclass を有することが判明していらい^{3,4)}、一層意義深いように思われる。

ヒトリンパ球の表面には、IgD 以外のすべての免疫グロブリンのFc部分に対するreceptorが存在することが、TおよびB細胞両者ともに確認されている⁵⁻⁸⁾。なかでも、IgGのFc部分に対するreceptorを有するT細胞（以下IgGFcR⁺T細胞）はその一部が suppressor T細胞もしくは killer細胞の一部ともいわれていることから^{9,10)}、担癌生体の免疫状態を解明するうえで、この細胞の変動を知ることは重要と思われる。そこで著者は膀胱腫瘍患者末梢リンパ球中の細胞とくにIgGFcR⁺T細胞の変動を検討した。その結

果、膀胱腫瘍における細胞性免疫についての若干の知見をえたので報告する。

対 象

対象は膀胱腫瘍患者34例(男性27例, 女性7例)で, サンプルは全例とも手術前に採血したものをを用い, 術前化学療法および放射線療法を開始した症例は含まれていない。年齢分布ならびに性別は Table 1 に示すとおりで, 平均年齢は66.6歳である。患者はすべて移行上皮癌で, 癌の悪性度は Broders¹¹⁾ の分類に従い, grade I, II, III, IV の4段階に区分し, 浸潤度は Jewett¹²⁾ and Marshall¹³⁾ の分類に従い stage A, B₁, B₂, C, D の5段階に区分した。Table 2 にこれら34例の悪性度および浸潤度の分布を示した。なお, 膀胱腫瘍11例については別に治療前と治療後(肉眼的に腫瘍が消失した時点より14日~30日の間)における IgG FcR⁺T 細胞の変動を比較検討した。治療法は膀胱全摘6例, 膀胱部分切除2例および経尿道的膀胱腫瘍切除術3例であった。対照は35例で, 平均年齢は62歳であった。

Table 1. Age and sex distribution

Age	Male	Female
30—39	0	1
40—49	2	0
50—59	3	0
60—69	11	1
70—79	9	4
80—89	3	0
Total	28	6
mean age	66.6	

Table 2. Distribution of 34 bladder tumor patients

STAGE	GRADE				TOTAL
	I	II	III	IV	
A	5	5	4		14
B ₁	1		3	1	5
B ₂			4		4
C			1		1
D			5	5	10
TOTAL	6	5	17	6	34

方 法

a) 末梢血 T・B リンパ球測定法

橋の方法¹⁴⁾に従い, 末梢静脈血をヘパリン加採血し

てリン酸緩衝食水 (PBS) で2倍希釈後, Ficoll-Paque (Pharmacia 社) に重層し, 比重遠沈法¹⁵⁾によりリンパ球を得た。Neubauer 計算盤によりリンパ球数を算定後, 1×10^6 個/ml の割合で PBS に浮遊させ, poly-L-lysine (Sigma 社) 処理済 Terasaki plate (Nunc 社) 3枚の各 well 底に, マイクロシリンジ MS-50 (テルモ社) と dispenser PB-600 (Hamilton 社) を用い均一に塗布した。T リンパ球はヒツジ赤血球 rosette 形成率で, B リンパ球は補体 receptor を検出し, 一部混入した macrophage は peroxidase 陽性細胞として検出した。

i) E rosette forming cell 測定法

(sheep erythrocyte rosette forming cell)

56°C 非働化済牛胎児血清 (FCS: GIBCO 社) で各 well の poly-L-lysine を中和した後, neuraminidase (Behring werke 社) により 37°C 30分間処理し, 2×10^8 個/ml の割合で FCS に浮遊させたヒツジ赤血球 (以下 En と略す) を各 well に 10 μ l ずつ加えた。4°C, 12 時間静置後, PBS により plate を洗浄, 0.005% brilliant cresyl blue—0.25% glutaraldehyde-PBS により各 well を固定染色した。検鏡下にリンパ球を400個算定し, そのうちヒツジ赤血球が4個以上付着したリンパ球を E rosette forming cell とした。

ii) EAC rosette forming cell 測定法

(sheep erythrocyte antibody complement rosette forming cell)

FCS を除去し, PBS で洗浄した plate の各 well にウサギ抗ヒツジ赤血球血清 IgM (日本抗体研究所) および補体 (50倍希釈ヒト新鮮 AB 型血清) とで処理して 2×10^8 個/ml の割合で PBS に浮遊させたヒツジ赤血球を 10 μ l 加え, 37°C, 60分間静置後, plate の洗浄, 固定染色を行なった。E rosette forming cell と同様にヒツジ赤血球の4個以上付着したリンパ球を EAC rosette forming cell とした。

iii) peroxidase 陽性細胞測定法

FCS で未処理の plate の各 well にベンチジン液 (80%メタノール 50 ml, ベンチジン 0.2 gr, 3%過酸化水素水 0.1 ml) を 10 μ l 加えて peroxidase を染色し, さらに300倍希釈 ギムザ液でリンパ球を染色した。そして褐色顆粒保有細胞を peroxidase 陽性細胞 (P) とした。

T リンパ球% = E rosette % $\times$

$$\frac{\text{E rosette \%} + \text{EAC rosette \%}}{\text{E rosette \%} + \text{EAC rosette \%} - \text{P\%}}$$

B リンパ球% = (EAC rosette % - P%) $\times$

$$\frac{\text{E rosette \%} + \text{EAC rosette \%}}{\text{E rosette \%} + \text{EAC rosette \%} - \text{P\%}}$$

の式より T.B リンパ球を補正, 計算した. また同時に, 末梢血中白血球像よりリンパ球数を測定して T.B リンパ球の絶対数を算定した.

b) IgG FcR⁺T 細胞の測定法

前報¹⁶⁾の方法に従い測定した. Fig. 1 に方法の概略を図示した.

i) リンパ球の付着

橘らの方法¹⁴⁾と同様に poly-L-lysine 処理 Terasaki plate の各 well 底にリンパ球浮遊液を 1 μ l ずつ注入し15分間静置した. つぎに FCS を各 well に 10 μ l ずつ加え, 30分間静置後 plate を反転し, 余剰の FCS を除去した.

ii) EA rosette 形成 (Ox erythrocyte antibody rosette formation)

ウシ赤血球を PBS で 3 回洗浄し, 1×10^9 /ml の割合で PBS に浮遊させ, これに等量の 2% glutaraldehyde-0.04 M リン酸緩衝液を加えて室温で60分間反応させ, PBS で 3 回洗浄し 1×10^9 /ml の割合で PBS に浮遊させた. つぎにこれを抗ウシ赤血球ウサギ血清 IgG の最小凝集価の1/2の濃度で, 37°C, 30分間感作

し, さらに PBS で 3 回洗浄し, 2×10^8 /ml の割合で PBS に浮遊させ glutaraldehyde 処理, 抗体感作ウシ赤血球 (以下 Ox-EAG と略す) を作製した.

つぎに Ox-EAG 浮遊液を各 well に 10 μ l ずつ加え, 100 $\times$ G, 5分間遠沈し, EA rosette を形成させ15分間 plate を反転, 静置し, 未反応 Ox-EAG を除去した.

iii) EN rosette 形成 (neuraminidase treated sheep erythrocyte rosette formation)

さらに EN 浮遊液を各 well に 10 μ l ずつ加え, 室温にて15分間静置後, 100 $\times$ G にて 5分間遠沈し, EN rosette を形成させ, 30分間 plate を反転, 静置し, 未反応 EN を除去した.

iv) 固定, 染色

0.25% glutaraldehyde-PBS を各 well に 10 μ l ずつ加え, 2分間静置後, plate を PBS で洗浄し, つぎに 0.1% toluidine blue O を 10 μ l ずつ各 well に注入し, plate を反転し, 余剰な染色液を除去後さらに流動パラフィン各 well に 10 μ l ずつ加えた.

v) 判定

plate を反転, 検鏡し, ヒツジ赤血球を 3 個以上付着した細胞を E rosette 形成細胞, 青染されたウシ赤血球を 2 個以上付着した細胞を IgG FcR⁺T 細胞とした (Fig. 2).

c) ステロイドが白血球, リンパ球, 好中球, T 細胞および IgG FcR⁺T 細胞の各分画に与える影響

健康成人 3 例にハイドロコルチゾン 300 mg を one shot 静注し, 1 時間後, 2 時間後, 3 時間後, 4 時間後および24時間後の T 細胞, IgG FcR⁺T 細胞の絶対数, 白血球, リンパ球, 好中球の各分画につき検討した.

結 果

1) T 細胞の百分率

Fig. 3 は対照群および膀胱腫瘍患者群の T 細胞百分率を示したもので, 対照群の平均値 $81.3 \pm 6.3\%$ (mean $\pm$ S.D.) に対して患者群は $68.6 \pm 14.0\%$ と低下しており, 統計的に有意の差 ($P < 0.001$) を認めた. Table 3 は grade 別 T 細胞百分率の平均値を示したもので grade I, II, III, IV はそれぞれ 67.2 ± 12.7 , 75.2 ± 8.9 , 68.0 ± 13.1 , 66.2 ± 18.6 であった. Fig. 4 は T 細胞の百分率を low grade (grade I, II) 群と high grade (grade III, IV) 群とに分けて比較したもので, low grade 群は $70.8 \pm 11.9\%$, high grade 群は $67.5 \pm 14.8\%$ であり, low grade 群は high grade 群に比して高い傾向を示しているものの有意の差は認めない.

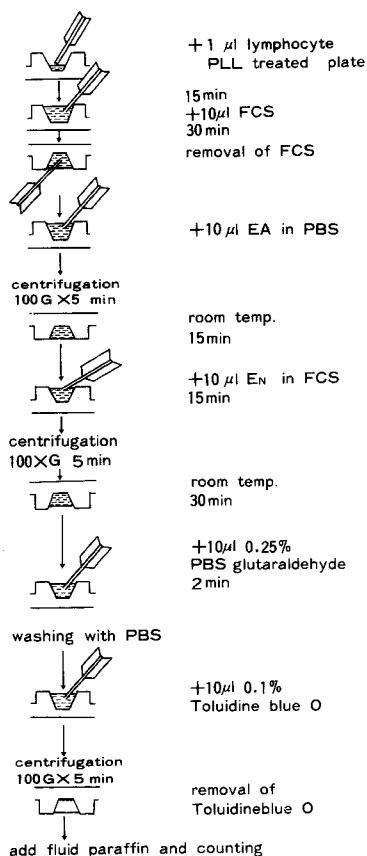


Fig. 1. IgG-FcR⁺T cell の検出法

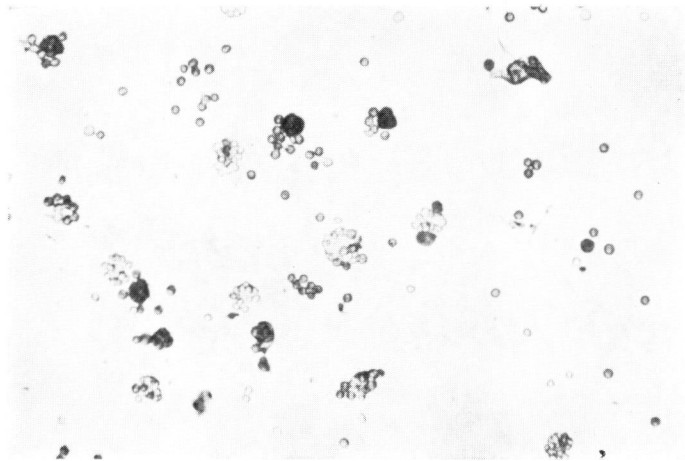
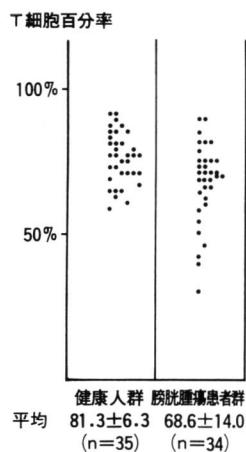
Fig. 2. IgG-FcR⁺ T 細胞

Fig. 3. 膀胱腫瘍患者群と健康人での T 細胞百分率

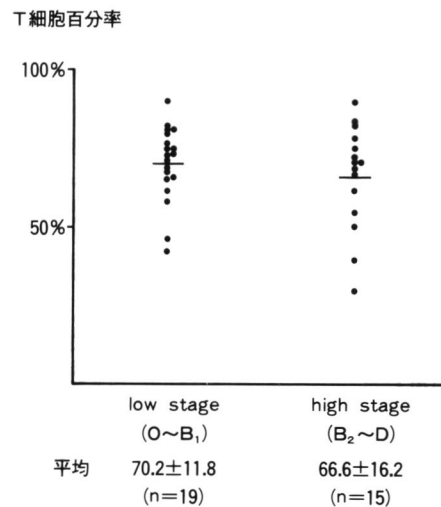
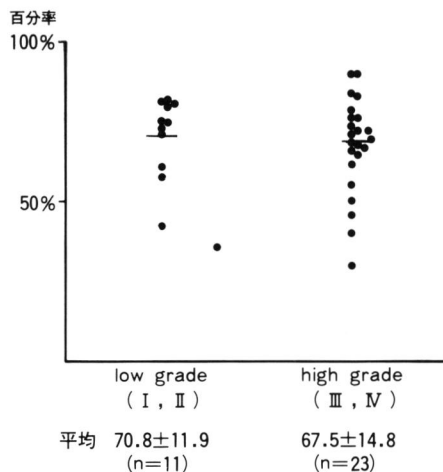
Fig. 5. 膀胱腫瘍患者の low stage (0~A₁) および high stage (B₂~D) 別 T 細胞百分率

Fig. 4. 膀胱腫瘍患者の low grade (I, II) および high grade (III, IV) 別 T 細胞百分率

Table 4 は T 細胞百分率を各 stage 別に示したもので stage A, B₁, B₂, C, D はそれぞれ 72.1 ± 11.0 , 64.6 ± 12.1 , 57.0 ± 12.6 , 69 , 70.2 ± 16.7 (mean $\pm$ S.D.) であった。low stage (stage A, B₁) と high stage (stage B₂, C, D) 群とでは, Fig. 5 に示すとおり low stage 群 $70.2 \pm 11.8\%$, high stage 群 $66.6 \pm 16.2\%$ で grade と同様に low stage 群では high stage 群に比して T 細胞百分率は高いが有意差は認めない。

2) T 細胞絶対数

Table 5 は T 細胞絶対数の平均値を各 grade 別に示したもので grade I, II, III, IV はそれぞれ 1808 ± 364 , 1282 ± 503 , 1201 ± 581 , 1343 ± 476 であった。Fig. 6 は low grade 群と high grade 群について T 細胞絶対数を比較したもので平均値は low grade 群

Table 3. 膀胱腫瘍患者の grade 別T細胞百分率

grade	T細胞百分率平均値 ± S.D. (n: 症例数)	
I	67.2 ± 12.7 (n = 6)	70.8 ± 11.9 (n = 11)
II	75.2 ± 8.9 (n = 5)	
III	68.0 ± 13.1 (n = 17)	67.5 ± 14.8 (n = 23)
IV	66.2 ± 18.6 (n = 6)	

Table 4. 膀胱腫瘍患者の stage 別T細胞百分率

stage	T細胞百分率平均値 ± S.D. (n: 症例数)	
A	72.1 ± 11.0 (n = 14)	70.2 ± 11.8 (n = 19)
B ₁	64.6 ± 12.1 (n = 5)	
B ₂	57.0 ± 12.6 (n = 4)	66.6 ± 16.2 (n = 15)
C	69 (n = 1)	
D	70.2 ± 16.7 (n = 10)	

Table 5. 膀胱腫瘍患者の grade 別T細胞絶対数

grade	T細胞絶対数平均値 ± S.D. (n = 症例数)	
I	1808 ± 364 (n = 5)	1574 ± 504 (n = 9)
II	1282 ± 503 (n = 4)	
III	1201 ± 581 (n = 16)	1229 ± 564 (n = 20)
IV	1343 ± 476 (n = 4)	

Table 6. 膀胱腫瘍患者の stage 別T細胞絶対数

stage	T細胞絶対数平均値 ± S.D. (n: 症例数)	
A	1551 ± 611 (n = 12)	1457 ± 555 (n = 16)
B ₁	1172 ± 57 (n = 4)	
B ₂	1151 ± 621 (n = 4)	1191 ± 557 (n = 13)
C	1006 (n = 1)	
D	1235 ± 551 (n = 8)	

1574 ± 504 cells/mm³, high grade 群 1229 ± 564 cells/mm³ と low grade 群が高い傾向を示した。

Table 6 は T細胞絶対数の平均値を各 stage 別に示したもので stage A, B₁, B₂, C, D はそれぞれ1551 ±

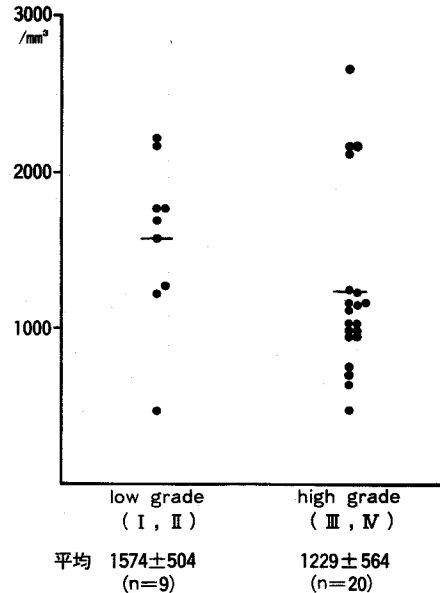
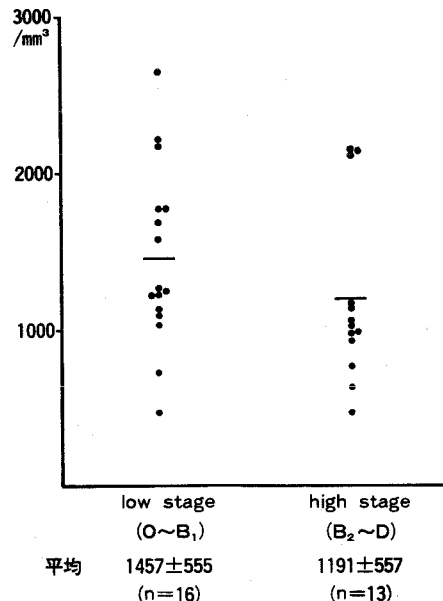


Fig. 6. 膀胱腫瘍患者の low grade (I, II) および high grade (III, IV) 別T細胞絶対数

Fig. 7. 膀胱腫瘍患者の low stage (0~B₁) および high stage (B₂~D) 別T細胞絶対数

611, 1172 ± 57, 1151 ± 621, 1006, 1235 ± 551 であった。low stage 群と high stage 群を比較すると Fig. 7 に示すとおり平均値はそれぞれ 1457 ± 555 cells/mm³, 1191 ± 557 cells/mm³ であり low stage 群は high stage

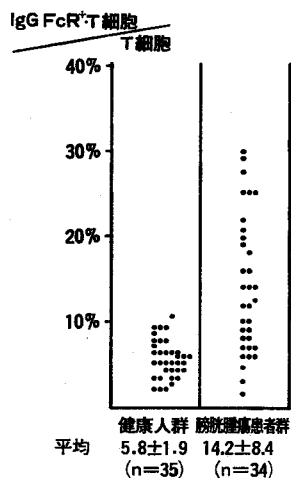


Fig. 8. 膀胱腫瘍患者群と健康人群でのT細胞に対する IgG-FcR⁺T細胞の百分率

Table 7. 膀胱腫瘍患者の grade 別 IgG-FcR⁺T細胞の百分率

grade	IgGFcR ⁺ T細胞百分率平均値 ± S.D. (n : 症例数)	
I	14.7 ± 8.2 (n = 6)	11.9 ± 8.0 (n = 11)
II	8.6 ± 6.4 (n = 5)	
III	15.7 ± 7.5 (n = 17)	15.0 ± 7.5 (n = 23)
IV	13.2 ± 7.4 (n = 6)	

Table 8. 膀胱腫瘍患者の stage 別 IgG-FcR⁺T細胞の百分率

stage	IgGFcR ⁺ T細胞百分率平均値 ± S.D. (n : 症例数)	
A	13.7 ± 7.7 (n = 14)	13.4 ± 8.1 (n = 19)
B ₁	12.4 ± 8.9 (n = 5)	
B ₂	16.3 ± 5.4 (n = 4)	15 ± 7.2 (n = 15)
C	25 (n = 1)	
D	13.5 ± 7.3 (n = 10)	

群に比して高い傾向を示していた。

3) IgG FcR⁺T 細胞の T細胞に対する百分率

Fig. 8 は対照群と膀胱腫瘍患者群の IgG FcR⁺T細胞の T細胞に対する百分率を示したもので対照群の平均値 $5.8 \pm 1.9\%$ に対して患者群は $14.2 \pm 8.4\%$ と高値であり、統計的に有意の差を認めた ($P < 0.001$)。

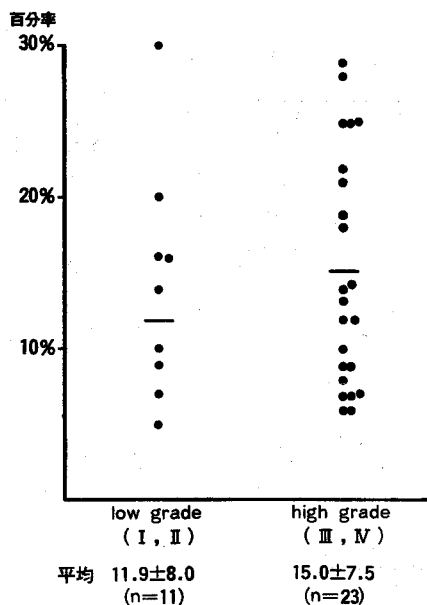


Fig. 9. 膀胱腫瘍患者の low grade (I, II) および high grade (III, IV) 別 IgG-FcR⁺T細胞百分率

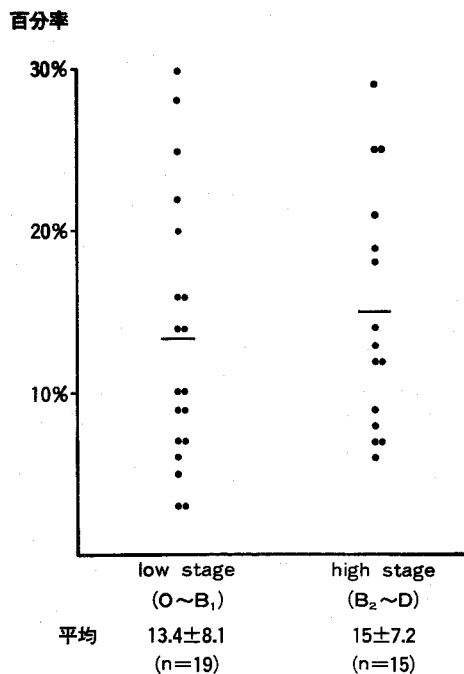


Fig. 10. 膀胱腫瘍患者の low stage (0~B₁) および high stage (B₂~D) 別 IgG-FcR⁺T細胞の T細胞に対する百分率

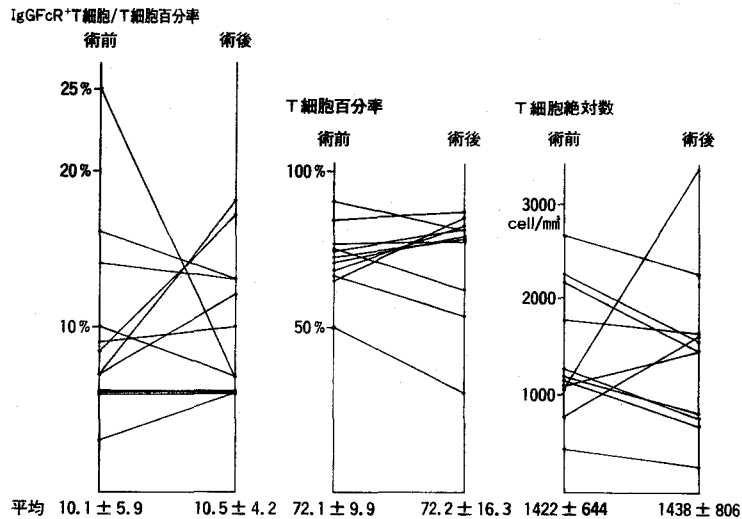


Fig. 11. 膀胱腫瘍患者11例の IgG-FcR⁺ T細胞/T細胞百分率, T細胞百分率およびT細胞絶対数の術前・術後での変動

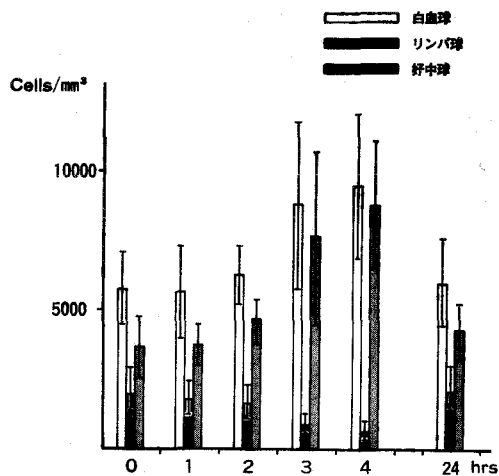


Fig. 12. 白血球, リンパ球および好中球の絶対数に対するハイドロコチゾン (300 mg, one shot 静注) の影響

Table 7 は IgG FcR⁺T 細胞の百分率を各 grade 別に示したもので grade I, II, III, IV はそれぞれ 14.7 ± 8.2 , 8.6 ± 6.4 , 15.7 ± 7.5 , $13.2 \pm 7.4\%$ であった。Fig. 9 は low grade 群と high grade 群について IgG FcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率を比較したもので, 平均値は low grade 群 $11.9 \pm 8.0\%$, high grade 群 $15.0 \pm 7.5\%$ で high grade 群がやや高い傾向を示していた。

Table 8 は IgG FcR⁺T 細胞の百分率を各 stage 別

に示したもので stage A, B₁, B₂, C, D はそれぞれ 13.7 ± 7.7 , 12.4 ± 8.9 , 16.3 ± 5.4 , 25 , $13.5 \pm 7.3\%$ であった。Fig. 10 は low stage 群と high stage 群とを比較したもので, 平均値はそれぞれ 13.4 ± 8.1 , $15 \pm 7.2\%$ であり, high stage 群がやや高い傾向を示していた。

4) 治療による変動

Fig. 11 は膀胱腫瘍患者11例の術前, 術後での IgG FcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率, T 細胞百分率および T 細胞絶対数の変動を示したものである。IgG FcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率の術前, 術後の平均値はそれぞれ $10.1 \pm 5.9\%$, $10.5 \pm 4.2\%$ であり差を認めなかった。また, T 細胞百分率の術前, 術後の平均値はそれぞれ $72.1 \pm 9.9\%$, $72.2 \pm 16.3\%$ でありやはり差を認めない。さらに T 細胞絶対数の術前, 術後の平均値はそれぞれ 1422 ± 644 cells/mm³, 1438 ± 806 cells/mm³ であり同様に差を認めなかった。

5) ステロイドが白血球, リンパ球, 好中球, T 細胞および IgG FcR⁺T 細胞の各分画に与える影響

Fig. 12 は健康成人3例にハイドロコチゾン 300 mg を one shot 静注し, 1時間後, 2時間後, 3時間後, 4時間後および24時間後の白血球, リンパ球, 好中球の各分画に与える影響につき検討したもので白血球分画は静注前の 5667 ± 1357 cells/mm³ より4時間目には 9467 ± 2590 cells/mm³ と漸増しているが24時間目には 5967 ± 1586 cells/mm³ とほぼ静注前値に近い値を示している。リンパ球分画は静注前値 1932 ± 835 cells/mm³ であり, 4時間目には漸減し

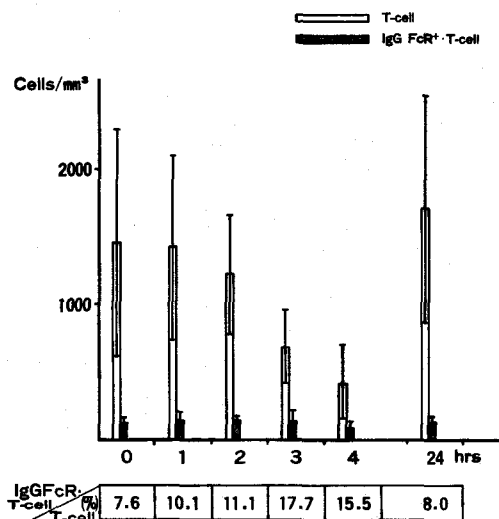


Fig. 13. T-cell および IgG-FcR⁺T-cell の絶対数に対するハイドロコチゾン (300 mg, one shot 静注) の影響

580±390 cells/mm³ と低値を示していたが、24時間目は 1921±891 cells/mm³ とほぼ静注前値に近い値である。好中球分画は静注前値 3689±1125 cells/mm³ であり、4時間値は 8750±2295 cells/mm³ であり漸増しているが24時間後には 4153±1023 cells/mm³ とほぼ前値に近い値であった。

Fig. 13 は T 細胞および IgG FcR⁺T 細胞の絶対数に対するハイドロコチゾン静注時の影響を示す。T 細胞絶対数は前値 1665±867 cells/mm³ から4時間値 419±274 cells/mm³ まで著減し、24時間値は 1714±814 cells/mm³ とほぼ静注前値に近い値を示している。IgG FcR⁺T 細胞の絶対数も前値 127±41 cells/mm³、1時間値 143±41 cells/mm³、2時間値 139±23 cells/mm³、3時間値 121±84 cells/mm³、4時間値 65±36 cells/mm³、24時間値 138±37 cells/mm³ であり、4時間値が最も低値を示した。一方、IgG FcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率は静注前値 7.6、1時間値 10.1、2時間値 11.1、3時間値 17.7、4時間値 15.5、24時間値 8.0 であり3時間値が最も高値を示していた。

考 察

従来よりリンパ球は T 細胞 (胸腺由来) と B 細胞 (鳥類では Fabricius 嚢由来、ヒトでは由来不明) に分けられ、前者は細胞性免疫系の主役を担い、後者は液性免疫系の主役を演ずると考えられている。さらに最近、抗体産生において T 細胞、B 細胞の相互作用

が明らかとなり、また T 細胞にはその機能や表面 marker の違いから異なった subclass の存在が知られており、それらは helper, suppressor, killer, amplifier および delayed hypersensitivity initiator T 細胞などと呼ばれている¹⁷⁾。動物実験ではそれら各 subclass の表面形質の研究が進んでおり、マウスで helper は Ly 1 抗原を、suppressor や killer は Ly 2, 3 抗原をもつと報告されている^{18,19)}。ヒトのリンパ球においても T 細胞の中に immunoglobulin の Fc 部分に対する receptor をもった IgG FcR⁺T 細胞や IgM FcR⁺T 細胞の存在が知られ、IgM に対するものは helper として、IgG に対するものは suppressor や killer T 細胞に相当するものと考えられている^{14,15)}。

近年、乳癌や胃癌患者において IgG FcR⁺T 細胞の測定がなされ、癌の浸潤および悪性度が高くなるにつれ IgG FcR⁺T 細胞数の増加が認められるという報告がある^{20,21)}。泌尿器悪性腫瘍については T 細胞数の術前後の増減などについての報告をみるが IgG FcR⁺T 細胞の測定に関する報告はきわめて少ない。そこで患者は膀胱腫瘍患者34例について末梢血 IgG FcR⁺T 細胞および T 細胞数を測定し、これら測定値と癌の悪性度および浸潤度との関係を比較検討した。そして一部の患者では腫瘍摘除による免疫能の推移を追ってみた。

一方、生体に手術等の各種のストレスが加わると副腎皮質ホルモンの分泌が亢進し、これらにより生体の免疫能が影響されることが充分考えられる。そこで、ステロイドホルモンが免疫能に与える影響を明らかにするため健康人3例にハイドロコチゾンを one shot 静注したときの免疫能の経時的変化をも検索した。

1) T 細胞の百分率および絶対数について

膀胱腫瘍患者の末梢血リンパ球中 T の細胞に関する報告では、O'Toole²²⁾ らは8人の膀胱腫瘍患者と8人の健康人についてヒツジ赤血球とのロゼット形成試験を用いて T 細胞の百分率を調べ、T 細胞の百分率は膀胱腫瘍患者と健康人との間ではほとんど差を認めなかったと述べている。また、西村²³⁾ らも同様の方法で20人の膀胱腫瘍患者と21人の対照について調べた結果、T 細胞の百分率はほとんど差を認めなかったと述べている。一方、Catalona²⁴⁾ らは21例の膀胱腫瘍患者と対照の83例との T 細胞百分率および絶対数を調べた結果、膀胱腫瘍患者は対照に比して有意に低値であったと述べており、さらに西尾²⁵⁾ らは23例の膀胱腫瘍患者と11例の対照について T 細胞の百分率を調べた結果、膀胱腫瘍患者は健康人に比して有意に低値であったと報告している。著者の成績では患者群は対照

群に比して T 細胞百分率は有意に低下しており、著明ではないが癌の浸潤度および悪性度の高い症例ほど T 細胞の百分率は低下する傾向がうかがわれた。

T 細胞の百分率よりも T 細胞の単位容積あたりの絶対数 (cells/mm³) の方が癌患者の免疫状態をより反映するという報告があり^{26,27)}著者も T 細胞の絶対数を調べた。その結果、T 細胞の絶対数は low grade 群は high grade 群に比して減少する傾向にあり、また high stage 群は low stage 群に比して減少する傾向にあった。

2) IgGFCR⁺T 細胞について

ヒトリンパ球において IgG の Fc 部分に対する receptor をもった T リンパ球、いわゆる IgGFCR⁺T 細胞はその一部が suppressor T 細胞または killer 細胞であると考えられている。そこで末梢血リンパ球中の IgGFCR⁺T 細胞の検出を試みた。

従来、Fc receptor を検出するには、変性 IgG に螢光色素ラベルして検出する方法²⁸⁾や、各種抗体感作赤血球を利用し rosette を形成させて検出する方法などが報告されている^{29,30)}。

そのなかで IgGFCR⁺T 細胞の検出には、まずヒツジ赤血球により E rosette を形成させ、比重遠沈法により T rich 分画を得、さらに抗体感作ウシ赤血球により EA rosette を形成させる方法、大きさや形態の異なったヒツジ赤血球および抗体感作ニワトリ赤血球による double rosette 法³⁰⁾あるいはヒツジ赤血球および peroxidase-抗 peroxidase complex による方法などが報告されている³²⁾。T rich 分画の EA rosette 形成による方法では、T rich 分画そのものが100% T 細胞ではないこと、また、ヒツジ赤血球と E rosette 形成細胞の分離に hypotonic shock を使用するため表面 receptor への影響が無視できない。ヒツジ赤血球および抗体感作ニワトリ赤血球による double rosette 形成法では、ニワトリ赤血球はヒツジ赤血球と比べ、非常に大きく、ヒツジ赤血球がみにくく判定しにくいという欠点があり、また試験管内で反応させるため、pipette 操作が複雑で、かつ再現性を高めるためには熟練を要することが難点としてあげられる。peroxidase-抗 peroxidase complex およびヒツジ赤血球を利用する方法では、抗原とする純度の高い peroxidase が入手しにくく高価である。また以上述べたほかに EA rosette に抗 Rh 血清の一種である Ripley 血清を使用する方法がある。Ripley 血清は同種血清であり厳密な意味でのヒト Fc receptor 検出には有用であると考えられるが、入手が困難であり、日常検査には適したものと思えない。

そこで著者は Terasaki plate を利用して複雑な pipette 操作を少なくし、ヒツジ赤血球および抗体感作ウシ赤血球を使用した double rosette 検出法を考案¹⁶⁾し、膀胱腫瘍患者末梢血中の IgGFCR⁺T 細胞を測定した。その結果、IgGFCR⁺T 細胞は膀胱腫瘍患者群では健康人群に比して有意に高値であった。また癌の悪性度および浸潤度別にみると癌の悪性度および浸潤度が高いほど IgGFCR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率は高値を示す傾向が認められたが、有意差は認められなかった。

癌患者末梢血中の IgGFCR⁺T 細胞に関する報告では秋元²⁰⁾らは乳癌患者22例と対照群20例の IgGFCR⁺T 細胞を測定し乳癌患者は対照群に比して IgGFCR⁺T 細胞は有意に高値を示したと報告しており、また新保ら²¹⁾は胃癌、子宮癌、肝癌、卵巣癌、肺癌、上咽頭癌など176検体の IgGFCR⁺T 細胞を測定し、対照群20例に比して腫瘍患者では IgGFCR⁺T 細胞が高値を示したと述べており、著者の成績と同様の結果であった。

IgGFCR⁺T 細胞はその一部が suppressor T 細胞または killer 細胞の一部といわれているが、現時点では断定しえない。IgGFCR⁺T 細胞を suppressor と考えるなら膀胱腫瘍患者における増加は細胞性免疫能が低下する一因と考えられ、腫瘍排除機構より考えるなら好ましくない。しかし IgGFCR⁺T 細胞を killer 細胞として考えるなら膀胱腫瘍患者における増加は、腫瘍に対する一種の防御反応と考えられ好ましい。

IgGFCR⁺T 細胞はその相対比が悪性腫瘍患者およびある種の膠原病患者³³⁾で増加することは興味ある知見であるが免疫状態における意義は未だ不明な点が多く今後の検討が必要と考えられる。

3) 治療およびステロイドによる変動

膀胱腫瘍患者11例につき術前、術後での IgGFCR⁺T 細胞、T 細胞百分率、および T 細胞絶対数のおおのの平均値の変動をみたが、いずれも前後で差を認めなかった。他家の報告では^{20,21)} IgGFCR⁺T 細胞および T 細胞百分率は腫瘍摘除術後、正常化するというものが多いが、著者の対象症例は手術浸襲としては比較的大きいと考えられる膀胱全摘出術症例が11例中6例も含まれており、手術後14日目より30日の間に採血を施行したものの手術浸襲よりの立ち直りが各症例により一様でないこと。また TUR Bt (transurethral resection of bladder tumor) など比較的小侵襲の少ない術式であっても、これらのストレス等が免疫能に影響することと考えられた。そこでストレスが加わったときに分泌が亢進するとされるステロイドホルモンが免疫能に与

える影響を検索した。結果としてハイドロコチゾン one shot 静注により特に T 細胞絶対数は著明に減少し、IgGFcR⁺T 細胞の絶対数はあまり変化しなかった。一方、IgGFcR⁺T 細胞の T 細胞に対する比は経時的に変動を示した。以上のことより T 細胞絶対数および IgGFcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率はステロイドにより著明な影響をうけることが考えられ、特に術後の各種ストレス存在下でのこれら parameter の変動の解釈は注意を要することが示唆された。

結 語

膀胱腫瘍患者の細胞性免疫能を調べる目的で末梢血リンパ球中の T 細胞ならびに IgGFcR⁺T 細胞を測定し、つぎの結論を得た。

1. 膀胱腫瘍患者の末梢血リンパ球中の T 細胞は対照群に比して有意に低値であった。一方、IgGFcR⁺T 細胞は対照群に比して有意に高値であった。

2. 癌の悪性度および浸潤度の高い症例ほど T 細胞百分率および絶対数は低下する傾向を示していた。一方、IgGFcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率は高くなる傾向が認められた。

3. 膀胱腫瘍患者の腫瘍消失前・後での T 細胞百分率、T 細胞絶対数および IgGFcR⁺T 細胞の細胞に対する百分率を比較すると著明な差は認められなかった。IgGFcR⁺T 細胞の T 細胞に対する百分率に影響を与える一因子として術後のストレスによるステロイドの存在が示唆された。

稿を終るにあたり御指導、御校閲を賜った恩師石神襄次教授に感謝の意を捧げ、また直接御指導いただいた守殿貞夫助教授に深謝の意を表します。

本論文の要旨は第7回日本臨床免疫学会において発表した。

文 献

- 1) Hoover, R. and Framini, J.F., Jr.: Risk of cancer in renal-transplant recipients. *Lancet*, 2: 55, 1973.
- 2) 折田薫三: 担癌生体の細胞性免疫—術前、術後からみた免疫療法の必要性—。医学のあゆみ, 91: 406, 1974.
- 3) Katz, D.H. and Benacerraf, B.: The regulatory influence of activated T cells on B cell responses to antigen, *Adv. Immunol.*, 15: 1, 1972.
- 4) Gershon, R.K.: Contemporary topics in immunobiology. (edited by Cooper, M. & Waner, N.), Vol. 3, Plenum Press, N.Y., 1974, P.I.
- 5) Dickler, H.B.: Lymphocyte receptors for immunoglobulin. *Adv. Immunol.*, 24: 167, 1976.
- 6) Moretta, L. Ferrarini, M., Durante, M.L., et al. Expression of a receptor for IgM by human T cells in vitro. *Eur. J. Immunol.*, 5: 565, 1975.
- 7) Yodoi, J. and Ishizaka, K.: Lymphocytes bearing receptors for IgE. I. Presence of human and rat T lymphocytes with Fc receptors. *J. Immunol.*, 122: 2577, 1979.
- 8) Lum, L. G., Muchmore, A. V., Keren, D., et al.: A receptors for IgA on human T lymphocytes. *J. Immunol.*, 122: 65, 1979.
- 9) 渡辺信雄・橋武彦: リンパ球の表面マーカーの検査, *Medicina*, 15: 43, 1978.
- 10) 中川俊郎: リンパ球の分離法と Marker の選択. *日本臨床*, 36: 104, 1978.
- 11) Broders, A.C.: Epithelioma of the genitourinary organs. *Ann. Surg.*, 75: 574, 1922.
- 12) Jewett, H.J. et al.: Infiltrating carcinoma of the bladder: Relation of depth of penetration of the bladder wall to incidence of local extension and metastases. *J. Urol.*, 55: 366, 1946.
- 13) Marshall, V.F.: The choice of surgical therapy for epithelial neoplasms of the urinary bladder. *Brit. J. Urol.*, 29: 228, 1957.
- 14) 橋 武彦・ほか: ヒトの T 細胞, B 細胞の測定 (改良法). 免疫実験操作法別刷, p.907, 1974.
- 15) 中川俊郎・ほか: ヒト末梢血リンパ球分離法の再検討. *アレルギー*, 25: 118, 1975.
- 16) 島谷 昇・ほか: Terasaki plate を用いた IgG FcR⁺T cell の検出法. *臨床免疫*, 13: 75, 1981.
- 17) 矢田純一: 免疫現象とその疾患への応用. *日児誌*, 80: 1045, 1976.
- 18) Huber, B., Cantor, H., Shen, F.W., et al.: Independent differentiative pathways of Ly 1 and Ly 23 subclasses of T cells. Experimental production of mice deprived of selected T cell subclasses. *J. Exp. Med.*, 144: 1128, 1976.
- 19) Cantor, H. and Boyse, E.A.: Functional subclasses of T lymphocytes bearing different Ly antigens. II. Cooperation between subclasses of Ly⁺ cells in the generation of killer activity. *J. Exp. Med.*, 141: 1390, 1975.
- 20) 秋元 実・ほか: 乳癌患者における細胞の検討. *臨床免疫*, 12: 728, 1980.
- 21) 新保敏和・ほか: 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, 1977.
- 22) O'Toole, C. et al.: Lymphoid cells mediating tumor specific cytotoxicity to carcinoma of the urinary bladder. *J. Exp. Med.*, **139**: 457, 1974.
- 23) 西村泰司・ほか：膀胱腫瘍患者における細胞性免疫—Age matched control および multiple dose specific mitogen を用いての検討—. 日泌尿会誌, **67**: 1013, 1976.
- 24) Catalona, W.J. et al.: T lymphocytes in bladder and prostatic cancer patients. *J. Urol.*, **112**: 378, 1974.
- 25) 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 sub-population について—. 泌尿紀要, **23**: 367, 1977.
- 26) 谷内 昭・ほか：癌患者の免疫能. 臨床免疫, **6**: 1005, 1974.
- 27) 今井浩三・ほか：ヒト T-cell および B-cell マーカーとしてのロゼット形成試験とその臨床応用知見. 臨床免疫, **7**: 1229, 1975.
- 28) Dickler, H.B. and Kinkel, H.G.: Interaction of aggregated γ globulin with B lymphocytes. *J. Exp. Med.*, **136**: 191, 1972.
- 29) Ferrarini, M., Moretta, L., Abrile, Roberta, et al.: Receptors for IgG molecules on human lymphocytes forming spontaneous rosettes with sheep red cells, *Eur. J. Immunol.*, **5**: 70, 1975.
- 30) 新保敏和・ほか：ヒト 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, 1977.
- 31) 中山拓郎・ほか：各種疾患における TG 細胞の変動および治療の影響. 癌と化学療法, **6**: 231, 1979.
- 32) Itoh, G., Miura, S. and Suzuki, I.: Immunohistochemical detection of Fc receptor, 1. Light microscopic demonstration of Fc receptor by using soluble immune complexes of peroxidase-antiperoxidase immunoglobulin G. *J. Histochem Cytochem.*, **25**: 252, 1977.
- 33) 田中順子・ほか：—1. 慢性関節リウマチ, SLE などの膠原病におけるリンパ球の sub-population, T 細胞 subsets の検討と臨床像との相関 および levamisole の効果について—. 臨床免疫, **10**: 828, 1978.

(1981年1月19日受付)