

肺癌，肺結核，癩症例における PHA 皮内反応の検討

京都大学胸部疾患研究所 内科 2

門 政男，北市 正則，松井祐佐公

泉 孝英，大島 駿作

国立京都病院 病理

浅 本 仁

京都大学医学部 皮膚科

尾 崎 元 昭

1 緒 言

癌患者の免疫能を測定する一つの方法として，PHA 皮内反応が行なわれるようになってきている。PHA 皮内反応は，前感作を必要とせず，手技が簡単で，副作用がほとんど無く，再現性があり，遅延型過敏反応にきわめて類似した反応であるとされている¹⁻⁴⁾。固型癌患者の PHA 皮内反応については，いくつかの報告がみられるが⁵⁻⁷⁾，我々は原発性肺癌，肺結核症および細胞性免疫能の低下が報告されている癩患者⁸⁾に PHA 皮内反応を行ない比較検討したので報告する。

また，原発性肺癌患者については，組織型，病期による比較，PPD 皮内反応との相関性および副作用についても検討を加えた。

2 対 象

対象は，京都大学胸部疾患研究所に入院した原発性肺癌45例，肺結核症27例および入院精査の結果異常なしと判定された9例の健常人と，大島青松園で療養中の癩患者14例の計95例である。原発性肺癌は，組織型別には，扁平上皮癌13例，腺癌17例，小細胞性未分化癌6例，大細胞性未分化癌9例で，病期別には，臨床病期分類Ⅰ期9例，Ⅱ期5例，Ⅲ期21例，Ⅳ期10例で

ある。癩は，癩腫型 (lepromatous type : L型) が10例，境界型 (borderline : B型) が4例であった。

3 方 法

Wellcome 社製の purified PHA を，あらかじめ 50 μ g ずつ分量し，使用直前に注射用生理食塩水 1 ml で溶解して，その 0.1 ml (5 μ g) を前腕屈側の皮内にツベルクリン注射針を用いて接種し，24時間後，48時間後の紅斑および硬結を測定した。紅斑，硬結とも (長径+短径) $\times$ 1/2 mm の平均径をもって測定値とし，24時間後の平均紅斑径が 30 mm 以上のものを PHA 皮内反応陽性とした。PPD 皮内反応は，一般診断用精製ツベルクリン 0.05 μ g/0.1 ml を皮内に接種し，48時間後の紅斑が 10 mm $\times$ 10 mm 以上のものを陽性とした。

4 成 績

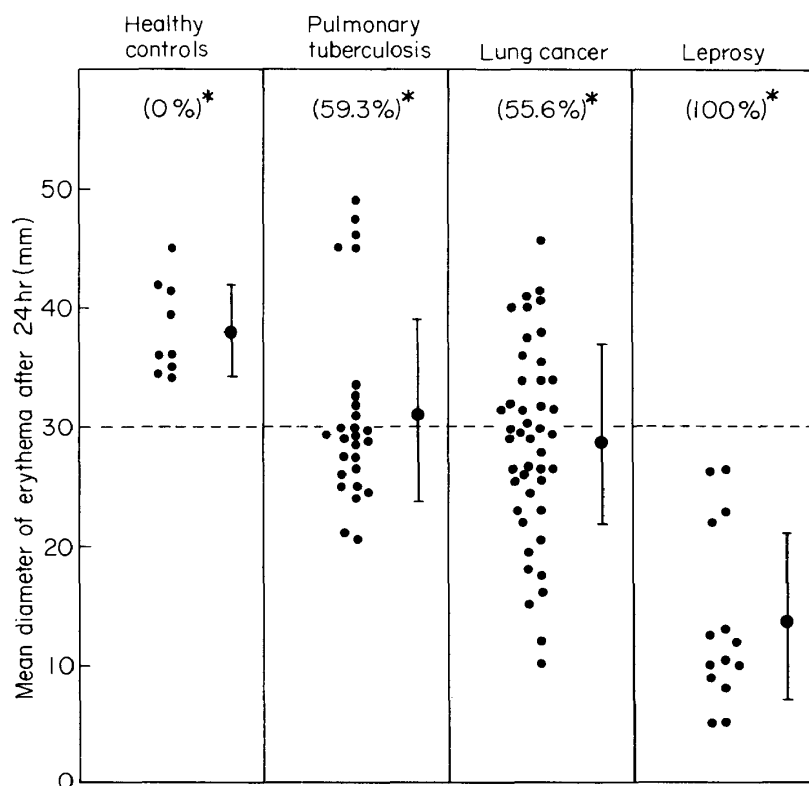
健常人，肺癌，肺結核症，癩の24時間後および48時間後の平均紅斑径と平均硬結径を **Table I** に示した。紅斑も硬結も24時間後のものが，48時間後よりも大きい値であった。硬結は，紅斑に比べて測定しにくい点があり，また，今までの報告のほとんどが，24時間後の紅斑を皮内反応の値としているので⁹⁾，我々も24時間後の

Table I Results of PHA Skin Tests in Various Groups

Group	No. of subjects	No. of negative subjects	Negative rate (%)	Diameter of response (mm) $\pm$ standard deviation			
				24 hr		48 hr	
				Erythema	Induration	Erythema	Induration
Healthy controls	9	0	0	38.1 $\pm$ 3.8	9.4 $\pm$ 1.7	31.9 $\pm$ 19.3	8.0 $\pm$ 1.4
Pulmonary tuberculosis	27	16	59	31.2 $\pm$ 8.1 ($p < 0.001$)	12.3 $\pm$ 9.3	15.4 $\pm$ 10.5 ($p < 0.001$)	4.2 $\pm$ 3.7 ($P < 0.001$)
Lung cancer	45	25	56	28.8 $\pm$ 8.1 ($p < 0.001$)	8.2 $\pm$ 1.7	19.1 $\pm$ 10.3 ($p < 0.001$)	6.7 $\pm$ 2.2
Leprosy	14	14	100	13.8 $\pm$ 7.2 ($p < 0.001$)	9.9 $\pm$ 3.0		

All subjects were tested by intradermal injection of 5 μ g of purified PHA in 0.1 ml of saline.

Number of subjects giving a negative reaction (<30 mm diameter of erythema after 24 hr).

**Fig. 1** PHA Skin Tests in Various Groups

Each point represents the mean diameter of erythema, 24 hr after intradermal injection of 5 μ g of purified PHA and bars show standard deviation.

* Percentage of subjects giving a negative response.

平均紅斑径を指標とした。しかし、48時間後の紅斑をみると、健常人では24時間後の値と大きな差は無いが、肺癌、肺結核症例では、24時間後に比べてほぼ半分位に縮小し、それぞれ $P < 0.001$ の危険率で、健常人に比べて有意の差を示した。

24時間後の硬結は、健常人および各疾患群の間に有意の差は認められず、癩においてさえ

9.9 $\pm$ 3.0 mm の値を示した。48時間後の硬結では、健常人の 8.0 $\pm$ 1.4 mm に対して、肺結核症では 4.2 $\pm$ 3.7 mm であり、有意の差を認めた ($P < 0.001$)。

24時間後の紅斑径で、健常人および各疾患群を比較したものが **Fig. 1** である。健常人は 38.1 $\pm$ 3.8 mm で、30 mm 以下の陰性者は1例もなく（陰性率 0%）、肺結核症は 31.2 $\pm$ 8.1

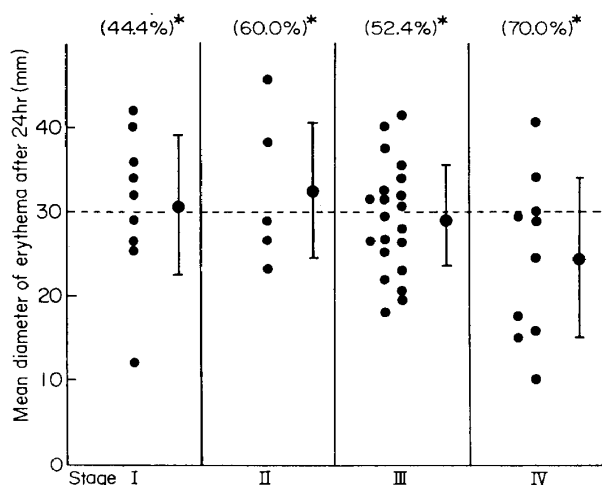


Fig. 2 PHA Skin Test in Patients with Various Stages of Lung Cancer

Each point represents the mean diameter of erythema, 24 hr after intradermal injection of $5 \mu\text{g}$ of purified PHA and bars show standard deviation.

* Percentage of subjects giving a negative response.

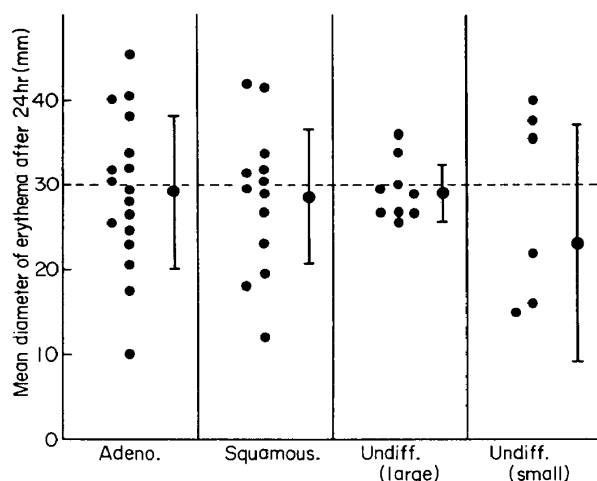


Fig. 3 PHA Skin Test in Patients with Various Cell Types of Lung Cancer.

Each point represents the mean diameter of erythema, 24 hr after intradermal injection of $5 \mu\text{g}$ of purified PHA and bars show standard deviation.

mm で 16/27 (59.3%) が陰性であり、肺癌は $28.8 \pm 8.1 \text{ mm}$ で 25/45 (55.6%) が陰性であり、癰は $13.8 \pm 7.2 \text{ mm}$ で 14例全例が陰性であった。健常人に比べて各疾患とも $P < 0.001$ の危険率で有意の差を認めた。

肺癌症例について、病期別に24時間後の紅斑径をみたものが **Fig. 2** である。臨床病期分類 I 期は $30.8 \pm 8.5 \text{ mm}$ で 4/9 (44.4%), II 期は $32.4 \pm 8.2 \text{ mm}$ で 3/5 (60.0%), III 期は $29.1 \pm$

Table II Correlation of PHA Response and PPD Response in Lung Cancer Patients

		PHA skin test		Total
		(+)	(-)	
PPD skin test	(+)	15(34.9%)	12(27.9%)	27
	(-)	4 (9.3%)	12(27.9%)	16
Total		19	24	

Positive PPD skin response: Diameter of erythema $\geq 10 \text{ mm}$, 48 hr after intradermal injection of $0.05 \mu\text{g}$ of PPD

Positive PHA skin response: Diameter of erythema $\geq 30 \text{ mm}$, 24 hr after intradermal injection of $5 \mu\text{g}$ of purified PHA

6.4 mm で 11/21 (52.4%), IV 期は $24.7 \pm 9.2 \text{ mm}$ で 7/10 (70.0%) が陰性を示し, IV 期で陰性率の増加および III, IV 期で PHA 皮内反応の低下が認められるものの, 統計学的な有意差はなかった ($0.1 > P > 0.05$)。 **Fig. 3** は, 肺癌症例について組織型別に, 24時間後の紅斑をみたものである。腺癌の $29.3 \pm 8.7 \text{ mm}$, 扁平上皮癌の $28.4 \pm 8.3 \text{ mm}$, 大細胞性未分化癌の $29.3 \pm 3.4 \text{ mm}$ に比べ, 小細胞性未分化癌は $23.9 \pm 13.4 \text{ mm}$ で, 前三者に比べやや低下の傾向が認められたが, 有意差ではなかった。陰性率についても, それぞれ 9/17 (52.9%), 7/13 (54.8%), 6/9 (66.7%), 3/6 (50.0%) で有意の差を認めなかった。

Table II は, 肺癌43症例について, PHA 皮内反応と PPD 皮内反応との相関関係を検討した成績である。PHA, PPD 皮内反応とも陽性例が15例 (34.9%) で, 両反応が陰性で一致したものが12例 (27.9%) あり, 合わせて62.8%の相関を示した。なお, PPD 皮内反応が陽性であるにもかかわらず, PHA 皮内反応が陰性であった症例が12例 (27.9%) に認められた。

PHA 皮内反応の副作用をしらべるため, 肺癌, 肺結核症あわせて18例に, 皮内反応施行前後に, 赤血球, 白血球, リンパ球数の測定を行ない比較した。 **Fig. 4** に示すごとく, 特記すべき変動所見は認められなかった。GPT, LDH, BUN についても **Fig. 5** に示すごとく,

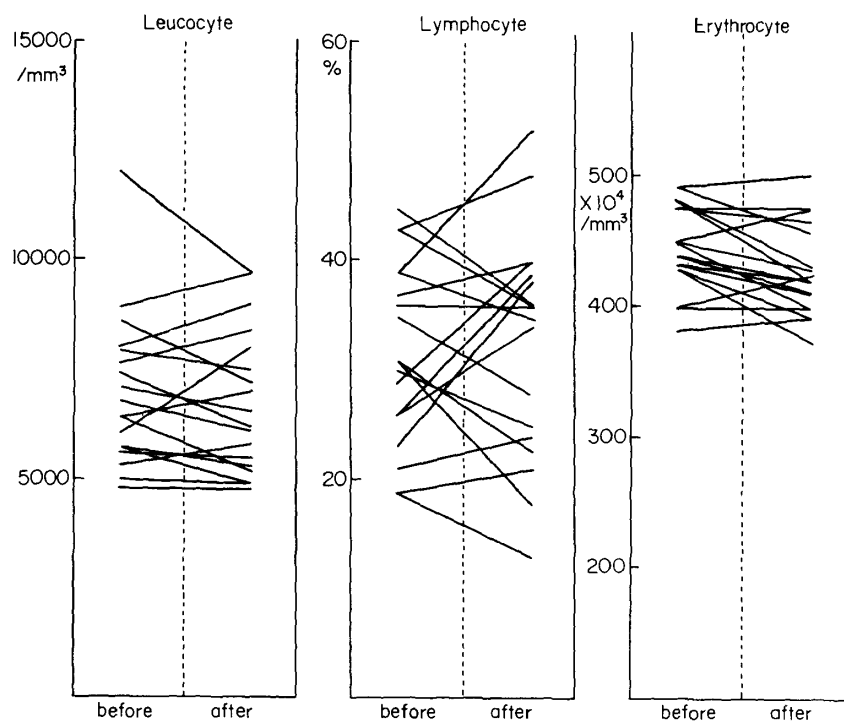


Fig. 4 Effects of PHA Skin Test.

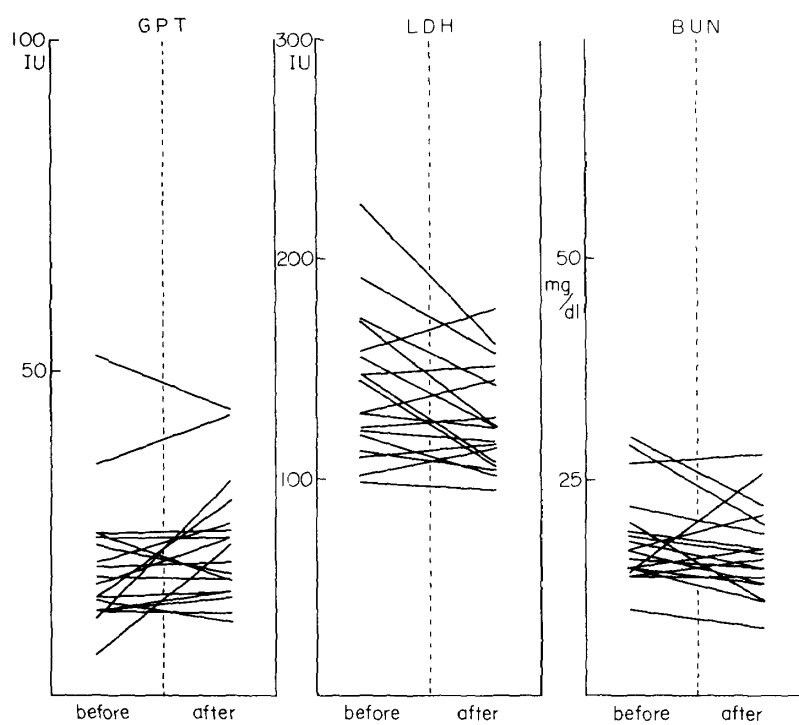


Fig. 5 Effects of PHA Skin Test.

著変を認めていない。

5 考 案

癌患者の予後に、患者の免疫能が関与しているであろうことは、最近の研究報告を見ると否定出来ない事実と考えられる。癌患者の免疫能からみた予後の判定方法あるいは癌免疫療法などの効果を判定する方法として、PHA 皮内反応がとりあげられるようになってきている。

PHA を、細胞性免疫能をみる目的で、ヒトの皮膚反応として初めて試みたのは Schrek & Stefani³⁾ であるが、以来、PHA 皮内反応が、小児の各種免疫不全状態を把握するために用いられるようになり^{10~12)}、また、固型癌患者についての報告もみられるようになってきた^{5~7)}。

PHA 皮内反応は、いわゆる遅延型過敏反応に類似した反応といわれているものの、実態はまだ不明であり、*in vitro* の反応と一致しないこともあるといわれているが、一応現時点では、細胞性免疫能を含めた宿主全般の免疫能、さらには抵抗力全般を反映しているものと考えられている⁹⁾。

PHA 皮内反応の施行方法および判定方法についても、いまだ確定したものがない状態である。しかし、皮内反応に用いる PHA の種類に関しては、Difco の PHA-P よりも、hemagglutinin titer を減弱化し、mitogenic activity を高めた Wellcome 社製の purified PHA がすぐれていると報告されている⁹⁾。皮内注射量については、PHA 1~10 μ g の範囲で使用されているが、健常人に接種した場合に、24時間後の紅斑径が 35~45 mm となる 5 μ g を用いて行なった報告が多くみられる。判定方法については、硬結は紅斑に比べて直径が小さく、また、測定しにくい面があるため、報告者の大多数が24時間後の紅斑を測定値としている。しかし、涌井ら¹³⁾のように、24時間後の紅斑では有意の差はないが、48時間後の紅斑を測定すると癌患者に有意の反応低下を認めたという報告もあり、また癌患者では健常人に比べ、紅斑径のピークが早期にくるという宮本ら¹⁴⁾の報告もあるため、48時間後の紅斑径を測定値とする

方が有用なのかもしれない。我々の成績でも、48時間後の紅斑径で比較すれば、肺癌、肺結核症例とも健常人に比べて有意の差を示した ($P < 0.001$)。しかし、48時間後の紅斑はかなり薄く消退し、長径、短径を測定するのに困難な場合があり、また、前述のごとく、24時間後の紅斑径を測定値とした報告が多いため、我々の成績もそれにならって集計を行なった。また、PHA 皮内反応の陽性域については、24時間後の平均紅斑径が 25 mm 以上とするものと^{5,9)}、30 mm 以上としているもの¹³⁾とがみられる。我々の成績では、健常人はすべて 30 mm 以上であったため、24時間後の平均紅斑径 30 mm 以上を陽性と判定した。

以上の判定基準を設定し、各疾患群を比較検討してみると、肺癌症例において PHA 皮内反応の低下が示され、また、肺結核症例においても有意の低下がみられたことは、これらの疾患による宿主全般の抵抗力低下を示すものと思われる。しかし、細胞性免疫能が極度に低下しているといわれる癩においては¹⁵⁾、一層の反応低下が認められ、陰性率も 100%であったことから考えると、肺癌患者も肺結核患者もある程度の PHA に対する反応性を残していると言えるのかもしれない。なお、癩症例で、B 型 4 例のうち 2 例が 26.5 mm, 23.0 mm を示し、L 型に比べて PHA 反応性がやや高い所見が認められた。これは、B 型は L 型に比べて、細胞性免疫能はわずかながらも保たれるという報告¹⁵⁾に一致しているように思われる。肺癌症例において、病期別に PHA 皮内反応を比較してみると、やはりⅢ、Ⅳ期に反応の低下がみられ、特にⅣ期で著しく、陰性率もⅣ期では 70%の高率を示した。これは、Sone ら⁵⁾の胃癌患者、井草¹⁶⁾の肺癌患者での報告と一致しており、病期がすすむにつれて宿主の反応性が失われてゆくものと考えられる。肺癌の組織型別による PHA 皮内反応の比較では、症例数も少なく、また、病期もそろっていないため不十分ではあるが、小細胞性未分化癌において反応性の低下を認めた。これは、小細胞性未分化癌が早期に転移をおこし、病期がすすむことによるの

かもしれない。次に，肺癌症例について PHA 皮内反応と PPD 皮内反応との相関を検討してみた。Table II に示すごとく，ともに陽性で一致したものが15例(34.9%)，ともに陰性で一致したものが12例(27.9%)に認められ，合計62.8%の一致率であった。これは，Sone ら⁵⁾の報告している71.6%の一致率よりも少し低い成績であるが，PHA 皮内反応陽性を Sone らは25 mm 以上としているのに対し，我々は30 mm 以上としたためであろうと考えられる。また，PPD 皮内反応が陽性なのに，PHA 皮内反応が陰性を示したものが12例(27.9%)に認められたため，PHA 皮内反応は PPD 皮内反応に比べて早期に低下する傾向があるように思われる。さらに PPD(+), PHA(-) の12例を臨床病期別にみると，Ⅰ期1例，Ⅱ期1例，Ⅲ期7例，Ⅳ期3例で，Ⅲ，Ⅳ期に多く，やはり宿主の反応性全般の低下を PHA 皮内反応はより鋭敏にあらわしているものと考えられた。しかし，これは従来報告されている成績とは反対の結果であり，今後症例数を増やして検討を加える必要がある。

PHA 皮内反応の副作用については，注射部位の発赤，癢痒感，熱感以外には特に異変が認められず，これらの症状も3～4日後には消退し，癬痕，潰瘍形成などは皆無であった。また，18症例につき，PHA 皮内反応施行前後で血液検査，血清学的検査を行なったが，特に異常は認められなかった。

6 結 語

健常人，肺結核，肺癌および癩患者95例に PHA 皮内反応 (5 μ g/0.1 ml) を施行し，以下の成績を得た。

- 1) 24時間後の平均紅斑径で比較すると，健常人，肺結核，肺癌，癩では，それぞれ 38.1 ± 3.8 mm (陰性率 0%)， 31.2 ± 8.1 mm (59.3%)， 28.8 ± 8.1 mm (55.6%)， 13.8 ± 7.2 mm (100%) であり，各疾患とも $P < 0.001$ の危険率で健常人に比べ有意の差を示し，特に癩では著しい反応低下を認めた。
- 2) 肺癌症例を臨床病期で比較すると，Ⅰ期

30.8 ± 8.5 mm (陰性率44.4%)，Ⅱ期 32.4 ± 8.2 mm (60.0%)，Ⅲ期 29.1 ± 6.4 mm (52.4%)，Ⅳ期 24.7 ± 9.2 mm (70.0%) で，Ⅲ，Ⅳ期の反応低下およびⅣ期の陰性率増加を認めた。

3) 肺癌症例を組織型で比較すると，小細胞性未分化癌において反応低下の傾向がみられた。

4) 癩症例では，B型よりもL型により一層，反応性低下の所見が認められた。

5) 肺癌症例において，PPD 皮内反応との一致率は62.8%であり，PPD 皮内反応に比べて，PHA 皮内反応が早期に低下する傾向を認めた。

6) PHA 皮内反応の前後で，赤血球，白血球，リンパ球，GPT, LDH, BUN を測定したが，特に異変はなく，その他の副作用も認められなかった。

以上の結果より，癌の進展に細胞性免疫能の関与が考えられる現在，手技が簡単かつ副作用のない PHA 皮内反応は，担癌生体のみならず諸疾患患者の細胞性免疫能を含む宿主全般の免疫能を把握する検査法として有用であると思われる。

文 献

- 1) Schwartz, H. J., Catanzaro, P. J. and Leon, M. A.: An analysis of the effects of skin reactive factor released from lymphoid cells by concanavalin A in vivo. *Am. J. Pathol.*, 63: 443-453, 1971.
- 2) Pick, E., Kvejci, J. and Turk, J. L.: Release of skin reactive factor from guinea-pig lymphocytes by mitogenes. *Nature*, 225: 236-238, 1970.
- 3) Schrek, R. and Stefani, S. S.: Lymphocytic and intradermal reactions to phytohemagglutinin. *Fed. Proc.*, 22: 428-428 (abstract), 1963.
- 4) 西戸孝昭，山根一秀，奥田正治：Phytohemagglutinin (PHA) 皮内反応と in vitro PHA 添加培養リンパ球幼若化率との相関性について。臨床免疫，7: 204-205 (抄録)，1975。
- 5) Sone, S., Taoka, S., Yata, K., et al.: Phytohemagglutinin skin test. Diagnostic value for showing immunodeficiency in patients with cancer. *Gann*, 66: 641-648, 1975.
- 6) Jedrzejczak, W. W.: Phytohaemagglutinin (PHA) skin test in predicting prognosis in cancer patients.

- Int. Archs Allergy appl. Immun., 51: 574-582, 1976.
- 7) Zuckerman, K. S. and Lobuglio, A. F.: Phytohemagglutinin skin tests in cancer patients. *Cancer*, 39: 2355-2361, 1977.
 - 8) Godal, T.: Cellular immune defect in lepromatous leprosy. *Ethiop. Med. J.*, 11: 190-193, 1973.
 - 9) 螺良英郎司会: PHA 皮膚反応検討会記録. 癌と化学療法, 5 (supplement 1): 193-208, 1978.
 - 10) Oppenheim, J. J., Blaese, R. M., Waldman, T. A.: Defective lymphocyte transformation and delayed hypersensitivity in Wiskott-Aldrich syndrome. *J. Immunol.*, 104: 835-844, 1970.
 - 11) Lawlor, G. J., Stiehm, E. R., Kaplan, M. S., Sengar, D. P., Terasaki, P. I.: Phytohemagglutinin (PHA) skin test in the diagnosis of cellular immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 52: 31-37, 1973.
 - 12) Blaese, R. M., Weiden, P., Oppenheim, J. J., Waldmann, T. A.: Phytohemagglutinin as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. *J. Lab. Clin. Med.*, 81: 538-548, 1973.
 - 13) 涌井 昭, 齊藤達雄: 固型癌患者における PHA 皮内反応の検討. 癌と化学療法, 5 (supplement 1): 196-198, 1978.
 - 14) 宮本 宏, 井上勝一, 村尾誠: 肺癌患者における Phytohemagglutinin (PHA) 皮膚反応. 臨床免疫, 10(3): 385-394, 1978.
 - 15) Myrvang, B.: The immunological spectrum of leprosy. *Ethiop. Med. J.*, 11: 188-189, 1973.
 - 16) 井草秀樹: 肺癌における CEA および PHA 皮膚反応の臨床的検討, 日胸疾会誌, 16: 765-772, 1978.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE PHA SKIN TEST IN PATIENTS WITH LUNG CANCER, PULMONARY TUBERCULOSIS AND LEPROSY

**Masao KADO, Masanori KITAICHI, Yusaku MATSUI,
Takateru IZUMI, Shunsaku OSHIMA**

The Second Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University

Hitoshi ASAMOTO

Laboratory of Pathology, National Kyoto Hospital

Motoaki OZAKI

Department of Dermatology, Kyoto University

Clinical significance of a skin test with 5 μ g of purified phytohemagglutinin (PHA) was studied by testing 95 subjects, including 45 cases of lung cancer, 27 cases of pulmonary tuberculosis, 14 cases of leprosy, and 9 healthy controls. Forty three of the lung cancer patients were tested simultaneously with 0.05 μ g of PPD in order to examine the correlation between the PPD test and the PHA test. The PHA skin reaction was determined 24 hr after intradermal injection of PHA and was judged as positive when the diameter of erythema was 30 mm or more. The mean diameter of erythema was 38.1 ± 8.1 mm (negative rate 0%) in healthy controls, 31.2 ± 8.1

mm (59.3%) in pulmonary tuberculosis, 28.8 ± 8.1 mm (55.6%) in lung cancer, and 13.8 ± 7.2 mm (100%) in leprosy. Lung cancer patients with stage III, IV or undifferentiated small cell carcinoma showed reduced PHA skin reactivity. In leprosy, the PHA skin reactivity of the lepromatous type was more markedly impaired than the reactivity of the borderline type. A positive correlation between the PPD skin reaction and the PHA skin reaction was observed in 27 (62.8%) of the 43 lung cancer patients tested. It is concluded that the PHA skin test is significant for the evaluation of cellular immunity in patients with various diseases.