

# 漢方医学と臨床免疫化学

高知大学医学部 生殖・加齢病態学教室

前田長正

## 緒言

### 宿主免疫マーカー

腫瘍マーカーは悪性腫瘍の診断や再発の早期検出に有効であり実地臨床上広く用いられている。これに対し癌を担っている患者自身（担癌宿主）の免疫状態を反映する臨床的指標は未だ確立していない。担癌宿主では、癌の進行に伴い免疫抑制状態となることが知られ<sup>1)</sup>、教室では腫瘍特異的キラーT細胞(CTL)の誘導には、末梢血単核球(PBMC)の単球とT細胞比の恒常性が決定的影響を与えることを明らかにした<sup>1)</sup>。この担癌宿主の免疫学的恒常性の乱れ、特に単球/T細胞比の乱れが

癌再発を許容する要因ではないかという仮説をたて、末梢血中の単球/T細胞比をフローサイトメトリーで測定し、M/T ratio (M/T) という新しい臨床的指標を考案した。

## 十全大補湯

Biochemical response modifier (BRM)<sup>2)</sup> は、担癌患者の免疫担当細胞に作用しサイトカイン産生やCTL誘導を促すため、tumor dormancyとして患者のQOL向上を目的とした免疫療法として用いられている。十全大補湯 ( TJ-48 ) は、10種類の生薬よりなる漢方製剤で、臨床的には全身性消耗疾患の全身倦怠の改善や、癌治療に伴う骨髄抑制の改善に効果を示している。この機序と

して免疫賦活作用が報告され<sup>3)</sup><sup>4)</sup>、BRM  
の一つと考えられている。

本稿では、まず M/T と CTL 活性との関連  
性、また癌再発との関連性について検討し  
た。次に、担癌患者の PBMC への TJ-48 の免疫学  
的影響について検討し、BRM としての臨床応  
用の可能性について考察した。

## 方法

### 対象

1990 年から 2000 年の間に高知大学産婦人科  
で初回治療を行った婦人科癌症例を対象とし  
た。M/T は、子宮頸癌 124 例、子宮体癌 55 例、

卵巣癌 49 例について測定した。In vitro での TJ-48 の免疫特性は、子宮体癌 1 例、卵巣癌 2 例の PBMC を用いて、また in vivo については TJ-48 投与群 22 例、非投与群 15 例を対象とした。

### **M/T ratio**

フローサイトメトリーで PBMC 領域の細胞集団に CD3 および CD11b を反応させ、CD11b<sup>+</sup>細胞と CD3<sup>+</sup>T 細胞の比率 (CD11b/CD3) を two color で測定し M/T ratio (M/T) とした。

### **TJ-48**

#### **In vitro**

PBMC ( $3 \times 10^6$  cells) に MMC 処理自己腫瘍細胞と同時に TJ-48 (ツムラ製薬より提供) を 1 ~

1000  $\mu$  g/ml の濃度で添加し、6日後の細胞分画、細胞増殖能、細胞障害活性を測定した（TJ-48 7.5g内服時血中濃度350  $\mu$  g/ml）。

### **In vivo**

TJ-48 を10ヶ月間内服した22例について経時的にCD3、CD11b、M/T ratioを測定した。

## **結果**

### **M/T ratio**

治療前の担癌患者のM/T（ $1.1 \pm 0.4$ ）は、非担癌患者（ $0.45 \pm 0.2$ ）に比較し有意に高値であった。自己およびアロの腫瘍細胞に対するCTL活性とM/Tの間には負の相関を認め、

M/T が 1.0 以下の群は 1.0 以上の群に比較し有意に高い CTL 活性を認めた ( 図 1 ) 。

初回治療終了後、寛解状態と診断された 228 例は、非再発群は 204 例中 174 例 ( 85.3% ) が 1.0 以下を推移し T 細胞優位の状態で経過した。一方再発群では、M/T は、24 例中 19 例 (79.1%) が経過中 1.0 を超えた。

再発群の臨床的再発徴候の出現時期を 0 とすると、M/T が 1.0 を超える時期は、臨床的再発徴候出現時期の  $6.7 \pm 1.7$  ヶ月前で、この時期は腫瘍マーカーが異常値を示す時期より  $3.4 \pm 1.4$  ヶ月前であった ( 図 2 ) 。

#### **TJ-48 による免疫特性**

## **In vitro**

いずれの症例も CD8 の比率は TJ-48 濃度依存的に増加した。CD3、CD4 は変化を認めなかった。一方単球は濃度依存的に低下した。

TJ-48 による細胞増殖効果は認めなかった。自己腫瘍細胞と TJ-48 の同時添加により、自己腫瘍に対する細胞障害活性は TJ-48 の濃度依存的に増加した。自己腫瘍細胞と TJ-48 により得られた細胞障害活性は、抗 CD3 mAb および抗 CD8 mAb により強く抑制され、抗 CD4 mAb では明らかな抑制はみられなかった。また HLA の検討から標的細胞の特異性は保たれていた。

## **In vivo**

TJ-48 7.5g/日 10ヶ月投与群の CD3 陽性細胞の比率は、非投与群と比較し有意差を認めなかった。しかし、CD11b 陽性細胞の比率は投与群で有意に減少した。また M/T は、投与群で有意に減少した（図 3）。

### 考 察

CTL 活性は担癌患者の免疫能の指標として有用であるが、測定の煩雑さから臨床応用されているとは言い難い。われわれが開発した M/T は、CTL 活性との間に負の相関を認め、これを反映するマーカーと考えられる。更に M/T は少量の末梢血で簡便に測定可能である

こともメリットと言えよう。

健常対照群に比較し担癌患者の M/T は有意に高値であり、M/T からみても担癌患者では CTL 誘導が困難な免疫抑制状態にあると考えられる。

非再発群では M/T は 85.3% が 1.0 以下を推移したが、再発群では 79.1% が 1.0 以上に上昇し多くの症例が免疫抑制状態にあると考えられる。

再発群の M/T の変動パターンからは M/T が 1.0 以上となる時期は腫瘍マーカーの異常値検出時期よりも早く、M/T はより早期に再発を感知していたと考えられる。つまり、再発時には腫瘍の増大に伴う腫瘍マーカー上昇より

も早期に、宿主では単球とT細胞の比率の逆転、つまり抗腫瘍活性の低下と免疫学的監視機構の破綻をきたした状態となり、この状態から再発が生じるものと考えられる。M/Tは、この点からも臨床的に有用なマーカーと考えられる。

TJ-48による免疫特性では、自己腫瘍と同時にTJ-48を添加し培養すると、CD8の比率が濃度依存的に増加し単球系は濃度依存的に低下した。これは、TJ-48の単球増加の抑制とCTLの増加を促す効果を示すものである。

一方、TJ-48は細胞増殖能には変化を認めなかった。TJ-48はそれ自体IL-2様の細胞増殖能

はなく<sup>5)</sup>、また TJ-48 に反応する細胞からの IL-2 様の cytokine 誘導も低いと考えられる。

自己腫瘍細胞と TJ-48 の同時添加により、自己腫瘍に対する細胞障害活性は濃度依存的に増加した。単球は抗原提示細胞 (APC) に分化し、その class I 上に腫瘍抗原を提示して class I 特異的な CTL を誘導するため<sup>6)</sup>、TJ-48 添加による細胞障害活性増強効果は、BRM としての役割を果たしているものと考えられる。

Phenotype の解析からは、TJ-48 により CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 細胞が誘導されていることが明らかとなり、このキラー細胞は HLA class I に特異的で class I 拘束性の CTL が優位に誘導されると考えられる。

TJ-48 の経口投与では、IFN- $\gamma$  や IL-12 など CTL を誘導する cytokine が産生される一方で IL-2 産生は抑制される<sup>7)</sup>。われわれの検討でも、TJ-48 は、担癌患者の PBMC に対して直接的な細胞増殖能は有しないものの、PBMC の構成比率を改善する作用を有していた。その結果、HLA 拘束性の強力な CTL が誘導され、抗腫瘍効果を示したものと考えられる。

担癌患者への TJ-48 の投与は in vivo での CTL 誘導の可能性を示唆し、手術療法・化学療法・放射線療法を支持する tumor dormancy としての免疫療法として、また再発予防の点からも極めて有用であると考えられる。

## 文 献

1. Maeda, N., Sagara, Y. Analysis of immunosuppressive mechanism to cytotoxic T lymphocyte generation in patient with advanced cancer. *Asia Oceania J. Obstet. Gynecol.*, 19: 309-313, 1993.
2. Whittaker, S. 2000. Adjuvant therapy in melanoma. *Clin Exp Dermatol.* 25, 497-502. Review.
3. Ikehara S, Kawamura H, Komatsu Y, Yamada H, Hisha H, Yasumizu R, Ohnishi Y, Kiyohara H, Hirano M, and Aburada M: Effect of medicinal plants on hemopoietic cells. *Adv Exp Med Biol* 319: 319-330, 1992.
4. Sugiyama K, Ueda H, and Ichio Y: Protective effect of juzen-taiho-to against carboplatine induced toxic side effects in mice. *Biol Pharm Bull* 18: 544-548, 1995.
5. Matsumoto T, Sakurai M, Kiyohara H, and Yamada H: Orally administered decoction of Kampo (Japanese herbal) medicine, "Juzen-Taiho-To" modulates

cytokine secretion and induce NKT cells in mouse liver. *Immunopharmacology*

46: 149-152, 2000.

6. Nai SK Boczkowski D, Snyder D, and Gilboa E: Antigen-presenting cells pulsed

with unfractionated tumor-derived peptides are potent tumor vaccines. *Eur J*

*Immunol* 27: 589-597, 1997.

7. Murta EF, de Andrade JM, Falcao RP, and Bighetti S: Lymphocyte

subpopulations in patients with advanced breast cancer submitted to neoadjuvant

chemotherapy *Tumori* 86: 403-407, 2000.

## Abstract

**Immunological parameter for cancer patients:** We demonstrated first in this paper that disturbed immune system, especially imbalance between monocytes and T cells in peripheral blood mononuclear cells are closely related to cancer recurrence. We have developed a parameter of immunocompetence in cancer patients, designated the monocyte/T cell (M/T) ratio. M/T ratio was shown to be related to cytotoxic T lymphocyte activity in vitro. Furthermore, M/T should be useful for earlier detection of recurrence than conventional tumor markers. Early detection of recurrence would permit a timely retreatment decision and contribute to prolong survival in cancer patients. **Immunological effects of kampo medicine:** Juzen-taiho-to (TJ-48) is a traditional kampo medicine used in Japan and China. We demonstrated in this paper that CD3<sup>+</sup>8<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes specific for autologous and HLA shared allogeneic tumor cells was induced from peripheral blood mononuclear cells stimulated by TJ-48 in vitro. Furthermore, we also demonstrated that M/T ratio is decreased by administration of TJ-48 for patients with gynecologic cancer.

キーワード：免疫マーカー、M/T比、キラーT細胞、癌再発、十全大補湯

**Key words:** immunologic marker, M/T ratio, CTL, cancer recurrence, Juzen-taiho-to