

氏名（本籍） 日下部 光彦（岐阜県）  
 学位の種類 博士（医学）  
 学位授与番号 乙第 966号  
 学位授与日付 平成 7年 3月 24日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当  
 学位論文題目 担癌生体における好中球機能と抗腫瘍活性に関する研究  
 第1編 胃癌患者の術前好中球機能と手術侵襲の影響に関する研究  
 第2編 OK-432およびrhG-CSFを用いたラット好中球の貧食活性と抗腫瘍作用の増強法に関する実験  
 審査委員 （主査）教授 佐治 重豊  
 （副査）教授 松永 隆信 教授 渡邊 邦友

## 論文内容の要旨

担癌生体では腫瘍の増大に伴い宿主全般の抵抗性が減弱し、これに栄養障害や臓器障害が加わり潜在的易感染状態となる。かかる症例に対する拡大手術は、それが唯一の治療手段であっても術後合併症増加などの負の要因を惹起する可能性があり注意が肝要である。その主要因は好中球機能の低下によるが、近年好中球には細菌感染に対する貧食作用以外にある種のサイトカンを介して抗腫瘍作用を誘導する可能性が指摘されており、好中球機能低下が術後合併症の増加以外に腫瘍増殖を促進する可能性が危惧される。そこで、申請者は研究Ⅰで胃癌患者を対象に術前、術後の好中球機能を全血法によるchemiluminescence (CL) 活性で評価し、各種臨床検査値との関連を比較検討した。また、教室ではOK-432刺激好中球の抗腫瘍活性増強作用を各種細胞障害活性や光顕或いは電顕的に観察し、granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) 併用効果の有用性につき検討してきた。そこで研究ⅡではOK-432とG-CSFの併用タイミングによる影響をCL活性や腫瘍増殖抑制効果などから検討した。

### 研究方法と結果

#### 研究Ⅰ

末梢血の好中球貧食能は、全血法を用いた好中球によるopsonized zymosanの貧食をluminol発光させアロカ社製ルネッセンスリーダーで測定し、CL活性として表示した。なお、単位好中球当りのCL活性は単位血液当りのCL活性を好中球数で除した値で表示した。また、好中球(N)とリンパ球数(L)からN/L比を求め、更に血清CEA, IAP, CRP, albumin値との間で互いに比較検討した。

1. 術前好中球数と機能：1991年より約20か月間に教室で経験した術前未治療初発胃癌41例（stageⅠ 25例，Ⅱ 4例，Ⅲ 5例，Ⅳ 7例）と再発胃癌6例の計47例を対象に早期群（stageⅠ）25例，中期群（ⅡとⅢ）9例，後期群（Ⅳと再発）13例に分け、胆石症（良対群）10例と健常者（健対群）17例との間で比較検討した。その結果、後期群は早期群及び良対群や健対群に比べ好中球数は有意に高値であったが、CL活性は逆に有意の低値を示した。他に、後期群ではリンパ球数とalbumin値が有意の低値を、CRPは有意の高値を示し、術前CL活性とIAP及びCRPとの間に有意の負相関が、albuminとの間に有意の正相関がみられたが、CEAとの相関はみられなかった。
2. 好中球機能の術後変動：早期胃癌（胃切群）17例と胆石症（胆摘群）10例を対象に検索した。その結果、好中球数は両群とも術後1日目に有意に増加後14日目に低下し、CL活性は胃切群が術後1日目に有意に低下後7日目に有意に増加した。リンパ球数は両群とも術後1日目に有意に低下し14日目に回復し、血清IAPは胃切群で術後7及び14日目に有意に増加し、CRPは両群とも術後1日目に有意に増加後、7日目に有意に低下した。
3. 術式別好中球機能：胃垂全摘（垂全群）22例、胃全摘（全摘群）7例、食道切除（食切群）7例、大腸切除（大切群）9例及び胆嚢摘出（胆摘群）10例を対象に検索した。その結果、好中球数は全摘群と垂全群が大切群や胆摘群に比べ有意の高値を示し、CL活性は垂全群で19/22例、全摘群で7/7例、食切群で6/7例が低下

したが、大切群や胆摘群では軽度であった。なお、垂全群、全摘群、食切群は他群に比べ手術時間が有意に長く、術中出血量が有意に多かった。

以上の結果、担癌患者の好中球数は腫瘍の進行や手術侵襲程度により増加したが、CL活性は逆に低下することが判明した。

## 研究Ⅱ

recombinant human G-CSF (G-CSF) 或いはOK-432を健常SD系雌ラット或いはMRMT-1腫瘍の背部皮下或いは腹腔内注入移植法で作成した担癌モデルに投与し、好中球誘導能、CL活性賦活能および腫瘍増殖抑制効果を経時的に検索した。

1. 好中球CL活性の増強程度：健常ラットにG-CSFを単回皮下投与すると好中球数は有意に増加し10時間後にピーク（7.4倍）に達し以降漸減した。CL活性も経時的に有意に漸増し15時間目（8.9倍）にピークに達し以降漸減した。OK-432単回投与時は好中球数とCL活性とも有意に漸増し48時間目にピーク値を示した後減少した。OK-432前投与後G-CSF併用投与した場合若干の増強効果が観察されたが、G-CSF前投与後OK-432併用投与時は好中球数、CL活性とも逆に低下した。一方、G-CSF連日皮下投与の場合は好中球数及びCL活性とも有意に増加した。

2. 移植腫瘍に対する増殖抑制効果：腫瘍容積はG-CSF皮下投与群で若干増大し、OK-432皮下投与群で移植後4週目に腫瘍拒絶が観察された。OK-432前投与後G-CSF併用投与の場合は若干増殖抑制傾向が観察されたが、G-CSF連日投与の場合は逆に増殖促進様所見がみられた。一方、G-CSF腫瘍内投与の場合は増殖抑制傾向がみられ、末梢血好中球のCL活性も皮下投与群に比べ有意の増強が観察され、組織学的検討でも腫瘍周辺部に著明な好中球浸潤がみられた。なお、癌性腹水モデルの検討ではG-CSF腹腔内投与による生存率の延長は観察されなかった。

以上の結果、好中球数とCL活性はG-CSF単回投与で有意に増強されたが、G-CSFの連続投与或いはOK-432併用による相乗効果はみられなかった。好中球数の増加程度はG-CSFに比べOK-432で若干不良であったが、CL活性の増強はOK-432の方がより長時間持続する傾向が観察された。抗腫瘍効果に関してはOK-432により腫瘍拒絶が観察されたが、G-CSF投与方法及びOK-432との併用タイミングによってはCL活性の低下や腫瘍増殖促進様所見が示唆され慎重な投与が必要と推察された。なお、OK-432との相乗効果を期待する場合は、G-CSFがOK-432刺激好中球の抗腫瘍活性を抑制する可能性が推察されるので注意が肝要である。なお、上記実験結果はSD系ラットにMRMT-1を背部皮下移植或いは腹腔内注入移植するモデルでの検討であり、他の腫瘍系や実験動物を用いた場合には別の結果が得られた可能性は否定できない。しかし、BRM製剤とG-CSFなどのサイトカン併用療法は複雑な宿主ネットワークを刺激するため、時には過剰発現により拮抗物質を誘導し、結果的に負の作用を惹起する可能性があり両刃の剣的作用を有する。本研究はこの可能性を実験的に明らかにした点で意義があると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

申請者日下部光彦は、悪性腫瘍手術症例を対象に全血法により抗中球chemiluminescence活性を測定し、各種臨床検査値との関連を比較検討し、腫瘍増殖及び手術侵襲程度に伴い末梢血好中球数は増加するが、貧食活性は逆に有意に低下し、易感染状態を惹起する可能性を明らかにした。また、好中球増殖因子であるG-CSFと活性増強作用を有するOK-432の腫瘍増殖抑制効果を種々検索し、G-CSF連続投与による増殖促進様作用の存在を初めて明らかにし、OK-432との併用タイミングによっては逆効果を来す可能性もあり、注意が必要であることを指摘した。これらの研究結果は腫瘍外科学の進歩に少なからず寄与するものと認める。

〔主論文公表誌〕

担癌生体における好中球機能と抗腫瘍活性に関する研究

第1編 胃癌患者の術前好中球機能と手術侵襲の影響に関する研究

岐阜大医紀 43(1); 126~135, 1995

第2編 OK-432およびrhG-CSFを用いたラット好中球の貧食活性と抗腫瘍作用の増強法に関する実験

岐阜大医紀 43(1); 136~145, 1995