

癌患者血清中の免疫抑制物質の除去に関する研究

第 1 編

二重濾過血漿分離交換法による免疫抑制物質 の除去についての実験的臨床的検討

岡山大学医学部第一外科学教室（主任：折田薫三教授）

宮 嶋 雅 史

（昭和61年 6 月26日受稿）

Key words：癌免疫療法

膜型血漿分離器

二重濾過血漿分離交換法

免疫抑制物質

リンパ球幼若化反応

はじめに

担癌宿主の血清中には、数多くの特異的非特異的な免疫抑制物質が存在しており、腫瘍の増殖に伴って血清中に増加し、宿主の抗腫瘍作用を減弱させるとされている。逆に、手術によって腫瘍が切除されると、血清中の免疫抑制物質の濃度が速やかに減少し、細胞性免疫能が回復することも知られている¹⁾²⁾。癌の免疫療法の効果をより高めるためには、宿主の抗腫瘍作用の主役である免疫担当細胞の機能を賦活するのみならず、これらの免疫抑制物質を除去することが極めて重要な課題となっていると言えよう。

遠心分離法に加えて、近年の血漿交換技術の進歩によって、膜型血漿分離器を用いて短時間で効率よく血漿を分離することが可能となるに至り、癌患者の血清中から免疫抑制物質を除いてその抗腫瘍作用を回復させようとする試みが、相次いで報告されるようになった³⁾⁴⁾⁵⁾。主に新鮮凍結血漿（FFP）を置換液として用いた血漿交換によって、免疫抑制物質の減少と腫瘍の縮小を認めたとする報告も見られる³⁾。

しかし従来の血漿交換には大きな問題が存在

する。いうまでもなくそれは置換液である FFP の絶対的不足と、その大量の輸注による肝炎ウイルス感染などの副作用である。

これらの問題を解決するためには、大量の FFP を使わずに、免疫抑制物質を選択的に除去する技術を開発することが、急務であると言えよう。筆者はこの目的のために、二重濾過血漿分離交換法：Double Filtration Plasmapheresis (DFPP)⁶⁾に着目し、血漿分離膜の免疫抑制物質の選択的除去能について基礎的臨床的検討を行なったので報告する。

材料および方法

1) 患者血清ならびに名種濾液の免疫抑制活制の測定

a. Phytohemagglutinin (PHA) に対するリンパ球幼若化反応

PHA に対する末梢血リンパ球の反応を、河合の方法⁷⁾に準じて測定した。すなわちリンパ球を10%の fetal bovine serum を含む RPMI-HEPES に浮遊させ、被検血清あるいは control AB 血清を加え、microtiter plate (Falcon) に $1 \times 10^5/0.2 \text{ ml/well}$ 分注した。この各 well

に最終濃度1%のPHAを添加し、CO₂incubatorにて3日間培養した。培養終了前24時間に、1 μ Ci/wellの³H-methylthymidineを加え uptake は liquid scintillation counter にて測定した。cmp は triplicate の平均で求め PHA 幼若化反応における反応抑制率は次の式に従って算出した。

$$\% \text{ inhibition} = \left(1 - \frac{\text{被検血清添加群 cpm}}{\text{対照群 cpm}}\right) \times 100$$

この方法に基づいて、添加する血清の至適濃度を決定し、それに従って患者血清ならびに各種の濾液の免疫抑制活性を検討した。

b. Mixed Lymphocyte Reaction (MLR)

PHA 幼若化反応と同様に分離した健康人ならびに担癌患者末梢血リンパ球を用いて、one-way MLR を行なった。responding cells と mitomycin C 処理した stimulating cells とをそれぞれ 5×10^4 ずつ microtiter plate の各 well に分注した。培養期間を5日間とした他はすべて幼若化反応と同様に行なった。MLR 反応率は次の式に従って算出した。

% stimulation

$$= \left(1 - \frac{\text{DFPP 前の血清添加群 cpm}}{\text{DFPP 後の血清添加群 cpm}}\right) \times 100$$

2) 血漿分離膜 (1 次膜) の検討

3 種の 1 次膜すなわち、cellulose diacetate (CA) 膜、poly methylmethacrylate (PMMA) 膜、poly vinylalcohol (PVA) 膜の血漿分離性能を比較検討した。3 人の担癌患者に対してこれらの膜を 1 回ずつ用いて、それぞれ 3 回ずつ血漿交換を行なった。1000 ml の血漿を分離した時点で、患者血液と 1 次膜で濾過された血漿 (1 次濾液) とを同時に採取した。この血液から分離した血清と 1 次濾液との蛋白濃度を測定し、次の式に従って篩係数 sieving coefficient (SC) を算出した。

$$SC = \frac{\text{1 次濾液中の蛋白成分濃度}}{\text{患者血清中の蛋白成分濃度}}$$

なお蛋白成分の濃度は Lawley 法、Immunoglobulin (Ig) は single radial immunodiffusion (SRID) 法によって測定した。

3) 血漿濾過膜の検討

a. 血漿濾過膜 (2 次膜) の種類

現在入手可能な 2 次膜をすべて用いて、その

Table 1. Specifications of plasma filters for double filtration plasmapheresis.

second filter	material	inside diameter*	well thickness*	effective surface area**	pore size*
2 A-10	EVAL	220	45	1.0	0.01
3 A-10	EVAL	220	47.5	1.0	0.02
4 A-10	EVAL	220	50	1.0	0.03
MA-3000	CA	370	190	0.75	0.04
XK-30	CA	300	120	0.95	0.01
AS-08	PMMA	370	85	0.8	0.1

*: μ , **: m². DFPP: double filtration plasmapheresis EVAL: ethylene vinylalcohol, CA: cellulose diacetate, PMMA: poly methyl methacrylate.

血漿蛋白成分に対する濾過特性を比較検討した。2 次膜は ethylene vinylalcohol (EVAL) 製の 2 A-10, 3 A-10, 4 A-10, CA 製の MA-3000, XK-30, PMMA 製の AS-08 の合計 6 種類である。仕様の詳細は表 1 に示す。

b. in vitro における 2 次膜による血清濾過

3 人の癌患者より血漿交換によって得た 1 次濾液を用いて、6 種類の 2 次膜による濾過試験を行なった。-20°C で凍結保存した 1 次濾液を室温で融解して fibrin を除去した後よく混和し、1 回の試験につき 1500 ml を bag に詰めて使用した。この bag と 2 次膜との間に閉鎖循環回路を作成し、流量 100 ml/min にて 15 分間 pre-circulation を行なった後、まず回路内の血清を採取し 1 次濾液の検体とした。ついで濾過流量 30 ml/min で濾過を行ない、bag が空になった時点で濾液 (2 次濾液) をよく混和した後検体を採取した。回路内に残った血清は残留液とした。以上の操作を各々の 2 次膜について 3 回ずつ施行した。

c. 2 次膜の蛋白成分に対する SC の測定

2 次膜の血清蛋白成分に対する SC は 1 次膜に準じて次の式に従って算出した。

$$SC = \frac{\text{2 次濾液中の蛋白成分濃度}}{\text{1 次濾液中の蛋白成分濃度}}$$

d. cpm-ratio の測定

1 次膜による濾過によって得られた残留液中に、免疫抑制物質がどれだけ濃縮されて存在するかを見るための指標として、cpm-ratio を定め以下の式に従ってこれを算出した。

$$\text{cpm-ratio} = \frac{\text{残留液添加による PHA 反応の cpm}}{\text{1 次濾液添加による PHA 反応の cpm}}$$

e. elimination index による2次膜の評価

2次膜の total protein に対する SC が大きいほど2次濾液中への蛋白の回収率が高く, cpm-ratio が小さいほど残留液中への免疫抑制物質の濃縮率が高い。そこで以下の式に従って elimination index を算出し, 2次膜の評価の指標とした。

$$\text{elimination index} = \frac{\text{total protein の SC}}{\text{cpm-ratio}}$$

4) 癌患者に対する DFPP

a. 対象

岡山大学第一外科にて加療中の進行癌患者22例を対象とした。原疾患は, 胃癌3例, 肺癌9例, 大腸癌5例, 食道癌3例, 乳癌1例で, いずれも再発症例あるいは非治癒切除例であった。

b. DEPP の手技

1次膜は2例に PVA 膜を使用し, 他は CA 膜を使用した。2次膜はすべて 3A-10 を用いた。blood access は大腿動脈と上肢の皮静脈に取

り, 血流は 100 ml/min で, 20-30 ml/min の血漿を得た。分離された血漿すなわち 1次濾液は, 同時に 2次膜に導いてこれを濾過し, 1次濾液の 90% は 2次濾液として患者に返還した。2次膜で濾過されなかった残りの 10% は廃棄液として経時的に廃棄した。処理血漿量は, 全血液量を体重の 7% としてヘマトクリットから推測した全血漿量以上とした。DFPP は隔日に施行し, 原則として合計 6 回をもって 1 クールとした。置換液としては加熱人血漿 (Plasmanate) 250 ml をもちいた。(図 1)

5) DFPP 施行前後における免疫学的指標

a. 免疫抑制物質の測定

ferritin, cartinoembryonic antigen (CEA), immunosuppressive substance (IS), immune complex (IC) を, DFPP 施行前後の患者血清ならびに 1次濾液, 2次濾液において測定した。それぞれについて血漿蛋白に準じて 2次膜に対する SC を求めた。またこれらに加えて, CA-19-9, α_2 -macroglobulin (α_2 -MG), α -fetoprotein (AFP), immunosuppressive acidic protein (IAP), α_1 -antitrypsin (α_1 -AT) の値を測定し, 以下の式に従って除去率を算出した。

$$\text{除去率} = \left(1 - \frac{\text{DFPP 後の血清中濃度}}{\text{DFPP 前の血清中濃度}}\right) \times 100$$

b. 患者血清の免疫抑制活性の測定

DFPP 施行前後において採取した患者血清が, 患者リンパ球及び健康人リンパ球の PHA 幼若化反応及び MLR に及ぼす影響について検討した。

c. 細胞性免疫能の推移

in vivo での細胞性免疫能の指標として, DFPP 施行 1週間前と 1週間後において, PPD 皮膚反応を検査しその変化を検討した。

結 果

1) PHA に対するリンパ球幼若化反応

癌患者血清の PHA 幼若化反応に対する影響は, 添加する濃度を 15% とした時に同濃度の対照 AB 血清と比較した抑制率が最も大きくなった。そこで以下の実験はすべて, 添加血清濃度を 15% とした。

2) 血漿分離膜 (1次膜) の検討

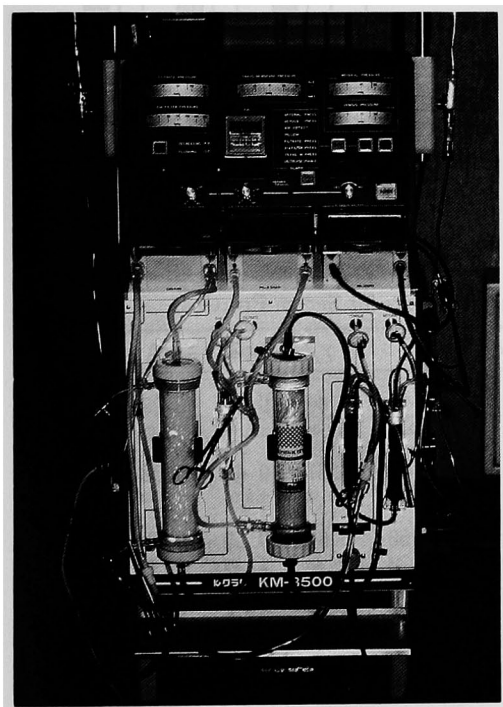


Fig. 1. Auto-regulatory apparatus for double filtration plasmapheresis. Plasma separator (the right) and plasma filter (the left) are indicated.

CA膜, PVA膜, PMMA膜のいずれも, total protein に対する SC は 0.95 以上であった. Ig では, Ig-G で 0.95, 最も分子量の大きな Ig-M でも 0.87 以上を示した. (図 2) もとの癌患者血清と 1 次濾液との, PHA 幼若化反応に対する抑制率に差は認められなかった. (図 3)

3) 血漿濾過膜 (2 次膜) の検討

in vitro の濾過試験で得た 2 次膜の SC は表 2 のとおりである. total protein についてみると 0.32 から 0.84 の開きがみられた. しかし, い

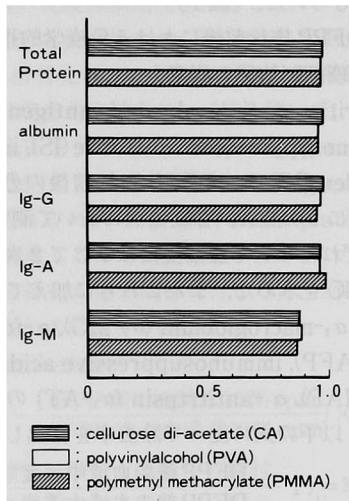


Fig. 2. Sieving coefficients of plasma separators for plasma proteins. Values are means of three separation tests ex vivo.

ずれの膜でも分子量の大きな蛋白ほど SC は小さい傾向があり, 同じ蛋白成分に対する SC は 2 次膜の pore size とほぼ相関していた.

1 次濾液および濾過試験で得た 2 次濾液, 残留液の, PHA 幼若化反応に対する抑制率を見ると, いずれの 2 次膜についても, 2 次濾液は 1 次濾液よりも抑制率が減少しており, 逆に残留液では 1 次濾液に比べ抑制率が著明に増大していた. (図 4)

cpm-ratio は 0.396 から 0.839 の開きが見ら

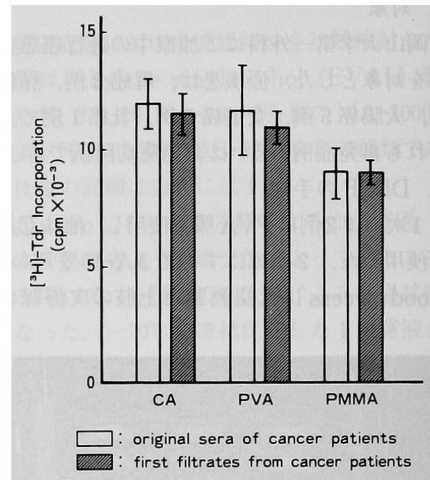


Fig. 3. Effects of cancer patient sera and first filtrates on normal lymphocyte blastogenesis to phytohemagglutinin. Values are means of three experiments.

Table 2. Sieving Coefficients of Plasma Filters for Serum Proteins.

second filter	TP	albumin	α_1	α_2	β	γ	IgG	IgA
2 A-10	0.58 ±0.05	0.65 ±0.05	0.78 ±0.04	0.26 ±0.04	0.31 ±0.14	0.46 ±0.04	0.37 ±0.08	0.28 ±0.05
3 A-10	0.67 ±0.03	0.70 ±0.06	0.60 ±0.01	0.35 ±0.06	0.56 ±0.04	0.61 ±0.13	0.48 ±0.05	0.38 ±0.10
4 A-10	0.74 ±0.06	0.80 ±0.01	0.93 ±0.04	0.44 ±0.16	0.56 ±0.04	0.62 ±0.04	0.52 ±0.05	0.50 ±0.05
MA-3000	0.84 ±0.07	0.88 ±0.05	0.74 ±0.29	0.56 ±0.19	0.69 ±0.21	0.55 ±0.09	0.72 ±0.11	0.78 ±0.05
XK-30	0.32 ±0.04	0.38 ±0.08	0.37 ±0.11	0.05 ±0.01	0.05 ±0.01	0.17 ±0.03	0.33 ±0.04	0.10 ±0.03
AS-08	0.83 ±0.02	0.75 ±0.19	0.88 ±0.18	0.71 ±0.02	0.64 ±0.07	0.66 ±0.08	0.78 ±0.09	0.76 ±0.16

Values are means of three filtration tests in vitro.

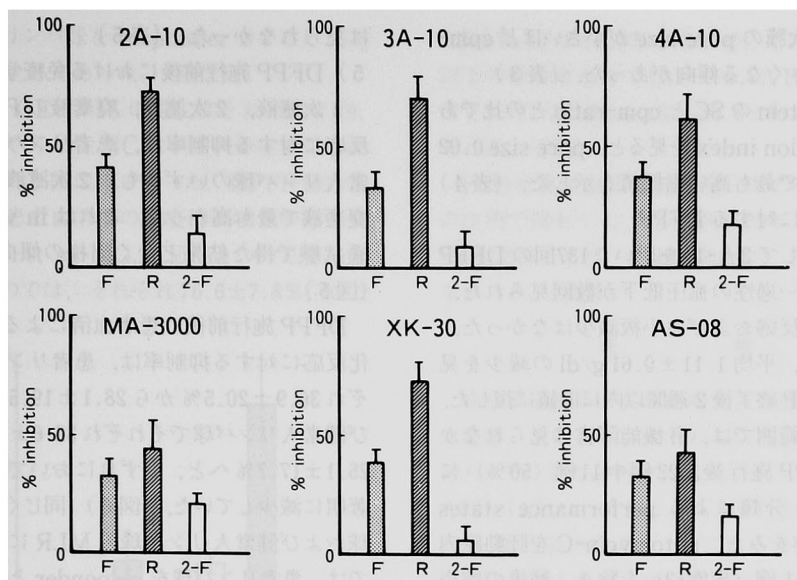


Fig. 4. Effects of cancer patient sera separated by plasma filters in vitro on normal lymphocyte blastogenesis to phytohemagglutinin. F : first filtrate, R : residual fluid, 2-F : second filtrate. (n = 3)

Table 3. cpm-ratio for plasma filters.

second filter	1.	exp. no. 2.	3.	mean $\pm$ se
2 A - 10	0.455	0.361	0.421	0.396 $\pm$ 0.040
3 A - 10	0.480	0.393	0.456	0.443 $\pm$ 0.036
4 A - 10	0.617	0.551	0.631	0.599 $\pm$ 0.035
MA-3000	0.844	0.745	0.848	0.812 $\pm$ 0.048
XK - 30	0.444	0.379	0.403	0.409 $\pm$ 0.027
AS - 08	0.891	0.773	0.852	0.839 $\pm$ 0.049

Table 4. Evaluation of plasma filters according to elimination index.

second filter	SC for TP	cpm-ratio	index
2 A - 10	0.58	0.40	1.45
3 A - 10	0.67	0.44	1.52
4 A - 10	0.74	0.60	1.23
MA-3000	0.84	0.80	1.04
XK - 30	0.32	0.41	0.78
AS - 08	0.83	0.84	0.99

SC : sieving coefficient, TP : total protein, index : elimination index = (SC for TP)/cpm-ratio.

Table 5. Profiles of cancer patients treated with double filtration plasmapheresis.

No.	Age	Sex	Disease	DFPP	PE	PS (Karnofsky)	PPD skin-test
1	62	M	Gastric Ca.	4	ND	O - A	ND
2	64	M	Gastric Ca.	4	ND	O - O	ND
3	54	F	Breast Ca.	4	ND	O - O	-
4	38	M	Rectal Ca.	4	2	O - O	ND
5	72	M	Pancreas Ca.	4	2	O - A	+
6	64	M	Pancreas Ca.	5	1	O - O	-
7	41	M	Esophageal Ca.	5	1	O - A	+
8	53	M	Colon Ca.	5	1	O - A	+
9	53	F	Pancreas Ca.	6	1	O - A	+
10	70	M	Colon Ca.	5	1	O - O	+
11	55	M	Pancreas Ca.	5	1	O - O	ND
12	42	F	Colon Ca.	6	ND	O - C	+
13	50	M	Colon Ca.	6	ND	O - O	-
14	74	M	Esophageal Ca.	6	ND	O - O	+
15	52	M	Rectal Ca.	6	ND	O - O	-
16	46	M	Gastric Ca.	6	ND	O - A	ND
17	78	F	Esophageal Ca.	6	ND	O - O	ND
18	56	M	Pancreas Ca.	11	ND	O - A	ND
19	66	M	Pancreas Ca.	6	ND	O - A	ND
20	47	M	Pancreas Ca.	6	ND	O - A	+
21	53	M	Pancreas Ca.	6	ND	O - O	-
22	55	M	Pancreas Ca.	6	ND	O - A	ND

DFPP : Double Filtration Plasmapheresis, PE : Plasma Exchange, PS : Performance Status, ND : not done, + : improved, - : not improved.

れたが、2次膜の pore size が小さいほど cpm-ratio も小さくなる傾向があった。(表3)

total protein の SC と cpm-ratio との比である elimination index を見ると、pore size 0.02 μ の 3 A-10 で最も高い指標値を示した。(表4)

4) 癌患者に対する DFPP

2次膜として 3 A-10 を用いた137回の DFPP 施行中に、一過性の血圧低下が数回見られた。アレルギー反応および血小板減少はなかった。血清蛋白は、平均 1.11 ± 0.61 g/dl の減少を見たが、DFPP 終了後2週間以内に旧値に復した。観察し得た範囲では、肝機能障害は見られなかった。DFPP 施行後、22例中11例(50%)に Karnofsky 分類による performance states (PS) の改善をみた。mitomycin-C を肝動脈内に注入した1例(症例12)を除き、腫瘍の縮小

は見られなかった。(表5)

5) DFPP 施行前後における免疫学的指標

1次濾液、2次濾液、廃棄液の PHA 幼若化反応に対する抑制率は、患者リンパ球および健康人リンパ球のいずれも、2次濾液で最も低く廃棄液で最も高かった。これは in vitro での濾過試験で得た結果と全く同様の傾向であった。(図5)

DFPP 施行前後の患者血清による PHA 幼若化反応に対する抑制率は、患者リンパ球でそれぞれ $36.9 \pm 20.5\%$ から $28.1 \pm 19.5\%$ へ、および健康人リンパ球でそれぞれ $36.6 \pm 16.6\%$ から $25.1 \pm 17.7\%$ へと、いずれにおいても施行後で著明に減少していた。(図6) 同じく患者リンパ球および健康人リンパ球の MLR に対する影響では、患者リンパ球を responder とすると 46.5

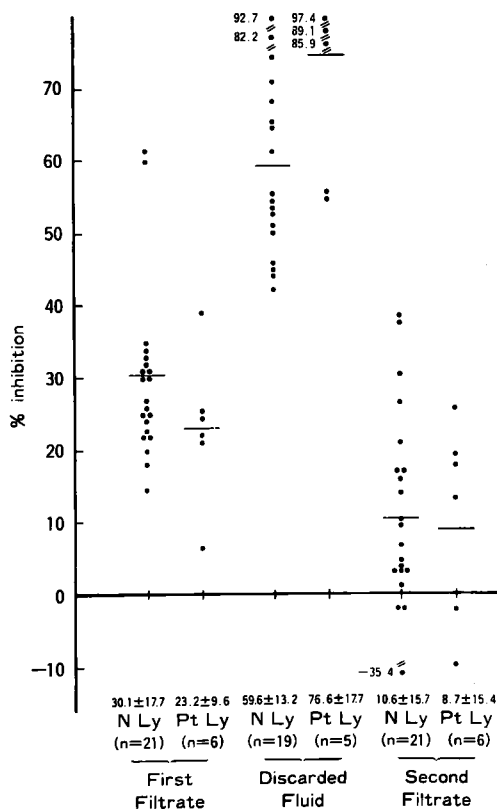


Fig. 5. Effects of cancer patient sera separated by double filtration plasmapheresis ex vivo on normal and patient lymphocyte blastogenesis to phytohemagglutinin.

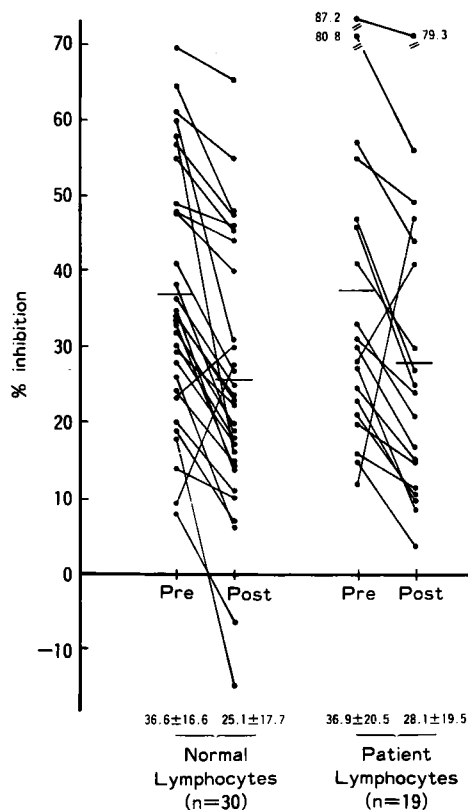


Fig. 6. Effect of sera from cancer patients treated with double filtration plasmapheresis on normal and patient lymphocytes to phytohemagglutinin.

%, 健常人リンパ球を responder とすると 56.6% の反応の上昇があった。(図 7)

ferritin, CEA, IS の SC はそれぞれ 0.19, 0.63, 0.86 であった。IC はいずれの症例でも測定可能範囲の下限以下であった。DFPP 施行前後における患者血清中の免疫抑制物質の除去率は, CA-19-9, α_2 -MG, CEA といった分子量の大きなものでは, それぞれ $76.6 \pm 7.8\%$, 82.2

$\pm 5.6\%$, $67.2 \pm 8.3\%$ と高かった。しかし albumin 以下の分子量を持つ IAP や α_1 -AT では除去率はそれぞれ $32.8 \pm 4.4\%$, $30.6 \pm 6.1\%$ にすぎなかった。(図 8)

PPD 皮膚反応は DFPP 施行後で 62% (8/13) の症例で陽転した。陽転例の 75% (6/8) が PS 改善例であり, 非陽転例の中に PS 改善例はなかった。(表 5)

考 察

癌患者血清中の免疫抑制物質は腫瘍に関連した抗原, 抗体あるいはそれらの複合体であると言われ⁸⁾, また非特異的なものとして α_2 -MG-AFP, IAP, α_1 -AT などがあきらかにされている²⁾。癌患者の血清中よりこれらの免疫抑制物質を除去するために血漿交換を施行し, 腫瘍の縮小などの臨床的効果を認めた報告は多く, 悪性腫瘍に対する血漿交換は, 今後広範な症例での検討を要する段階に至っている。しかし FFP を置換液とする現行の血漿交換技術には大きな問題が存在する。

言うまでもなくそれは, 置換液である FFP をはじめとする血漿蛋白製剤を大量に必要とすることである。血漿蛋白製剤の絶対的不足と経済的な理由により, 大量の FFP を常時確保して用いることは, 我が国の現状では極めて困難であると言わざるを得ない。また, 多数のドナーから集めた FFP をひとりの患者に用いるため, 肝炎ウイルスなどの感染の機会もそれだけ多く, アレルギー反応などの副作用とともに無視し得ない重要な問題となっている。これらの問題を解決するためには, 免疫抑制物質のみを選択的に除去する新しい技術の開発が必要となってくる。

一方, 近年我が国の優れた高分子材料の合成技術によって, 血液から血漿のみを濾し分ける膜型血漿分離器が開発された。さらに血漿分離のみならず, 血漿蛋白をさまざまな分子量のレベルで濾過できる血漿濾過膜の作成も可能となるに至った。ここに二重濾過血漿分離交換法: double filtration plasmapheresis (DFPP) が新たな血液浄化技術として誕生した⁶⁾。

筆者はこの DFPP に着目し, 本法を癌患者

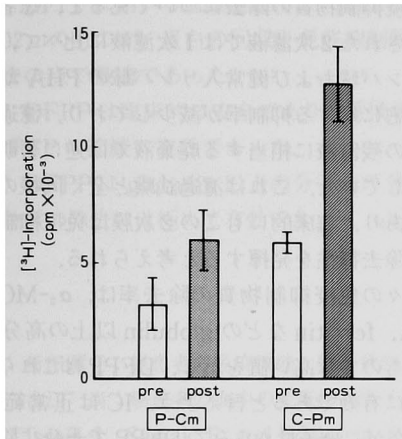


Fig. 7. Effect of cancer patient serum on mixed lymphocyte reaction between normal and patient lymphocytes. pre: before DFPP, post: after DFPP, P: patient lymphocytes, C: control normal lymphocytes, m: treated with mitomycin-C.

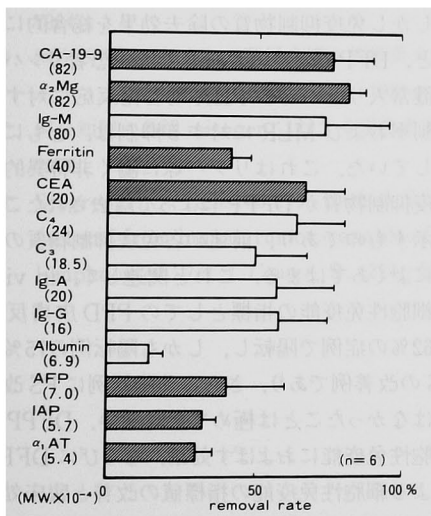


Fig. 8. Removal rates of 3 A-10 plasma filter for immunosuppressive factors. M.W.: molecular weight.

に応用すれば免疫抑制物質の選択的除去と蛋白製剤の節減とが同時に可能となるのではないかと考えた。しかし、今までに悪性腫瘍に DFPP を応用したという報告はなく、いかなる濾過膜が最も有効であるか、全く明かとなっていない。そこでまず、濾過膜の選定を行なった。

DFPP を施行するにあたっては、2種類の膜を必要とする。すなわち、血漿分離膜（1次膜）と血漿濾過膜（2次膜）である。免疫抑制物質を選択的に除去するうえで、まず1次膜の蛋白透過能が重要な因子であることは論をまたない。

今回検討した3種類の1次膜すなわちCA膜、PVA膜、PMMA膜はいずれもtotal proteinに対するSCが0.95以上であり、かつこれらの1次膜によって分離された1次濾液はもとの患者血清に比較してPHA幼若化反応におよぼす影響に差が見られなかった。このことより、1次膜によって癌患者血清中の免疫抑制物質は、他の蛋白成分とともにほぼその組成を変えることなく、1次濾液中に分離できると考えられる。

次にこの1次濾液を濾過する2次膜の蛋白分離特性は、免疫抑制物質を選択的に除去し得るかどうかの鍵を握る、重要な因子となる。今回検討した2次膜はtotal proteinに対してさまざまなSCを示した。in vitroの癌患者血清を用いた濾過試験の結果得られた2次濾液は、もとの1次濾液に比べてPHA幼若化反応に対する抑制率が減少していた。逆に残留液では抑制率が著明に増大していた。このことは、1次濾液中の免疫抑制物質が2次膜によって残留液中に濃縮されたことを示している。この結果より、残留液を廃棄し2次濾液を患者に返還すれば、免疫抑制物質の選択的除去と蛋白の回収とが、同時に可能となると考えられる。

そこで最も効率よくこの操作を実行するために、素材およびpore sizeの異なる6種の2次膜のうち、いずれが最も適切かを決定しなくてはならない。この場合各2次膜のtotal proteinに対するSCと、各2次膜によって分離された残留液のPHA幼若化反応に対する抑制活性とが、重要な評価の対象となってくる。この2点を考慮したelimination indexを考案し、これをひとつの指標値として6種類の2次膜の評価

を実施した。その結果、平均pore sizeが 0.02μ の3A-10が最も優れた指標値を示した。

そこで臨床的にDFPPを施行するにあたり3A-10を2次膜として選択した。副作用としては一過性の血圧低下が数回あるのみで、患者への負担は少ないと思われる。わずかな血清蛋白の低下はあるものの、置換液は血漿交換の10%にすぎず、FFPの節減効果は明らかである。

免疫抑制物質の除去について見ると、患者に返還された2次濾液では1次濾液に比べて、患者リンパ球および健常人リンパ球のPHA幼若化反応に対する抑制率が減少しており、濾過試験での残留液に相当する廃棄液では逆に著明に増大していた。これは濾過試験と全く同様の結果であり、臨床的にもこの2次膜は免疫抑制物質の除去特性を発揮すると考えられる。

個々の免疫抑制物質の除去率は、 α_2 -MG、CEA、ferritinなどのglobulin以上の高分子量のものでは高い値を示し、DFPPはこれらの除去に有効であると言えよう。ICは正常範囲だったが、分子量からみてDFPPで十分に除去可能である。一方、albumin以下の低分子量のものは十分に除去されておらず、膜分離法であるDFPPの方法そのものの限界ということができる。これを補うためには、他の除去技術が必要であろう。

しかし免疫抑制物質の除去効果を総合的にみると、DFPP後の患者血清では、患者リンパ球と健常人リンパ球のPHA幼若化反応に対する抑制率およびMLRに対する抑制は、ともに減少していた。これはリンパ球に働く非特異的な免疫抑制物質がDFPPによって除去されたことを示すものであり、前述の各免疫抑制物質の減少によくあてはまる。これと関連して、in vivoの細胞性免疫能の指標としてのPPD皮膚反応が62%の症例で陽転し、しかも陽転例の75%がPSの改善例であり、さらに非陽転例にPS改善例はなかったことは極めて興味深い。DFPPの細胞性免疫能におよぼす効果、ならびにDFPPによる細胞性免疫能の指標値の改善と臨床効果との関連は、今後さらに検討を要する課題であろう。今回の検討によって、DFPPは高分子量の免疫抑制物質の除去と癌患者の免疫能の回復

に寄与することが示唆され、癌の集学的治療の一環として有力な補助療法となりうると考えられる。

結 語

癌患者血清中の免疫抑制物質の除去を目的として、二重濾過血漿分離交換法 (DFPP) の効果を実験的臨床的に検討し、以下の結果を得た。

1) DFPP に用いる血漿濾過膜は、pore size が 0.02μ のものが、蛋白の回収と免疫抑制物質の除去の点で最適であった。

2) DFPP は臨床的に安全であり、置換液である FFP の節減に有効であった。

3) DFPP は globulin 以上の分子量の免疫抑制物質の除去には極めて有効であった。albumin

以下のものに対しては十分な除去効果が得られなかった。

4) 患者血清による PHA 幼若化反応および MLR に対する抑制効果は、DFPP 施行後に著明に減少していた。また PPD 皮膚反応が 62% の症例で改善した。

5) 腫瘍の直接的な縮小効果はなかったが、50% の症例で performance states の改善をみた。

6) DFPP は癌集学的治療の一環として有効な補助療法となり得ると考えられた。

稿を終えるにあたり御指導御校閲頂いた恩師折田 薫三教授に深謝致します。ならびに終始懇切なる御指導と御鞭撻を頂いた阪上賢一講師に心より感謝いたします。

文 献

1. 折田 薫三：癌患者の免疫機能。臨床免疫，14，580—589，1982。
2. 古江 尚：癌患者の血中の免疫抑制因子。癌と化学療法，6，1193—1204，1979。
3. Israël, L., Samak, R. and Edelstein, R.: Multiple plasma exchange therapy for metastatic cancer, In *Plasma Exchange*, Sieberth eds, Schattauer Verlag, Stuttgart, pp. 381—390, 1980。
4. Miyazaki, M., Fuchimoto, S., Ohida, J., Tanaka, N., Sakagami, K. and Orita, K.: an Experience of plasma exchange in cancer-bearing patients, In *Therapeutic Plasmapheresis*, 2, Oda eds, Schattauer Verlag, Stuttgart, pp. 503—506, 1982。
5. 小玉正智，谷 徹，中根佳宏：悪性腫瘍に対するプラスマフェレーシス。癌と化学療法，11，1349—1355，1984。
6. 阿岸鉄三，金子岩和，蓮尾良博，早坂勇太郎，佐中 孜，鈴木利昭，太田和夫：二重濾過プラズマフェレーシス。腎と透析，10，475—479，1981。
7. 河合知則：各種 mitogen に対する癌患者末梢血リンパ球の幼若化反応。岡山医学会雑誌，91，697—711，1979。
8. Sjögren, H.O., Hellström, I., Bansal, S.C., Earner, G.A. and Hellström, K.E.: Elution of "blocking factors" from human tumor, capable of abrogating tumor cell destruction by specifically immune lymphocytes: *Int. J. Cancer*, 9, 274—283, 1972。

Removal of immunosuppressive substances from cancer patient serum

I. Selective removal of immunosuppressive substances from cancer patient serum by double filtration plasmapheresis

Masashi MIYAZAKI

First Department of Surgery, Okayama University Medical School

(Director : Prof. K. Orita)

The effect of double filtration plasmapheresis (DFPP) on the removal of immunosuppressive substances present in the sera of patients with advanced cancers was examined. The inhibition assay of normal lymphocyte blastogenesis to phytohemagglutinin (PHA) revealed that the serum containing immunosuppressive substances could be separated from patient blood by the first filter and the substances could be concentrated in the residual fluid by the second filter in DFPP. To selectively remove the substances and to elevate the recovery of protein, a 3 A-10 second filter was selected according to the elimination index. DFPP using 3 A-10 was performed in 22 patients with advanced cancers. The suppressive effects of patient sera on PHA blastogenesis and on a mixed lymphocyte reaction between normal and patient lymphocytes were remarkably reduced after DFPP. Immunosuppressive substances with larger molecular weights than globulin were effectively removed by DFPP. The PPD skin-test as an index of cellular immunity in vivo improved in 62 % (8/13), and performance states according to the Karnofsky's classification showed improvement in 50 % (11/22) of the patients. These results suggest that the immune activity of cancer patients can recover after removal of immunosuppressive substances by means of DFPP without using a large amount of substitutional fluid.