

免疫能と白血球食菌能に及ぼす AC-1370投与の影響

落合武徳・佐藤 博・浅野武秀

榎本和夫・永田松夫

千葉大学医学部第2外科

要 旨

手術後の感染症の治療と予防の目的で、AC-1370を5例に投与し、投与の前後で患者リンパ球の免疫能と白血球殺菌能を測定した。リンパ球の免疫能はAC-1370投与の前後で大きな変動を示さなかった。白血球殺菌能は、対照例では手術の影響によるものと思われる低下が認められたが、AC-1370投与例はそのような低下は認められず、機能が手術前と同程度に維持された。これらの検索の結果、AC-1370は白血球の食菌作用を賦活し、生体の感染防御能を高めている可能性が示唆された。

序 文

近年生体の免疫活性を高める物質の存在が知られ、癌の免疫療法に使用されているが、これらはBiological Response Modifierとよばれている。これらの物質は細菌の菌体や培養ろ液からの精製物が多く、化学構造も明らかにされている¹⁾。第3世代のcephem系の新抗生物質AC-1370はマウスの感染防御試験で*in vitro*における抗菌力を超えた効力が得られることから、*in vivo*において生体の感染防御能や免疫系を賦活する作用が存在することが示唆された。そこで我々は外科手術後の感染症の治療と予防にAC-1370を使用した際にみられる患者の感染防御能を測定し、Biological Response ModifierとしてのAC-1370の効果を検討した。

I. 検索対象と研究方法

1. 対象

昭和57年11月から58年1月の間に千葉大学第2外科において手術を施行した5症例にAC-1370を投与したが、これらの症例を検索の対象とした。対象患者の年齢、性、疾患名、手術術式、AC-1370の投与理由、投与期間、投与量をTable 1にまとめた。症例1～3は術後に存在した感染症の治療の目的でAC-1370が投与されたが、これらの症例ではPHA反応、Con反応、ADCC活性、T細胞数、B細胞数、IgGFcR⁺T細胞数が測定された。症例4、5は手術後の感染予防としてAC-1370が投与されたが、これらの症例において白血球の殺菌能が測定された。AC-1370の白血球殺菌能に与える影響を検索する際に、同時に手術をうけた同程度の手術侵襲の症例にlata-

moxef (LMOX)を投与し、これらを対照として白血球殺菌能を検索した。

2. 免疫学的検索事項

患者の末梢リンパ球をFicoll-Paque (ファーマシア)を用いて分離し、Table 2に示したPHA-P反応、Con A反応、T細胞数、B細胞数、IgGFcR⁺T細胞数、ADCC活性を測定した。検索時期はAC-1370投与前とAC-1370 1日4gを7日間投与した翌日の午前9時とした。

PHA-P反応

前述した方法に従って²⁾1×10⁵個のリンパ球を10%仔牛胎児血清を添加したRPM1640 (GIBCO)中でPHA-P1μgを加えて3日間培養し、最後の16時間に加えた0.25μCiのトリチウム・チミジンのとりこみを測定した。

Con A反応

1×10⁵個のリンパ球に0.5μgのCon Aを添加して3日間培養した時のトリチウム・チミジンのとりこみを測定した²⁾。

T細胞数

ニューラミダーゼで処理した羊赤血球を用いたロゼット法により測定した³⁾。

B細胞数

リンパ球表面免疫グロブリンの蛍光抗体法によって測定した。

IgGFcR⁺T細胞

矢田の方法に従って牛赤血球と羊赤血球のダブルロゼット法によって測定した³⁾。

ADCC活性

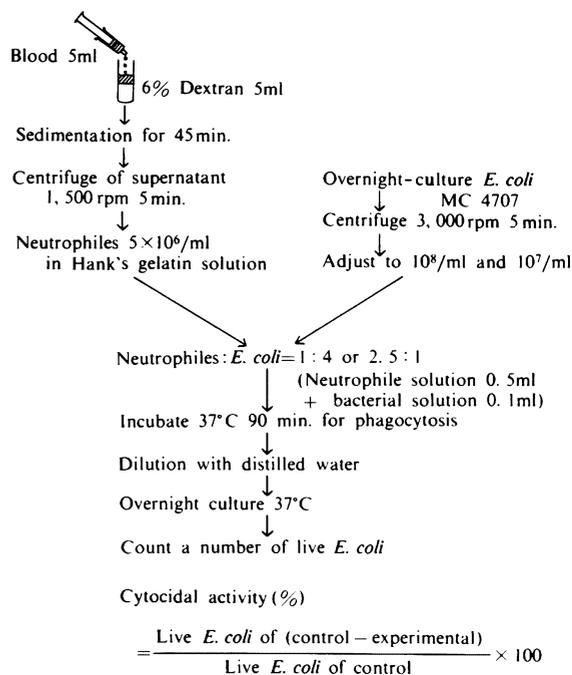
うさぎ抗にわとり赤血球抗体で感作したにわたりの赤血球とリンパ球を37℃で20時間混合して、リンパ球の殺

Table 1 Subjects studied for AC-1370

Case No.	Name	Age	Sex	Diagnosis	Date of operation	Operative procedure	Administration of AC-1370		
							Purpose of treatment	Period	Doses
1	Y.K.	53	M	Carcinomatous peritonitis	Nov. 8, 1982	Jejunostomy	Wound suppraction	Nov. 16 ~ Nov. 25	4 g/day
2	K.N.	47	F	Biliary peritonitis gallstone	Nov. 19, 1982	Cholecystectomy peritoneal drainage	Biliary peritonitis	Nov. 19 ~ Nov. 26	4 g/day
3	S.S.	74	M	Gastric cancer	Dec. 1, 1982	Esophago-gastrectomy splenectomy	Left pleuritis	Dec. 10 ~ Dec. 17	4 g/day
4	K.O.	50	M	Esophageal stricture	Jan. 21, 1983	Esophago-gastrectomy	Prevention of infection	Jan. 21 ~ Jan. 30	4 g/day
5	H.K.	46	M	Gastric cancer	Jan. 21, 1983	Total gastrectomy	Prevention of infection	Jan. 21 ~ Jan. 27	4 g/day

Table 2 Test for ability of AC-1370 as Biological Response Modifier

Lymphocytes :	PHA-P response
	Con A response
	T cells
	IgG FcR ⁺ T cells
	B cells
	Activity of ADCC
Neutrophils :	Cytocidal activity to <i>E. coli</i>

Fig. 1 Procedures to test cytocidal activity of neutrophils to *E. coli*

細胞性を測定した⁴⁾。

白血球殺菌能

E. coli に対する白血球の殺菌能を Fig. 1 の方法によって測定した。検索対象より約 5 ml を採血し、同量のヘパリン加 6% デキストラン溶液と混合して、45 分室温に放置して上清を採取し、遠心した後、Hank's gelatin solution (HGS) に浮遊させて $5 \times 10^6/\text{ml}$ とする。*E. coli* ML4707 を overnight で培養し、HGS で $1 \times 10^8/\text{ml}$ または $1 \times 10^7/\text{ml}$ となるように懸濁し、白血球と *E. coli* の比を 2.5 : 1 ($1 \times 10^7/\text{ml}$ の *E. coli* を用いた場合) または 1 : 4 ($1 \times 10^8/\text{ml}$ の場合) となるように混合、 37°C で 90 分間食菌させる。食菌後蒸留水で白血球を破壊して培養用プレート上にまいて、一晚培養し、翌日プレート上のコロニーを数えて生菌数を測定した。

Fig. 2 PHA-P, Con A response and ADCC activity of the patients receiving AC-1370

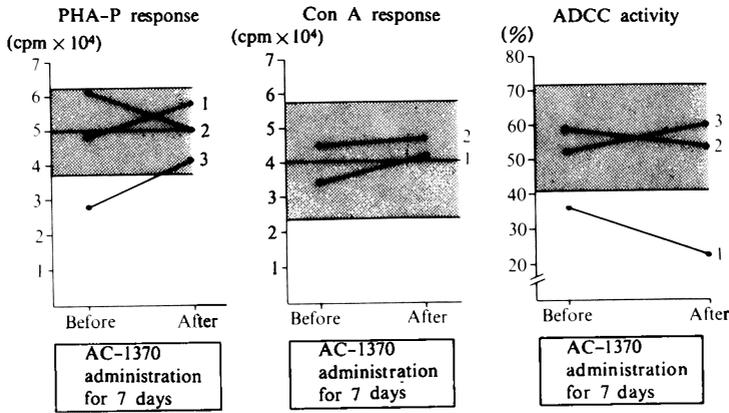
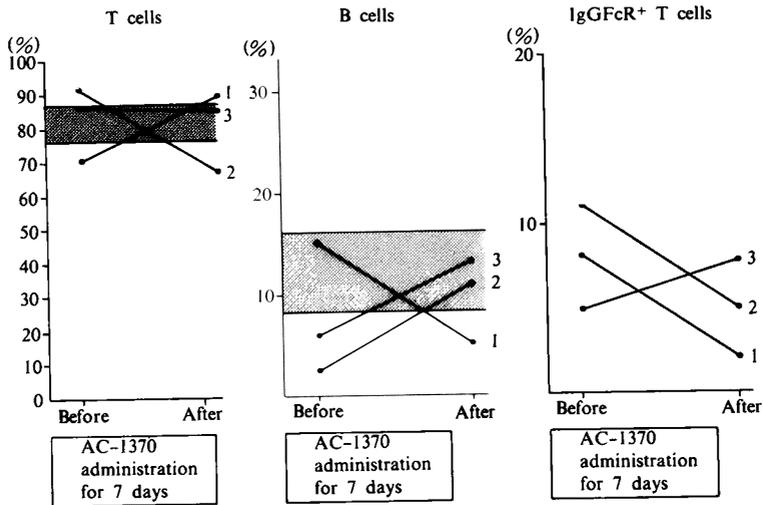


Fig. 3 T, B, IgGFCr⁺ T cells of the patients receiving AC-1370



白血球殺菌率 (%) は

$$\frac{\text{Controlの生菌数} - \text{検体の生菌数}}{\text{Controlの生菌数(白血球を加えなかったもの)}} \times 100$$
 で計算した。

II. 結 果

リンパ球の免疫能

AC-1370を1日4gで7日間投与前と投与後の末梢リンパ球のPHA-P反応, Con A反応, ADCC活性, T細胞, B細胞, IgGFCr⁺T細胞数の変動を症例1~3に

ついて測定した (Fig. 2, 3)。Fig.に表示された黒点の部分は健康成人の分布範囲である。AC-1370投与によってこれらの免疫学的反応は変動を示さなかった。

白血球機能

白血球機能として *E. coli* に対する殺菌能を測定した。まずこの測定方法の安定性を調べる目的で、同一の健康成人の白血球殺菌能を3日おきに3回測定したところ、Table 3のごとく、白血球と *E. coli* の比が2.5対1の時、安定した測定値が得られた (Table 3)。そこでこの条件で症例4, 5が手術をうけ、AC-1370を投与された前後

Table 3 Cytocidal activity of neutrophils of the normal healthy adult

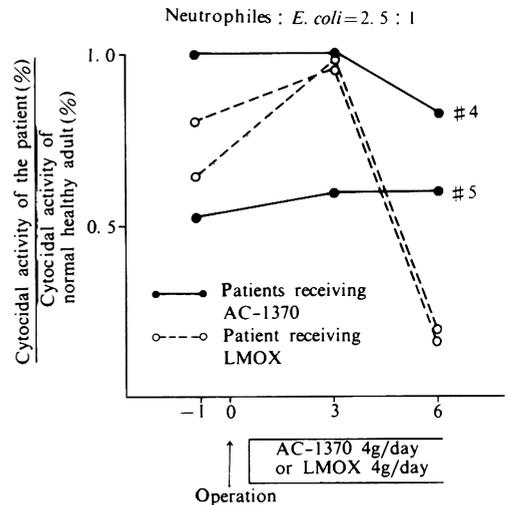
Exp. No.	Neutrophils: <i>E. coli</i> = 2.5:1 Cytocidal activity (%)	1:4 Cytocidal activity
1	39.6	61.0
2 (3 days after)	41.2	30.6
3 (6 days after)	33.9	24.9

の白血球殺菌能を測定した。対照として同時に同程度の手術を受けた患者に LMOX 1日4gの投与を行い、この白血球殺菌能を測定した。患者の白血球殺菌能の表現方法として、同時に測定した健康成人の白血球殺菌能に対する割合をもって示した (Fig. 4)。対照として測定された LMOX 投与例では術後6日目に白血球殺菌能の著しい低下が認められたが、AC-1370症例では白血球殺菌能の低下は認められなかった。本試験では血清のオプソニン効果は調べていないが、*E. coli* ML 4707に対する AC-1370の MICは0.78 μ g/ml, LMOXの MICは0.1 μ g/mlであった。

III. 考 察

近年生体の免疫能を増強する物質の存在が知られ、その分子レベルでの作用が解明されつつある¹⁾。これらは Biological Response Modifierという概念の中に含まれて、癌の治療に応用されているが、抗原性の明確な細菌感染症に対する治療と予防に応用することは十分期待できる。AC-1370はマウスの感染防御試験ですぐれた *in vivo* 効果が知られており、その機序として食細胞機能を賦活化することが示唆されている。そこで我々は Biological Response Modifierとしての AC-1370の活性を知る目的で、千葉大学第2外科において手術を受けた症例の感染症予防と治療のために AC-1370を投与し、投与前後における患者のリンパ球の機能と白血球の殺菌能を測定した。その結果、患者が手術後で一般的に免疫能が低下している時期であるにもかかわらず、リンパ球の免疫能のおちこみは認められなかった。一方患者の白血球機能は LMOX 投与例では手術6日後に著しい低下を示したにもかかわらず、AC-1370投与例では機能が維持され

Fig. 4 Effect of AC-1370 on cytocidal activity of neutrophils



ていた。手術6日目における LMOX 投与例での白血球殺菌能のおちこみは、手術の影響によるものと考えられ、これが自然の経過であって AC-1370投与例で低下しなかったという点が特筆される。

AC-1370がどのような機序で白血球機能の賦活に働いているかは、今後の分子レベルでの解析を待たなければいけないが、AC-1370の持つ Biological Response Modifierとしての作用は抗生物質の新しい領域を開くものと期待される。

文 献

- 1) 東 市郎：文部省「がん」特別研究報告集録，26～31，1983
- 2) 落合武徳，大森耕一郎，雨宮 浩，鈴木盛一，宮島哲也，佐藤 博：ヒトの抗体産生能と末梢リンパ球の mitogen response。医学のあゆみ 98：705～706，1976
- 3) 林 良輔，他：レンチナン持続動注療法における担癌患者の免疫学的検討。日本消化器外科学会雑誌 8：1192～1196，1981
- 4) 日沼州司，多田正人，熊谷勝男：免疫実験操作法，2443～2446，1979

ACTIVITIES OF AC-1370 TO AUGMENT IMMUNOLOGICAL FEATURES
OF THE LYMPHOCYTE AND BACTERIOCIDAL EFFECT OF THE NEUTROPHILE

TAKENORI OCHIAI, HIROSHI SATO, TAKEHIDE ASANO,
and MATSUO NAGATA

Second Department of Surgery, School of Medicine, Chiba University

Activities of AC-1370 to augment immunological features of the lymphocyte and the bacteriocidal effect of the neutrophile were evaluated in 5 patients who received surgery at the Second Department of Surgery, School of Medicine, Chiba University. AC-1370 was given intravenously 4 gram daily for one week. The activities of the lymphocyte and the neutrophile were tested at the time of before and after AC-1370 treatment. Immunological activities of the lymphocyte in terms of PHA-P and Con A responses, and ADCC activity did not show any change by the treatment. Proportion of the subpopulation of the lymphocyte in terms of T cells, B cells, and IgG FcR⁺ T cells did not show any change, either. The bacteriocidal activity of the neutrophile decreased significantly one week after operation in the patients who did not receive AC-1370, however, decrease in the activity was not observed in the patients receiving AC-1370. These results suggested that AC-1370 have an ability to augment the bacteriocidal effect of the neutrophile.