

【原著・臨床】

化学発光法を用いた肺癌患者多形核白血球の機能評価

大谷津 功

帝京大学医学部内科学講座*

(平成 10 年 7 月 13 日受付 平成 10 年 9 月 8 日受理)

肺癌患者の易感染性、感染難治化の要因を調べる目的で、同患者多形核白血球 (PMN) の活性酸素産生能を非オプソニン化 zymosan や緑膿菌を刺激物としたルミノール依存性 chemiluminescence (CL) 法を用いて測定した。肺癌患者の zymosan 刺激による単位 PMN あたりの全血 CL や分離 PMN の CL 活性は、健常成人と比較して軽度低下傾向を示した。緑膿菌刺激の全血 CL や単位 PMN あたりの CL 活性では、健常成人と比較して有意な低下が認められた。病期別の zymosan 刺激の全血 CL の比較では、肺癌初期と進行期の患者の間に有意差を認めなかった。また、扁平上皮癌、腺癌、小細胞癌の患者群で比較した場合にも、組織型別による有意差はみられなかった。Zymosan 刺激の全血 CL は、癌化学療法後には PMN 数の減少とともに低下した。Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) は、*in vitro* において健常成人と同様に、癌化学療法の有無にかかわらず肺癌患者の zymosan や緑膿菌の食作用に付随する PMN の CL 反応を増強させた。さらに、癌化学療法を受けた患者に対する G-CSF の投与は、末梢血の PMN 数を増加させ、その活性酸素産生能を *ex vivo* においても増強させた。以上より、G-CSF は肺癌患者の癌化学療法に伴い減少した PMN の数を増加させるだけでなく、その低下した活性酸素産生能を増強する働きをするので細菌感染症に対する免疫補助療法として有用である。

Key words: lung cancer, polymorphonuclear leukocytes, chemiluminescence, G-CSF

肺癌患者は細菌感染症に罹患しやすく、またいったん感染が成立すると難治化あるいは重症化する傾向があり、同患者の死因となることも多い¹⁾。その原因として、肺癌による気道の閉塞と粘膜炎による気道浄化機構の破綻などが考えられるが、肺癌の進行につれて、栄養状態の悪化や細胞性免疫能が低下することも易感染性の要因とされている²⁻⁶⁾。さらに、癌化学療法や放射線療法などの治療に伴う種々の免疫能の低下も感染発症の機会を増加させている⁶⁻⁸⁾。特に、病原微生物が生体内に侵入した際に生体防御の第一線で働く食細胞の数やその機能低下は易感染性の重要な因子と考えられる。肺癌患者の多形核白血球 (PMN) の機能低下に関する報告はいくつかなされているが、必ずしも一定の見解が得られていない⁹⁻¹¹⁾。また、抗癌剤投与後の同患者の PMN 機能の変化や、近年臨床使用が可能となった Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) の投与に伴う PMN 機能の経時的変化についてもまだ十分に検討されたとはいえない¹²⁻¹⁵⁾。そこで、本研究では肺癌患者の PMN 機能を、殺菌能を反映する活性酸素産生能を指標にルミノール依存性 chemiluminescence (CL) 法を用いて検討した。さらに肺癌患者の PMN 機能の癌化学療法に伴う変化や G-CSF の PMN-CL 反応に及ぼす効果を *in vitro* と *ex vivo* で検討した。

I. 材料と方法

1. 対象

対象は、1989 年から 1995 年の期間に帝京大学医学部附属病院第二内科に入院した患者である。全例感染症の合併がない肺癌患者 40 名 (男性 34 名、女性 6 名) で、その内訳は扁平上皮癌 17 名 (stage I 6 名、stage III 2 名、stage IV 9 名)、腺癌 18 名 (stage I 1 名、stage III 4 名、stage IV 13 名)、小細胞癌 5 名 (stage I 0 名、stage III 2 名、stage IV 3 名) であった。患者の年齢分布は 45 歳～86 歳 (平均 64 ± 11 歳) で、その他の基礎疾患としては高血圧や虚血性心疾患などの心臓血管系疾患は有しているものの、肝硬変、慢性腎不全、コントロール不良の糖尿病を合併した患者、免疫抑制剤の投与を受けている患者などは対象から除外した。なお、健常成人 30 名 (男性 20 名、女性 10 名)、年齢 21 歳～35 歳 (平均 29 ± 8 歳) を対照とした。さらに上記のような特別な基礎疾患の合併のない高齢者 18 名 (男性 14 名、女性 4 名)、年齢 65 歳～75 歳 (平均 68 ± 4 歳) についても検討した。肺癌化学療法は当院の肺癌治療プロトコルに従い、原則として非小細胞癌に対しては cisplatin (CDDP) 80 mg/m² day 1 + vindesine (VDS) 3 mg/m² day 1, 8 +

mitomycin-C (MMC) 8 mg/m² day1 投与の regimen で行った。小細胞癌に対しては cisplatin (CDDP) 80 mg/m² day 1+etoposide (VP-16) 100 mg/m² day 1, 3, 5 の投与の regimen で施行した。

2. 材料と方法

1) PMN の分離

PMN は、ヘパリン加 (ヘパリン 10 U/ml) 末梢血を採取し、既報のように Ficoll-Hypaque 法に従い分離し、Dulbecco 改変 minimum essential medium (MEM, 日水, 25 mM HEPES および L-glutamin 0.3 g/含有) に浮遊させ、最終的に 5×10⁵ cells/ml となるように調整した¹⁶⁾。

採血に際しては、患者および健常者ともに検査の意義について説明し同意を得たうえで行った。

2) 菌液の調整

Pseudomonas aeruginosa Nc-5 株を 37℃ で 18 時間培養後、生理食塩水で 2 回洗浄し、細菌数を 1×10⁸ cfu/ml となるように MEM 中に浮遊させた。

3) Chemiluminescence (CL) の測定

i) 全血 CL, 分離 PMN-CL の測定

全血 CL の測定は、全血 0.1 ml を MEM で 10 倍希釈した検体 1 ml に、ルミノール溶液 20 μl (20 μg/ml, 東京化成) を加え、10 分間 37℃ で保温後、非オプソニン化 zymosan 懸濁液 20 μl (25 mg/ml, Sigma Chemical 社), phorbol myristate acetate (PMA) 溶液 5 μl (0.1 mg/ml, Sigma Chemical 社), 細菌浮遊液は菌液 100 μl を刺激物として加えて 20 分間の CL を測定し、その積算値を求めた。単位 PMN (PMN 100 個) あたりの CL 活性は、全血 CL の 20 分間の CL 積算値を試料中の PMN 数で割って求めた。

分離 PMN-CL の測定は、PMN 浮遊液 1 ml (5×10⁵ cells) を試料とし、全血 CL の場合と同様に測定した

ただし、菌を刺激物として用いる場合は菌液 20 μl を使用し、オプソニンとしてヒト AB 型ブール血清 10 μl を実験系に添加した。CL の測定装置は Biolumat LB 9505 (Berthold 社) を使用した。

ii) G-CSF の priming 効果の検討¹⁷⁾

肺癌患者または健常成人より得た PMN 浮遊液に G-CSF (*Escherichia coli* 0111: B4 株由来, キリン三共株式会社) 25 μl (0.1~50 ng) またはコントロールとして同容量の注射用生理食塩水に MEM を加えて総量 1 ml とした検体に、ルミノール 20 μl を添加し 10 分間 37℃ で保温後、非オプソニン化 zymosan 20 μl, PMA 5 μl または緑膿菌浮遊液 20 μl を刺激として 20 分間の CL を測定した。20 分間の CL 積算値を求め、G-CSF で処理した場合の CL 積算値とコントロールの値の比を CL-index とした。

4) 統計処理

Student's t-test を用い、p<0.05 をもって有意差ありとした。

II. 結 果

1. 肺癌患者の全血 CL, PMN-CL

肺癌患者 40 名と健常成人 30 名の末梢血の白血球数と PMN 数には有意差はみられなかった。肺癌患者の zymosan 刺激の単位 PMN あたりの全血 CL 活性は、健常成人と比較して低下傾向を示したが、統計学的に有意差を認めなかった (Table 1)。一方、肺癌患者の緑膿菌刺激時の全血 CL や単位 PMN あたりの全血 CL 活性は、健常成人に比較して有意に低下していた (Table 1)。加齢による CL 活性の変化を調べるために高齢者 18 名 (平均 68 歳) の緑膿菌刺激による全血 CL 活性や単位 PMN あたりの CL 活性を測定したが、それぞれ 3.40±2.12 (×10⁴ counts) と 10.80±7.16 counts であり、健常成人と比較して有意差を認めなかった。分離

Table 1 Number of white blood cells and polymorphonuclear leukocytes (PMN) and CL values of whole blood in healthy adults and patients with lung cancer

	Healthy adults (n=30)	Lung cancer (n=40)	t-test
WBC (×10 ³ /mm ³)	6.25±1.73	5.77±1.13	NS
PMN (×10 ³ /mm ³)	3.50±1.20	3.61±0.89	NS
Zymosan-induced CL			
Integrated CL (×10 ⁴ counts)	4.58±2.06	4.58±2.11	NS
CL/PMN (counts)	14.12±6.69	12.69±4.99	NS
<i>P. aeruginosa</i> -induced CL			
Integrated CL (×10 ⁴ counts)	3.38±1.90	2.42±1.50	P<0.05
CL/PMN (counts)	11.01±6.09	7.23±4.59	P<0.05

Data are shown as mean±SD. CL per PMN was determined as described in the text.

した PMN の CL 活性についてみると、zymosan 刺激後の CL 活性は肺癌患者群 $1.83 \pm 1.13 (\times 10^5 \text{ counts})$ に対し健常成人 $2.03 \pm 0.89 (\times 10^5 \text{ counts})$ で、平均値では肺癌患者の PMN-CL は軽度低下傾向を示したが有意差はみられなかった (Fig. 1)。また、zymosan 刺激の分離 PMN-CL においても、高齢者の CL 活性は $1.98 \pm 0.83 (\times 10^5 \text{ counts})$ であり、健常成人との間に有意差を認めなかった。扁平上皮癌 (17 名)、腺癌 (18 名)、小細胞癌 (5 名) の患者群で、zymosan 刺激の全血 CL 活性を比較した場合にも、それぞれ $4.47 \pm 1.67 (\times 10^4 \text{ counts})$, $4.69 \pm 2.26 (\times 10^4 \text{ counts})$, $4.55 \pm 3.25 (\times 10^4 \text{ counts})$ であり、単位 PMN あたりの CL でも $11.7 \pm 4.1 \text{ counts}$, $12.9 \pm 5.1 \text{ counts}$, $15.3 \pm 7.4 \text{ counts}$ であり、癌の組織型別による CL 活性に差を認めなかった。病期別の比較でも、stage I, stage III, stage IV の全血 CL 活性はそれぞれ $4.70 \pm 1.75 (\times 10^4 \text{ counts})$, $3.85 \pm 1.64 (\times 10^4 \text{ counts})$, $4.78 \pm 2.34 (\times 10^4 \text{ counts})$ であり、単位 PMN あたりの CL でも $12.2 \pm 4.7 \text{ counts}$, $11.5 \pm 3.5 \text{ counts}$, $13.2 \pm 5.5 \text{ counts}$ で CL 活性に有意差を認めなかった。また、各群間の症例は少ないが肺癌の同じ組織型で病期別に検討した場合や、病期が同じで組織別に CL 活性を比較した場合にも同様の成績が得られた。

2. 癌化学療法に伴う全血 CL の変化

癌化学療法後の肺癌患者 12 名の末梢血 PMN 数の変

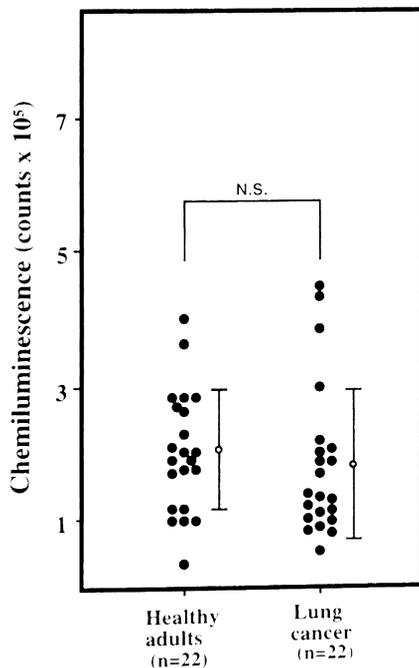


Fig. 1. CL values of polymorphonuclear leukocytes (PMN) in patients with lung cancer after stimulation with non-opsonized zymosan, and compared with those in healthy adults. Data are shown as 20-min integrated CL counts with means and SDs.

動をみると、治療直後には一過性の PMN 数の増加がみられ、その後徐々に減少し、治療後約 2~3 週間の間は、PMN 数 $500/\text{mm}^3$ 以下の状態が続いた後に徐々に増加した (Fig. 2)。同患者の 12 名の zymosan 刺激の全血 CL の変動をモニターすると、癌化学療法後の 2~3 週間の間は健常人の正常範囲以下の値を示し、その後徐々に増加がみられた (Fig. 3)。単位 PMN あたりの CL 活性をみると PMN 減少の nadir に至る 1 週間前から nadir にかけての時期の CL 活性がもっとも低かった。しかし、recovery が始まる時期の CL 活性は一般に治療前値まで回復することが多かった。一般に、癌化学療法後の全血 CL の変動は、PMN 数の変動とはほぼ平行してみられるが、必ずしも PMN 数の変動と一致しない症例もみられたので以下に示す。

症例 1: 72 歳、男性。肺小細胞癌 (stage IV)

癌化学療法後の、白血球数、PMN 数および zymosan 刺激の全血 CL 活性の経過を示した (Fig. 4)。抗癌剤療法後には、白血球数減少 (PMN 数減少) に伴い、全血 CL 活性もほぼ平行して低下がみられた。その後、PMN 数の回復は第 20 病日頃よりみられたが、全血 CL 活性の低下は持続したままであった。第 20 病日における患者の血清総蛋白量は 4.6 g/dl (アルブミン量 2.2 g/dl)、全血 CL 活性は $2.10 (\times 10^5 \text{ counts})$ 、単

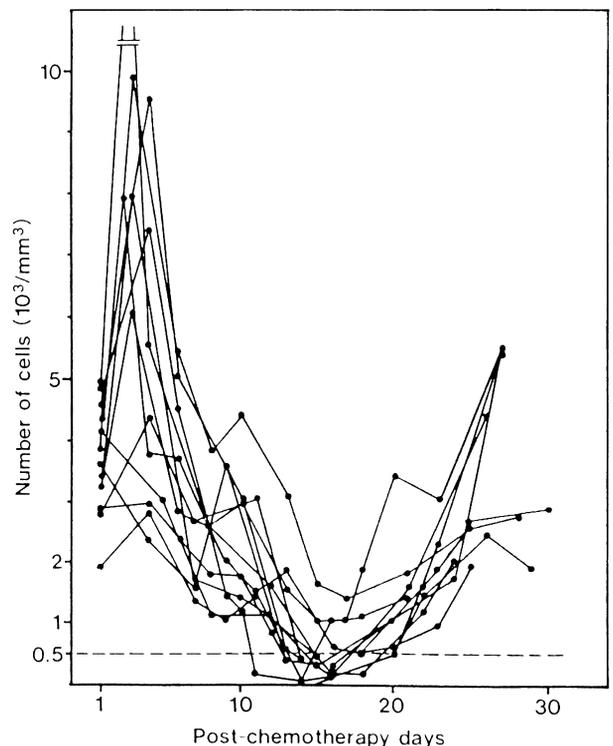


Fig. 2. Time course for the number of polymorphonuclear leukocytes (PMN) of peripheral blood in 12 patients with lung cancer during cancer chemotherapy. Each patient was treated with anticancer drugs from day 1 according to the protocol.

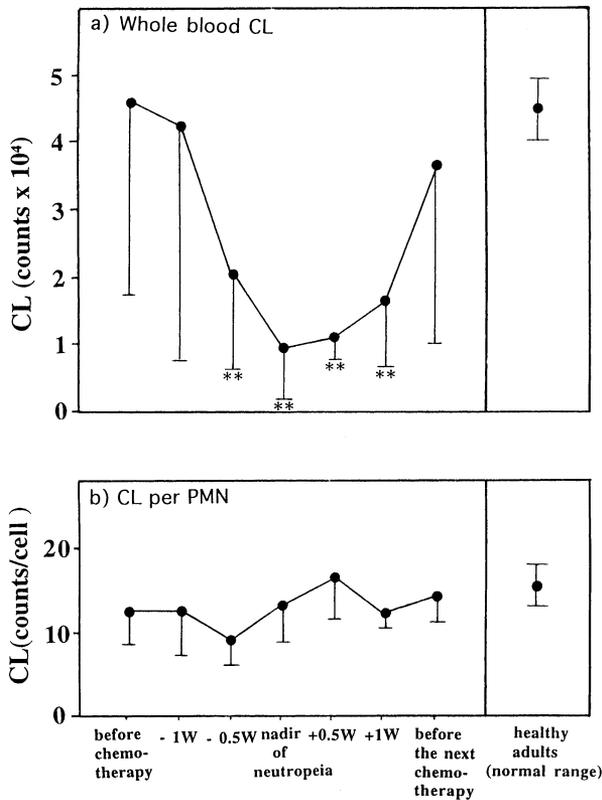


Fig. 3. Daily change in CL values of whole blood and CL per PMN, induced by non-opsionized zymosan in 12 patients with lung cancer. Each patient was treated with anticancer drugs from day 1 according to the protocol. Data are shown as mean values. Significant differences (** $p < 0.01$) between CL values in the patients and in healthy adults ($n = 30$).

位 PMN あたりの CL 活性でも 7.42 counts と低下し、ピークに至る時間も 35.2 分 (正常値: 19.8 ± 2.5 分) と延長していた。この症例は、第 25 病日より重症の緑膿菌肺炎を併発し死亡したが、PMN の数だけでなく、その機能を含めた全血 CL 活性で患者の感染防御能を評価する方が、より患者の易感染状態を反映していた。

3. G-CSF の PMN-CL に対する *in vitro* の priming 効果

健康成人の PMN と G-CSF を 37°C で 10 分間接触させることにより、5 ng/ml 以上の G-CSF 濃度で zymosan または緑膿菌刺激後の PMN-CL が有意に高値を示し、30 ng/ml の G-CSF 濃度では、それぞれコントロールに比較して 1.3 倍と 1.9 倍ほど CL 活性は増強した (Fig. 5)。このように G-CSF の PMN-CL に対する *in vitro* の priming 効果は、緑膿菌刺激時の方が著明であった。一方、PMA 刺激ではいずれの濃度においても有意な priming 効果を認めなかった。肺癌患者においても PMN-CL に対する G-CSF の priming 効果は健康人の場合とほぼ同等であったが、緑膿菌刺激時には G-CSF の CL 増強効果は健康人の場合より強かった (Fig. 6)。抗癌剤投与後の PMN 減少時の PMN

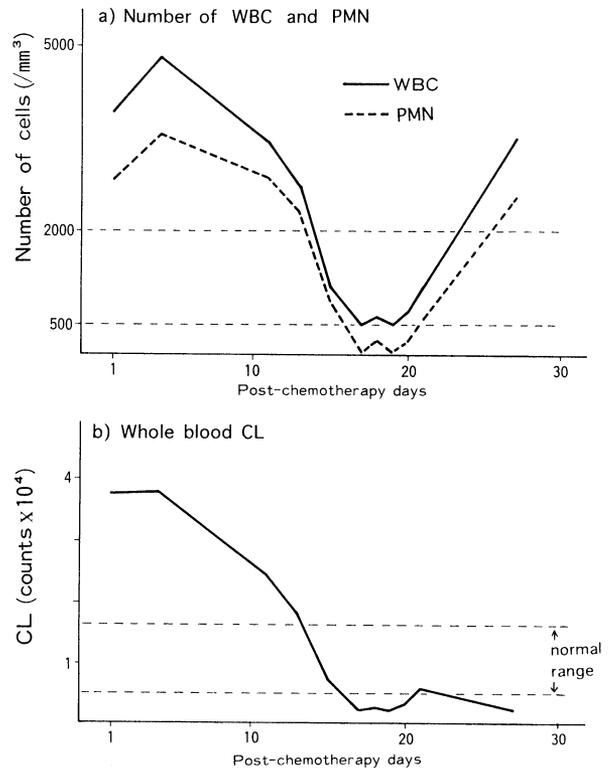


Fig. 4. (Case 1: 72-year-old man) Daily change in the number of white blood cells (WBC), polymorphonuclear leukocytes (PMN), and whole blood CL in a patient with small-cell lung cancer. The patient was treated with anticancer drugs from day 1 according to the protocol.

に対しても、30 ng/ml の G-CSF は PMN-CL 活性を *in vitro* で有意に増強させた (Fig. 7)。

4. G-CSF の PMN に対する *ex vivo* 効果

症例 2: 58 歳, 女性 (Fig. 8)

腺癌 (stage IV) に対して癌化学療法を施行後より白血球数および PMN 数の減少がみられ、第 11 病日には最低値となったため、G-CSF 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ の皮下注で連日投与したところ、速やかな白血球数および PMN 数の増加がみられた。全血 CL 活性も PMN 数の増加とほぼ平行して増強がみられた。単位 PMN あたり CL 活性も、治療前値 16.7 counts から G-CSF 投与翌日には 20.7 counts まで増強した。

症例 3: 84 歳, 男性 (Fig. 9)

扁平上皮癌 (stage I) に対して癌化学療法を施行後より白血球数および PMN 数の減少がみられ、第 14 病日には最低値となったため、G-CSF 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ の皮下注で連日治療したところ、速やかな白血球数および PMN 数の増加がみられ、全血 CL 活性も PMN 数の増加とほぼ平行して増強がみられた。単位 PMN あたりの CL 活性も、治療前値 14.8 counts から、G-CSF 投与翌日には 21.2 counts まで増強した。

III. 考 察

本研究ではルミノール依存性 CL 法を用いて肺癌患

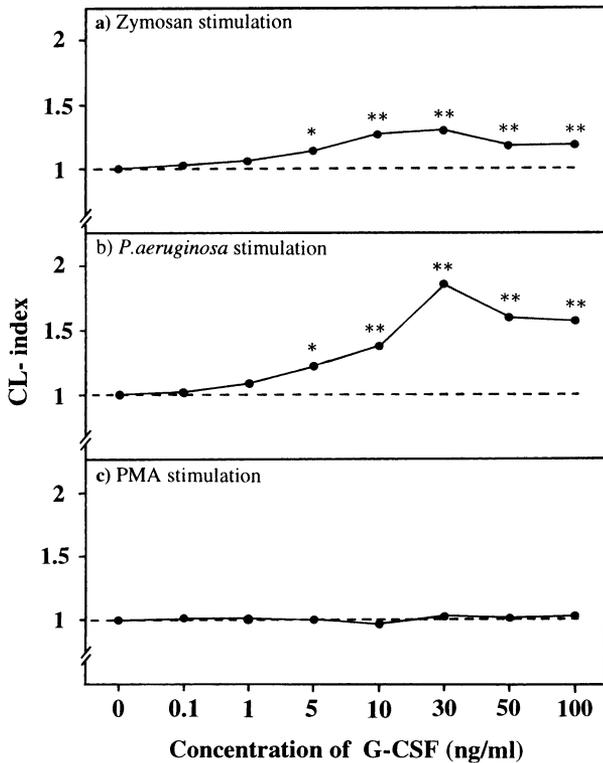


Fig. 5. Priming effect of G-CSF on the CL response of polymorphonuclear leukocytes in healthy adults (n = 20). PMN-CL was measured by stimulation with a) non-opsonized zymosan, b) *Pseudomonas aeruginosa* Nc-5 and c) PMA. The CL indices are determined as described in the text. Data are shown as mean values. Significant difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$) from controls without G-CSF.

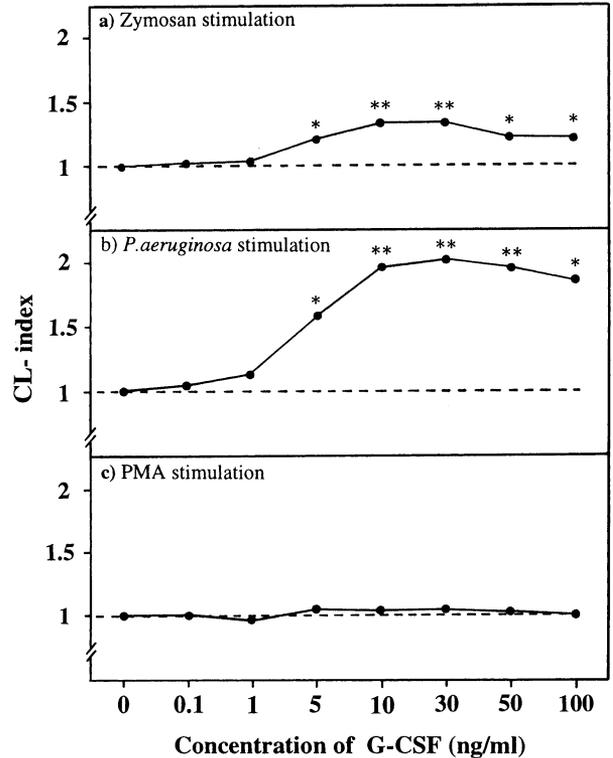


Fig. 6. Priming effect of G-CSF on the CL response of polymorphonuclear leukocytes in patients with lung cancer (n = 20). PMN-CL was measured by stimulation with a) non-opsonized zymosan, b) *Pseudomonas aeruginosa* Nc-5 and c) PMA. The CL indices are determined as described in the text. Data are shown as mean values. Significant difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$) from controls without G-CSF.

者の PMN の活性酸素放出能を評価し、癌化学療法に伴う PMN の活性酸素産生能の変動をごく微量の全血を使用した CL 法を用いてモニタリングした。癌化学療法前の肺癌患者の単位 PMN あたりの全血 CL 活性および分離 PMN の CL 活性は、zymosan 刺激の場合には、健常成人の CL と比較して有意ではないが軽度低下傾向を認めた。しかし、緑膿菌の食作用に付随する全血 CL や単位 PMN あたりの CL 活性は有意に低下していた。このような刺激物の違いや用いる試料が全血か分離 PMN によって結果がやや異なる理由として、刺激物の違いによる食細胞の活性化経路が異なること、さらに全血に含まれるオプソニン因子などの血清成分の関与などが考えられる。しかし、緑膿菌に対する PMN の応答性が低下していることは、肺癌患者の終末期や癌化学療法後に本菌による感染症が多いこと²⁾、あるいは薬剤耐性の問題もあるが本菌による感染症が難治化する傾向があることと患者の PMN の殺菌能の低下と関連があるのかもしれない。この点に関しては、加齢による影響も考慮しなければならないが、今回の検討では高齢者というだけでは CL 活性に及ぼす影響はみられていない。すでに、肺癌患者における PMN

の活性酸素産生能を含む殺菌能は低下しているといういくつかの報告があるが^{8,9)}、正常という報告もあり¹⁰⁾、一定の成績が得られていないのが実状である。この原因は、対象とした患者の違いやチトクロム C 還元法、CL 法など活性酸素測定方法の違いによると思われる。以前より、肺癌の組織型と感染併発率に差がみられることが指摘されており、河野らは、小細胞癌、大細胞癌では、感染併発率が腺癌や扁平上皮癌より高率であると報告している¹⁾。渡辺らの報告では、大細胞癌、小細胞癌で感染の合併がやや高く、扁平上皮癌では感染を繰り返しやすい傾向があるとしている²⁾。今回の検討で、扁平上皮癌、腺癌、小細胞癌の患者群で、zymosan 刺激の全血 CL や単位 PMN あたり CL 活性を比較したが、組織型別による有意差はみられなかった。したがって、それぞれの癌の発生部位の違いによる気道の閉塞障害などの器質的異常が感染症頻度に関与している可能性が高いと思われる。また、臨床病期と感染併発率にかなりの相関がみられることも指摘されており、一般的に肺癌末期の患者では、感染合併率が高率になると報告されている²⁾。今回の病期別の比較では、初期と進行期の患者の全血 CL 活性に有意差

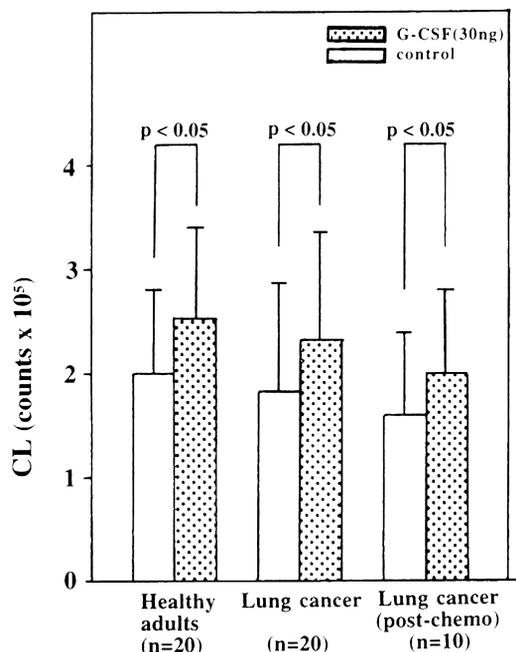


Fig. 7. Priming effect of G-CSF (30ng/ml) on the CL response of polymorphonuclear leukocytes in healthy adults ($n=20$) and lung cancer patients before ($n=20$) or after ($n=10$) anticancer chemotherapy. PMN-CL was measured by stimulation with non-opsonized zymosan. Data are shown as 20-min integrated CL counts (means and SDs). Significant differences ($*p<0.05$) from controls without G-CSF.

を認めなかった。このことより、末期患者の易感染性の要因には、PMNの殺菌能は比較的保たれていることより、気道系の閉塞や細胞性免疫の低下など他の因子が関与しているのかもしれない。さらに、PMNの殺菌能以外の機能低下が存在するかどうかに関しては、今後検討する必要があると思われる。

抗癌剤による、PMN機能低下の報告は、*in vitro*では報告されているが^{56,7,12-14}、*ex vivo*において経過を追って評価した成績は数少ない¹⁵。今回の検討では、癌化学療法に伴う肺癌患者の全血CLをモニターした。全血CL活性は、一般的にPMN数の変動とほぼ一致した動態を示したが、個々のPMNの機能はnadirに至る1週間前に最低値となる症例もあることから、症例ごとのモニターが必要と思われる。また、回復期の単位PMNあたりのCL活性は、数は減少しても治療前値よりも高い場合もあり、その機能は比較的保たれていた。吉田らは、泌尿器悪性腫瘍患者の癌化学療法後に、分離PMNのルミノール依存性CLをモニターしnadirの1週間前からnadirの時期にかけてPMNのCL活性が最低値となることを報告しており¹⁵、今回の微量全血を用いた成績とほぼ一致している。このことは、採血量を多くしてPMNを分離しなくても、少量の全血を用いて短時間に簡便に患者のPMN機能を評価でき

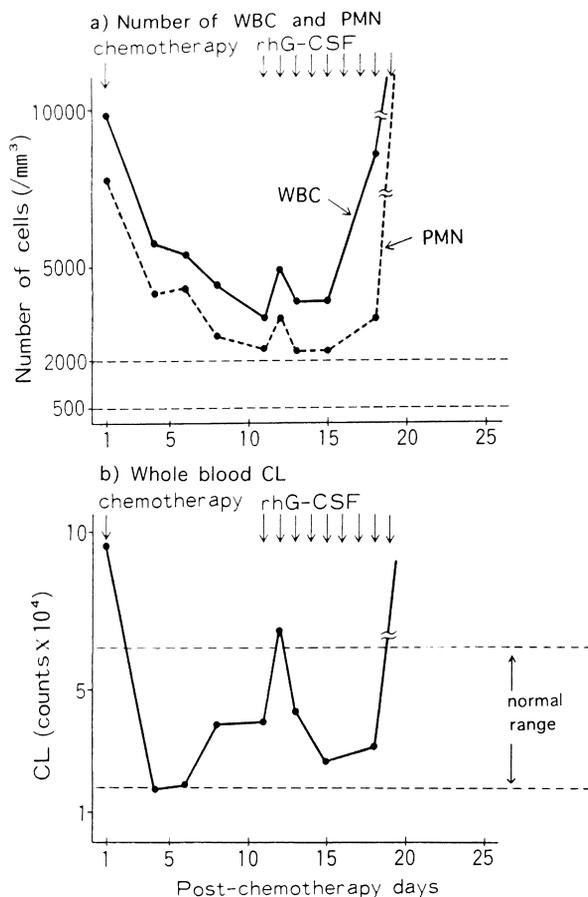


Fig. 8. (Case 2: 58-year-old woman) Daily change in the number of white blood cells (WBC), polymorphonuclear leukocytes (PMN), and whole blood CL in a patient with adenocarcinoma. The patient was treated with anticancer drugs from day 1, and treated with G-CSF from day 11 to day 19 according to the protocol.

る全血法の利点があると思われる。全血法の利点は、血清オプソニン活性も同時に評価できる点にもある^{16,18}。今回、1例ではあるが肺癌化学療法後に、全血CLのピーク時間の延長がみられ、PMN数が回復しても全血CLの回復がみられず、緑膿菌による肺炎を合併して死亡した症例を提示したが、この症例は著しい低蛋白血症を有し、低栄養状態にあった。同患者は感染を引き起こしても全血CLの増強がみられず低栄養がその一因と考えられた。栄養欠乏と感染、免疫能低下の関連性についてはChandraらにより指摘されており¹⁹、島田らは敗血症例の予後と血清総蛋白、アルブミン値が相関することを指摘している²⁰。また、肺癌患者の低栄養と易感染性についてもいくつかの報告がみられ、同様に血清アルブミン値の低下と呼吸器感染症の予後との相関が報告されている^{4,5}。今までの検討で低蛋白血症を有する患者の食作用に付随する全血CL活性は低下し、ピーク時間が延長することが示されているが、これは血清オプソニン活性の低下に関連するものとさ

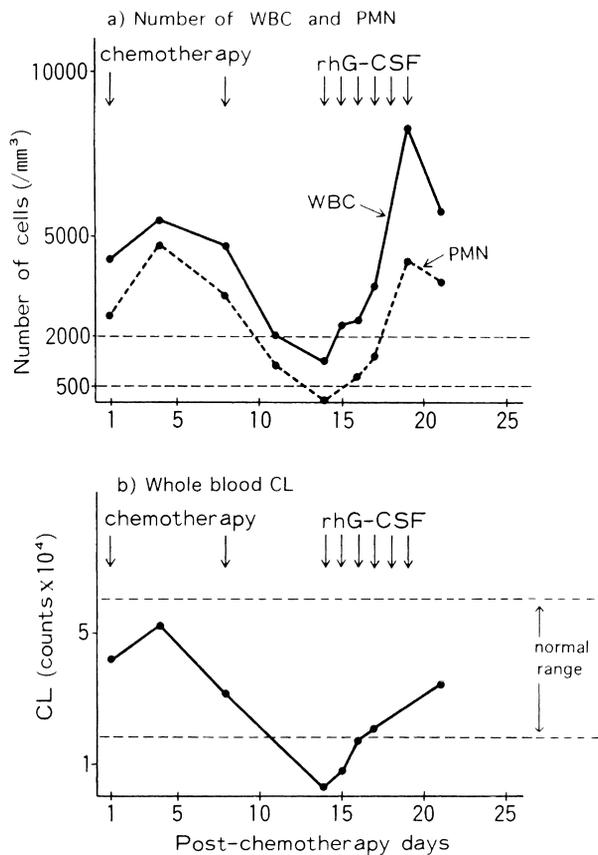


Fig. 9. (Case 3: 84-year-old man) Daily change in the number of white blood cells (WBC), polymorphonuclear leukocytes (PMN), and whole blood CL in a patient with squamous-cell carcinoma.

The patient was treated with anticancer drugs from day 1, and treated with G-CSF from day 14 to day 19 according to the protocol.

れている¹⁶⁾。

近年、癌化学療法に伴う PMN の減少に対して G-CSF が使用可能となった。G-CSF は顆粒球系の造血に特異的に作用する造血因子で、その前駆細胞の増殖と分化を促進し、同時に成熟 PMN の種々の機能を亢進させる作用がある²¹⁻²⁶⁾。今回、*in vitro* と *ex vivo* で G-CSF の PMN-CL 反応に及ぼす priming 効果について検討した。G-CSF は成熟 PMN の種々の機能に影響を及ぼすことが知られているが、PMN の粘着能、走化能、貪食能、活性酸素放出能、殺菌能に対する活性化作用が認められている²⁰⁻²⁶⁾。肺癌患者の PMN に対する G-CSF の priming 効果に関しては以前報告したように健康成人とほぼ同様の CL の増強効果を認めており¹⁷⁾、今回はさらに癌化学療法後の PMN 数が減少している時期の患者 PMN に対する G-CSF の priming 効果を検討した。その結果、CL 活性が低下した時期の患者 PMN に対しても G-CSF は有意な CL 増強効果を示した。*ex vivo* においても、投与後には速やかな PMN 数の増加と CL 活性の回復が認められた。異物の貪食に際して、zymosan 刺激の場合と比較して、緑膿

菌の食作用に付随する CL 活性の増強が強くみられることは、本菌による感染症が肺癌患者で臨床問題となること、また患者の緑膿菌に対する CL 活性が低下していることを考え合わせると G-CSF の使用は有用であると思われる。さらに、G-CSF は肺癌患者の抗癌剤投与後に *ex vivo* においても PMN の活性化をおこすことは、PMN の数を増やすだけでなく、その機能の賦活が生体内でも期待できる点で、細菌の除菌には有効に働くものと思われる。

最近、G-CSF 投与後に一部の患者で急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) の発症が問題となっている²⁷⁾。これは PMN の肺への集積と活性酸素をはじめとする toxic substance の放出など、その機能の過剰な活性化が関与しているものと推測されている。CL 法を用いた PMN 機能検査は、このような PMN の有害作用のモニタリングにも役立つものと思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御助言、御校閲を賜りました帝京大学内科主任教授 山中正己教授、ならびに、佐藤友英教授、国井乙彦前教授、直接御指導頂きました同内科 斧 康雄講師、感染化療研究室の皆様 に深謝いたします。

文 献

- 1) Kohno S, Koga H, Oka M, et al.: The pattern of respiratory infection in patients with lung cancer. *Tohoku J. Exp. Med.* 173: 405~411, 1994
- 2) 渡辺 彰, 中井祐之, 斎藤純一, 他: 肺癌患者に合併する呼吸器感染症の臨床的意義。日胸疾会誌 30: 1250~1256, 1992
- 3) 岩橋徳明, 中野孝司, 相原信之, 他: 原発性肺癌化学療法施行患者に併発した呼吸器感染症の検討。日胸 53: 214~219, 1994
- 4) 森 啓, 古西 満, 澤木政好, 他: 肺癌に合併した呼吸器感染症の予後別病態解析。感染症学雑誌 71: 34~38, 1997
- 5) 森 啓, 古西 満, 澤木政好, 他: 肺癌患者に合併した敗血症の予後別病態解析。感染症学雑誌 71: 501~506, 1997
- 6) 大泉耕太郎: 抗癌剤による免疫不全と化学療法。化学療法の領域 9: 128~132, 1993
- 7) 峯下昌道, 宮澤輝臣, 上井正男, 他: 好中球機能に与える肺癌化学療法の影響。呼吸 12: 116~118, 1993
- 8) 滝下佳寛: 宿主抵抗力低下時にみられる感染症での背景因子の検討。四国医誌 38: 228~240, 1982
- 9) Hara N, Ichinose Y, Asoh H, et al.: Superoxide anion-generating activity of polymorphonuclear leukocytes and monocytes in patients with lung cancer. *Cancer* 69: 1682~1687, 1992
- 10) 朝長昭光: 肺癌患者における好中球 Superoxide 産生能一とくに化学療法、放射線療法の影響について。肺癌 26: 245~258, 1986
- 11) Ichinose Y, Yagawa K, Kaku M, et al.: Superoxide anion generation by polymorphonuclear leukocytes enhanced in a patient with colony-stimulating activity-producing lung cancer. *Eur J*

- Cancer Clin Oncol. 21: 181~184, 1985
- 12) Ichinose Y, Hara N, Motohiro A, et al.: Influence of chemotherapy on superoxide anion-generating activity of polymorphonuclear leukocytes in patients with lung cancer. *Cancer* 58: 1663~1667, 1986
 - 13) Timoshenko A V, Kayser K, Drings P et al.: Modulation of lectin-triggered superoxide release from neutrophils of tumor patients with and without chemotherapy. *Anticancer Reseach* 13: 1789~1792, 1993
 - 14) Vecchiarelli A, Dottorini M, Beccari T, et al.: Inhibition of candidacidal activity of polymorphonuclear cells by alveolar macrophage-derived factor from lung cancer patients. *Am Rev Respir Dis* 147: 414~419, 1993
 - 15) 吉田雅彦, 柳沢良三, 石田仁男, 他: 癌化学療法時の好中球活性酸素産生能の経日的変化。感染症学雑誌 67: 30~35, 1993
 - 16) Ono Y, Kunii O, Kobayashi K, et al: Evaluation opsonophagocytic dysfunction in burned patients. *Microbiol Immunol* 37: 563 ~571, 1993
 - 17) Ohyatsu I, Ono Y, Aoki M, et al: Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on the chemiluminescence response of human polymorphonuclear leukocytes. *Chemotherapy* 41: 540~546, 1993
 - 18) Ono Y, Kunii O, Suzuki H, et al.: Opsonic activity of sera and blister fluid from severely burned patients evaluated by a chemiluminescence method. *Microbiol Immunol* 38: 373~377, 1994
 - 19) Chandra R K: Nutrition is an important determinant of immunity in old age. *Prog Clin Biol Res* 326: 321~334, 1990
 - 20) 島田 馨: 高齢者の敗血症。日内会誌 66: 1388 ~ 1393, 1977
 - 21) Sullivan R, Griffin J D, Simons E R, et al.: Effects of recombinant human granulocyte and macrophage colony-stimulating factors on signal transduction pathways in human granulocytes. *The Journal of Immunology* 139: 3422~3430, 1987
 - 22) Kitagawa S, Yuo A, Souza L M, et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor enhances superoxide release in human granulocytes stimulated by the chemotactic peptide. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 144: 1143 ~1146, 1987
 - 23) Yuo A, Kitagawa S, Ohsaka A, et al.: Stimulation and priming of human neutrophils by granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Qualitative and quantitative differences. *Biophys Res Commun* 171: 491~497, 1990
 - 24) Steinbeck M J, Roth J A: Neutrophil activation by recombinant cytokines. *Rev Infect Dis* 11: 549~568, 1989
 - 25) Yuo A, Kitagawa S, Okabe T, et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor repairs the abnormalities of neutrophils in patients with myelodysplastic syndromes and chronic myelogenous leukemia. *Blood* 70: 404~411, 1987
 - 26) Ohsaka A, Kitagawa S, Sakamoto S et al.: In vivo activation of human neutrophil functions by administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with malignant lymphoma. *Blood* 74: 2743~2748, 1989
 - 27) 酒井 力, 中世古知昭, 高木敏之: 白血球減少期に感染症を合併し, G-CSF による白血球減少症回復時に急性呼吸不全を来たした 3 例。感染症学雑誌 71: 1080~1084, 1997

Evaluation of polymorphonuclear leukocyte function in patients with lung cancer, using a chemiluminescence method

Isao Ohyatsu

Department of Internal Medicine, Teikyo University School of Medicine, Kaga 2-11-1,
Itabashi-ku, Tokyo 173-8606, Japan

To evaluate the cause of the vulnerability to infections in the patients with lung cancer, the ability of polymorphonuclear leukocytes (PMN) to generate reactive oxygen species (ROS) in the patients was assessed by a luminol-dependent chemiluminescence (CL) assay after stimulation with non-opsonized zymosan, *Pseudomonas aeruginosa*. CL values of whole blood and isolated PMN from patients induced by zymosan tended to be lower than that in normal controls. CL values of whole blood and CL per PMN from the patients also exhibited significantly lower CL responses to the stimulation of *P. aeruginosa* as compared with those of normal controls. There were no significant difference in zymosan-induced CL values of whole blood correlated with type of cancer histology or stage of cancer. After anticancer chemotherapy, CL values of whole blood gradually declined as granulocytopenia progressed. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) enhanced the CL response of PMN *in vitro* during phagocytosis of zymosan or *P. aeruginosa* in healthy adults and in lung cancer patients both before and after anticancer chemotherapy. G-CSF administration to patients treated with chemotherapy increased the PMN count in peripheral blood and enhanced their ROS generation in *ex vivo* studies. These results suggest that the administration of G-CSF to lung cancer patients may provide immuno-supportive therapy against bacterial infection serving to improve granulocytopenia and to enhance the usually reduced ROS production of PMN following anticancer chemotherapy.