The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	非ホジキンリンパ腫患者の細胞性免疫能に対する放射線治療の影響と回復
Author(s)	窪田, 宣夫; 朝倉, 浩一; 大竹, 英二 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1979, 39(6), p. 645-652
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19135
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

非ホジキンリンパ腫患者の細胞性免疫能に対する放射線治療の影響と回復

横浜市立大学医学部放射線医学教室
窪田 宜夫 朝倉 浩一 大竹 英二
小野 慈 松井 謙吾

(昭和53年12月5日受付)
(昭和54年1月24日最終原稿受付)

Radiation Effect and its Recovery on Cellular Immunity in Patients with Non-Hodgkin Lymphoma

Nobuo Kubota, Koichi Asakura, Eiji Ohtake, Yoshimi Ono and Kengo Matsui
Department of Radiology, School of Medicine, Yokohama City University

Research Code No.: *405*
Key Words: *Lymphocytic transformation, PHA, Con A, Radiotherapy, Non-Hodgkin lymphoma*

Cellular immunity of patients with non-Hodgkin lymphoma was studied by observing lymphocytic transformation induced by phytohemagglutinin and Concanavalin A using in vitro technique. Lymphocytic responses before, during and after radiation therapy and recovery of lymphocytic transformation were studied using patients who have no signs of recurrence of tumor after radiation therapy.

The results were as follows:

1. Lymphocytic responses were significantly lower in the untreated non-Hodgkin lymphoma patients compared with normal volunteers.
2. Lymphocytic response to PHA decreased markedly during radiation therapy.
3. Even in the patients in remission for 2 years or more, lymphocytic responses were still observed to be lower than normal volunteers.
4. There are no significant difference in lymphocytic response to PHA or Con A between patients in remission who had received small field and large field radiotherapy.

I. はじめに

担癌生体は，多くの実験腫瘍と人癌の免疫学的研究により，今日では，自己の悪性腫瘍に対して，抗腫瘍免疫応答することが知られるようになった[1]．そのため，悪性腫瘍の放射線治療，化学療法では，すべての腫瘍細胞を死滅させることは必要でなく，むしろ，宿主における抗腫瘍性免疫機能が腫瘍細胞を排除可能なレベルまで，腫瘍細胞数を減少させることが大切であると考えられる[2]．

一方，悪性腫瘍患者では，リンパ球数の減少，免疫機能の低下が一般に観察されている[3]．そのため，悪性腫瘍の放射線治療では，宿主の抗腫瘍免疫能力をできるだけ保存することが重要である[4]．また，放射線治療によるTリンパ球の障害からの細胞性免疫応答の低下とともに，治療終了後の免疫機能の回復の欠如により，腫瘍の再発，遠隔転移がひき起こされる可能性があると考えられる．そのため，放射線治療終了後，病態のコントロールされている患者の免疫能力を知ることは，追跡管理，並びに予後と関連して重要な課題と考えられる．

悪性リンパ腫は，免疫監視機構の主な担い手であるリンパ組織の腫瘍であり，腫瘍免疫学的に興味のある対象であるが，悪性リンパ腫患者の免疫能は，一般に著明な低下が報告されている[5)~3)]．しかし，悪性リンパ腫における免疫能，及び放射線治療の免疫能に対する影響については，主としてホジキン病で多くの研究が行なわれており，細網肉腫，リンパ肉腫などのいわゆる非ホジキンリンパ腫についての報告は少く[9]，特に，放射線治療終了後の非ホジキンリンパ腫患者の免疫能の回復動態についての報告はみられない．

我々は，細胞性免疫能の検索法の一つであるmitogenによるTリンパ球の in vitro での幼若化反応を指標として，放射線治療が非ホジキンリンパ腫患者の免疫能に及ぼす影響と回復，さらに放射線治療により病態のコントロールされている患者の免疫能について検討したので報告する．

II. 研究対象と方法

1. 症例

mitogenによる末梢血リンパ球幼若化反応を測定した症例は，当放射線科を受診した非ホジキンリンパ腫46例で，治療開始前に測定を行った症例は19例であった．組織分類では細網肉腫26例，リンパ肉腫8例，分類不能リンパ腫12例であり，stage別ではI期16例，II期12例，III期15例，IV期3例であった．放射線治療は ^{60}Co 遠隔照射装置と Linac 10MV X線を使用し，原則としてstage Iは局所の照射を行い，stage II，IIIと進行した症例には，マントル，逆Y照射等を行った．線量は single dose 150rad で total 3,000～5,000rad である．stage III，IVでは化学療法も併用している．

Phytohemagglutinin (PHA-M, Difco) のリンパ球幼若化の測定は，一部の症例では放射線治療前後で行い，また，以前に放射線治療を受けて，その後に病態のコントロールされている他のリンパ腫患者で PHA と Concanavalin A (Con A, Sigma) によるリンパ球反応を測定し，放射線治療のリンパ球に対する影響と回復を調べた．

2. mitogenによるリンパ球幼若化の測定

末梢血リンパ球は辻[10]の方法に従い，10～20 ml．ヘパリン採血後，Conray-Ficoll にて分離し Hanks solution で2回洗った後，ペニシリンとストレプトマイシンをそれぞれ100単位/ml．と100 μg/ml．加えた培養液 RPMI 1640に Fetal Calf Serum を20%加えて細胞浮遊液とした．細胞数は血球計算盤で算定し，最終的に5×10^5/0.5ml．とした．添加した PHA -M と Con A の量は，それぞれ125μg と6.25μg であり，この量はすでに報告したように，健常人で最も高い反応値を示す[11]．

培養はポリスチレン製チューブ (Falcon, 2037) を使用し，72時間炭酸ガス培養器 (5% CO_2, 95% air) で行った．培養終了後2時間前に ^{3}H-TdR 0.6μCi/0.1ml．を添加し，培養終了後に各チューブごとに0.9% NaCl を5ml．加え，冷却遠心器で10分間遠心した．上清を除去し，冷5% TCA を1.5ml．加え，吸引濾過法でグラスファイバー濾紙 (GF/C, Whatman) 上に冷5% TCA 沈澱画分をトラップした．濾紙はシンチレーターを含むバイアルに入れ，液体シンチレーションカウンター (Packard 3390型) で ^{3}H の放射能を測定した．

III. 結　果

1. 非ホジキンリンパ腫患者のリンパ球幼若化

非ホジキンリンパ腫患者の末梢血リンパ球の PHA, Con A による幼若化反応について調べた．幼若化能は mitogen 添加培養の ^{3}H-TdR の取

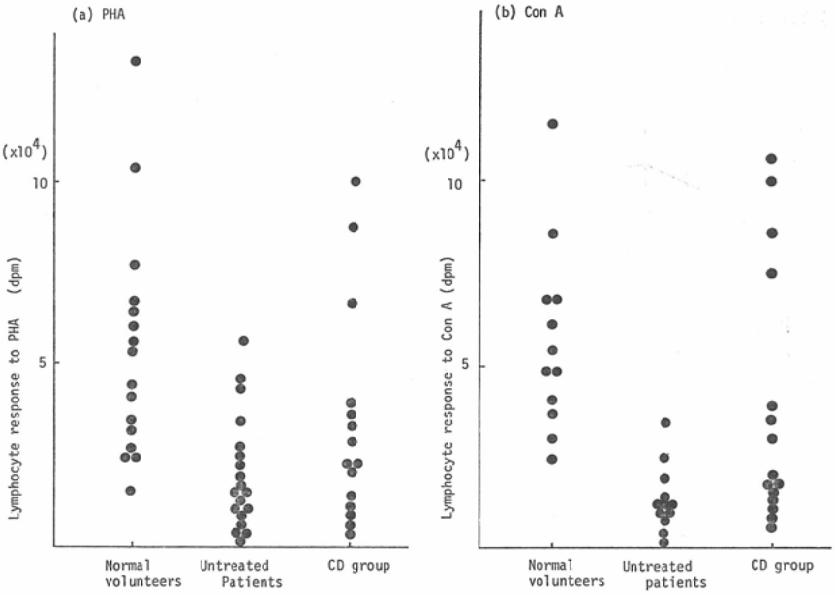

Fig. 1. Lymphocyte transformation to PHA and Con A in normal volunteers, untreated non-Hodgkin patients and controlled patients (CD group). CD group dose mean of no symptom or disease over 2 years.

り込みによる ^{3}H の壊変数 disintegration per minute (dpm) で表示した．治療前の患者19人のリンパ球反応は，PHA は平均19,400dpm，Con A は13,300dpm であった．一方，健常人16人では PHA は53,300dpm，Con A は57,200dpm であった．両 mitogen ともに非ホジキンリンパ腫患者では，健常人と比較して明らかな低下を示した (Fig. 1)．

2．白血球数，リンパ球数，リンパ球幼若化反応に対する放射線治療の影響

非ホジキンリンパ腫患者の放射線治療前後，及び治療終了後約2カ月目の末梢血白血球数とリンパ球数を調べた (Fig. 2)．放射線治療により，白血球とリンパ球はともに減少したが，リンパ球の減少は顕著であり，治療前と比べると，その減少率は治療中間時点で白血球は28%，リンパ球は63%であり，治療終了時では，それぞれ9%と65%，また治療終了後2カ月では15%と56%であった．

リンパ球の mitogen による幼若化反応については，放射線治療開始前に PHA によるリンパ球反応が10^4dpm 以上の値を示した6人の患者で，放射線治療前後で測定を行った．PHA 反応は，放射線治療開始前の反応値を100%とした．PHA によるリンパ球幼若化反応は，全例とも顕著に低下し，その減少の割合は治療開始前の60～90%であり，一例を除いては，治療終了後1～3カ月経過しても，治療前の50%以上には回復しなかった (Fig. 3)．

3．リンパ球数，リンパ球幼若化反応の放射線治療後の回復

非ホジキンリンパ腫患者で放射線治療終了後，再発のみられない患者のリンパ球数，リンパ球幼若化を測定し，治療終了後1カ月未満，1～6カ月，6カ月～1年，1～2年，2～5年，5年以上の経過期間ごとにグループ分けして観察を行った．Fig. 4はリンパ球数，Fig. 5はリンパ球幼若化反応を示す．リンパ球数は6カ月までには，平均1,000/mm^3 を越えるが，全期間を通じて，やや減少していることがうかがえる．mitogen によるリンパ球反応は PHA，Con A ともに同様な傾向を示し，放射線治療終了後の経過期間が長くな

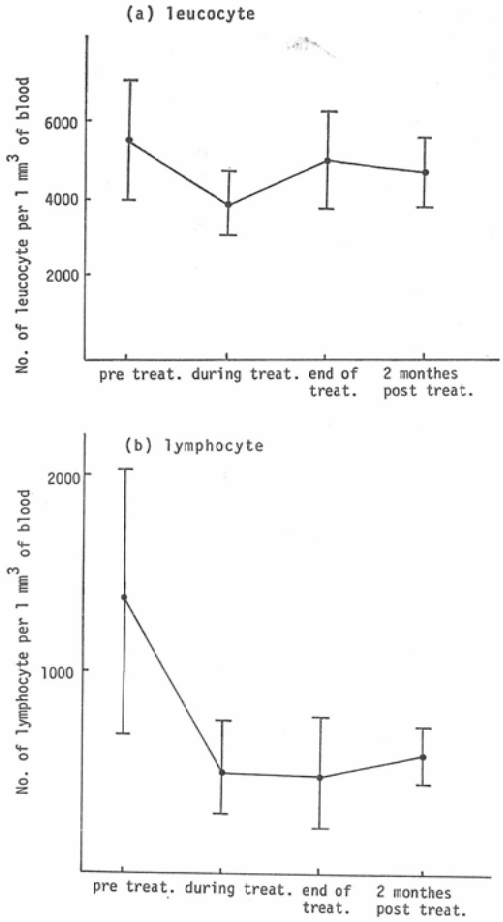

Fig. 2 Blood leucocyte and lymphocyte counts before, during and after the radiation therapy. Each point represents the mean±SD of 9 patients.

るにしたがって，リンパ球反応が回復する症例が増加する傾向がみられた．しかし，治療終了後，かなりの経過期間がすぎたにもかかわらず，リンパ球反応が低値を示す症例もみられた．なお，open circle は化学療法を併用した症例である．

そこで，次に，放射線治療終了後，2年以上再発のない病態のコントロールされている患者を controlled group（以下 CD グループと略）として，このグループのリンパ球幼若化反応を volunteer の健常人，及び治療前の非ホジキンリンパ腫患者と比較した（Fig. 1, Table 1）．リンパ球反応は，健常人の平均値±1SD に含まれるものを

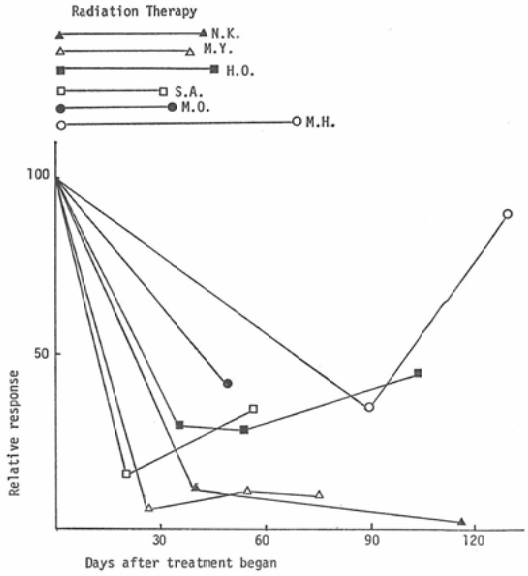

Fig. 3 Effect of radiation therapy on the responses of lymphocytes cultcred with PHA.

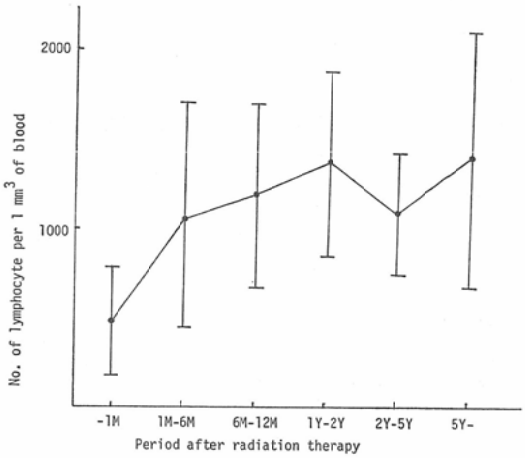

Fig. 4 Sequential lymphocyte counts after the radiation therapy. Each point represents the mean±SD of 5–8 patients.

Normal，それ以上を High，それ以下を Low と分類し，χ^2 検定を行った．

CD グループの PHA, Con A によるリンパ球幼若化反応は，治療前の患者と比べて有意差はないが増加の傾向を示していたが，一方，健常人に比べては，両方の mitogen ともに有意な低下を

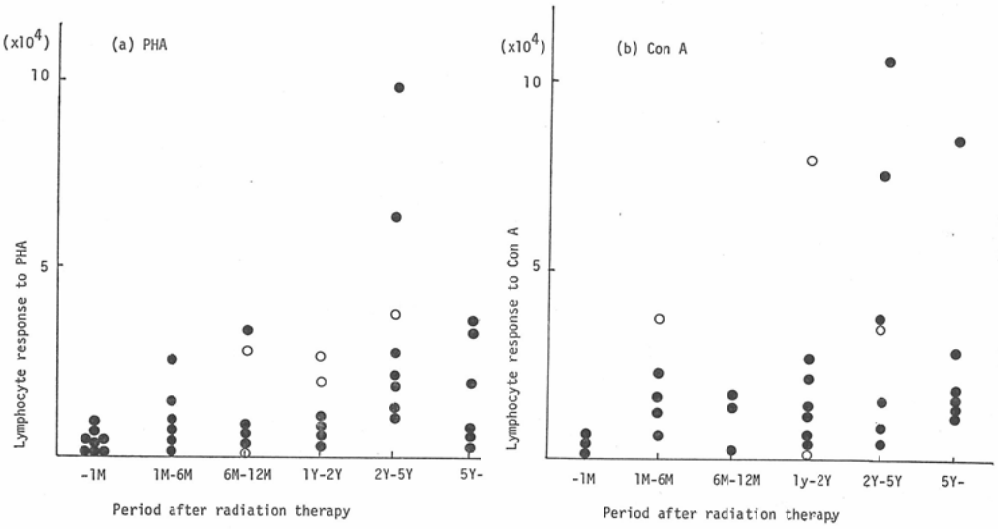

Fig. 5 Sequential lymphocyte reactivities to PHA and Con A after the radiation therapy. Open circle indicates the patient who had received chemotherapy with radiotherapy.

Table 1 Comparison of lymphocyte reactivity among the untreated patients, CD group and normal volunteers.

		No. of patients	low	Normal	High	Distribution differ from normal volunteers*
(a) PHA	Normal volunteers	16	1	13	2	
	Uutreated patients with lymphoma	19	13	6	0	$p<0.01$
	CD group patients	15	7	6	2	$p<0.05$
(b) Con A	Normal volunteers	12	2	8	2	
	Untreatedpatients with lymphoma	12	11	1	0	$p<0.01$
	CD group patients	15	9	3	3	$p<0.05$

* Chi-square analysis
Difference between untreated patients and CD group was not significant for both mitogens.

示した．

このCDグループのリンパ球反応の低下の原因について検討するために，リンパ球反応と照射野の大小，及び放射線治療終了後の経過期間について調べた．照射野は局所照射を小照射野，マントル，逆Yに準じた照射野を大とした．CDグループのリンパ球反応は，Fig. 6に示すように，統計的に照射野の大小による差はみられなかった．一方，放射線治療終了後の経過期間については，2～5年と5年以上に分類した．PHA反応については，治療終了後5年以上の患者群の中に2～5年の患者群に比べ，反応値の低下している患者がみられ，Con A反応については両者に差はみられなかった（Fig. 5）．

IV. 考　察

悪性リンパ腫患者の免疫能については，多くの研究者により調べられているが，ホジキン病が中心であり[5)~8)]，非ホジキンリンパ腫患者の免疫能と放射線治療の関係については，あまり報告されていない．

我々は，非ホジキンリンパ腫患者の免疫能に対する放射線治療の影響と免疫反応の回復，特に，

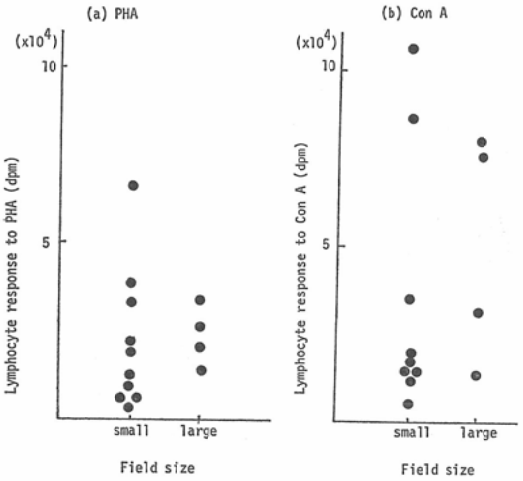

Fig. 6 Lymphocyte responses to PHA and Con A in CD group patients who had received small field and large field radiotherapy. No significant difference in lymphocyte response was fonud between the two groups.

放射線治療によって長期に病態のコントロールされている患者の免疫能についてリンパ球幼若化反応を指標として検討した．PHA による幼若化反応は細胞性免疫能の有用な指標の1つとされているが，Stobo ら[12]はマウスで，PHA と Con A はTリンパ球の異った subset 活性化することを報告している．そこで，我々は mitogen によるリンパ球反応でより有益な細胞性免疫の指標を検討するために，PHA とともに Con A についてもリンパ球反応を調べた．

一般に，悪性リンパ腫においては，循環末梢血中のリンパ球の減少[5]，遅延型皮慮反応の低下[5][6]，リンパ球機能の低下[5)~8)]などの報告がなされている．一方，放射線治療，化学療法はリンパ球に対して障害的に働き，その結果として immunosuppressive な作用を有することが知られている[13][14]．本報においても，治療前の非ホジキンリンパ腫患者の細胞性免疫能を PHA, Con A のリンパ球幼若化反応で調べた結果では，健常人に比べて明らかな低値を示し，更に，放射線治療によって顕著に低下することが示された (Fig. 1, Fig. 3).

梅垣[2]は悪性腫瘍の治癒過程においては，宿主の抗腫瘍免疫能が重要な役割を担っており，放射線，化学療法，手術などによって宿主が排除可能レベルまで腫瘍細胞数を減少させた後に，宿主の免疫能が腫瘍細胞を排除するという考え方を提示している．この考え方によれば，悪性リンパ腫の場合，疾患による免疫能の低下と，放射線治療による免疫抑制からの免疫能の回復が治癒を左右する大きな因子の一つであろうと考えられる．そのため，放射線治療終了後の患者の免疫能の回復動態を知ることは，患者の追跡管理，予後と関連して重要な指標の一つとなろう．

そこで，以前に放射線治療を受け，その後再発のない非ホジキンリンパ腫患者で，リンパ球数，リンパ球幼若化を測定した．リンパ球数は治療終了後1カ月までの平均480/mm³ から6カ月までに平均1,050/mm³ と増加した．しかし，治療終了後2年以上経過している CD グループ患者でさえも，正常レベル (1,500～2,500/mm³) に比べ，やや減少している傾向がうかがわれた (Fig. 4).

放射線治療によるリンパ球の in vitro での幼若化反応の抑制からの回復については，PHA と Con A の両者とも，放射線治療終了後の経過観察期間が増加するにつれて，少しづつ上昇する傾向がみられた．しかし，治療終了後2年以上経過して再発のみられない CD グループの患者においては，治療前のリンパ腫患者に比べては，やや高値を示してはいるものの，健常人のリンパ球反応に比べると，有意な低下を示した (Fig. 5).

悪性リンパ腫の治療終了後，病態のコントロールされている患者の免疫能力については，ホジキン病で報告がいくつかある．Aisenberg[15] は治療終了後2年以上コントロールされている患者では，dinitrochlorobenzene (DNCB) 反応は治療前のレベルに回復していることを示した．Han と Sokal[16] は，1年以上病態のコントロールされている患者では，PHA のリンパ球反応は正常であるが，放射線治療を受けた患者では低下の傾向があると述べている．Levy と Kaplan[7] は，放射

線治療終了後2—8年の患者でも PHA 反応は低下していること，Case ら[17]は，5年以上病態のコントロールされている患者で，リンパ球数とTリンパ球とBリンパ球の比率は正常であるが，PHA リンパ球反応は正常人に比較して低下していることを見い出し，それぞれ，ホジキン病患者での長期寛解例のリンパ球幼若化反応の低下は，放射線治療によるリンパ球障害が長期間にわたり，リンパ球機能に影響していることが考えられるとしている．悪性リンパ腫以外でも，Tarpley ら[18]は，喉頭・咽頭癌で，手術によって治癒した患者に比べ，放射線で治癒した患者では，細胞性免疫能の低下していることを観察し，免疫リンパ系に対して放射線治療は長期に影響すると述べている．

しかし，もし放射線治療がリンパ球機能に長期に影響を及ぼすと仮定しても，当然，照射野が小さく，治療終了後の経過期間の長いほど，リンパ球幼若化反応は正常レベルに近くなることが考えられる．ところが，我々は非ホジキンリンパ腫で放射線治療終了後2年以上病態のコントロールされている患者で，マントル，逆Yのような大照射野で治療を受けた患者と局所照射を受けた患者で，リンパ球幼若化反応をみると，両者に差はみられないこと（Fig. 6），また，治療終了後2～5年と5年以上の患者では，PHA によるリンパ球反応は放射線治療終了後の経過期間のより長い5年以上の患者でより低い症例があり，Con A では両者に差はみられないこと（Fig. 5）を見い出した．

一方，折田[19]は，リンパ球の mitogen に対する反応の低下については，mitogen に反応するリンパ球の減少，リンパ球構成成分の変化による suppressor T リンパ球の増加などが考えられると述べている．

これらの知見より，非ホジキンリンパ腫患者での放射線治療終了後，再発のみられない CD グループの患者のリンパ球幼若化反応の低下については，放射線治療によるリンパ球に対する障害が長期に影響しているという可能性は否定できないが，その他に，患者自身にもともと suppressor T リンパ球の増加などによる免疫反応能力の低下があることも原因として考えられるのではないだろうか．

一方，Halili[20] らは婦人科領域の癌で，放射線治療終了後，長期に病態のコントロールされている患者では，DNCB 反応は正常と述べている．このことはリンパ球幼若化反応と DNCB 反応との細胞性免疫能の指標のちがいによることも考えられるが，放射線治療終了後，病態のコントロールされている患者の免疫反応については，腫瘍の種類によって異っていることも予想される．

今後は，放射線治療により，長期間，再発のない患者の免疫反応について，腫瘍別に調べることも必要であろう．今回，我々の検討したような放射線治療により病態のコントロールされている患者で，リンパ球反応の低下している症例の late recurrence，二次発癌の有無などが今後の課題となろう．

V. 結　論

非ホジキンリンパ腫患者のリンパ球幼若化反応と放射線治療の関係を調べ，次の結果を得た．

1. 治療前の非ホジキンリンパ腫患者の PHA, Con A によるリンパ球幼若化反応は，健常人と比べて有意に低下していた．

2. PHA によるリンパ球幼若化反応は放射線治療により顕著に低下し，その減少率は治療前の60～90％であった．

3. 放射線治療により，2年以上再発のない非ホジキンリンパ腫患者のリンパ球幼若化反応は，PHA, Con A ともに，治療前の患者に比べては高い傾向を示したが，健常人に比べては有意に低下していた．

本論文の要旨は第37回日本医学放射線学会（徳島）において発表した．

文　献

1) 菊地浩吉：細胞性免疫．腫瘍免疫学，pp. 193—206，1974，朝倉書店
2) 梅垣洋一郎：腫瘍免疫と放射線療法—その臨床—．癌・放射線療法，癌の臨床別冊（新編）pp. 27—34，1978，篠原出版

3) 菊地浩吉：細胞性免疫異常および不全と内科疾患．—悪性腫瘍—．日本臨床，36：1004—1010，1978
4) 槇殿　敦，槇殿玲子：悪性腫瘍に対する放射線治療と患者の免疫能力．臨床放射線，23：849—857，1978
5) Case, D.C., Hansen, J.A., Corrales, E., Young, C.W., Dupont, B., Pinsky, C.M. and Good, R.A.: Comparison of multiple in vivo and in vitro parameters in untreated patients with Hodgkin's disease. Cancer, 38: 1807—1821, 1976
6) Young, R.C., Corder, M.P., Haynes, H.A. and Devita, V.T.: Delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease. Am. J. Med., 52: 63—72, 1972
7) Levy, R. and Kaplan, H.S.: Imapired lymphocyte function in untreated Hodgkin's disease. N. Engl. J. Med., 290: 181—186, 1974
8) Aisenberg, A.C.: Immunologic status of Hodgkin's disease. Cancer, 19: 385—394, 1970
9) Lapes, M., Rosenzweig, M., Barbieri, B., Joseph, R.R. and Smalley, R.V.: Cellular and humoral immunity in non-Hodgkin's lymphoma. Correlation of immunodeficiencies with clinopathologic factors. Am. J. Clin. Pathol., 67: 374—350, 1977
10) 辻　公美：比重遠心法によるリンパ球の分離，Conray 400-Ficoll 法．免疫操作実験法，日本免疫学会編，pp. 443—446，1974
11) 窪田宜夫，朝倉浩一，大竹英二，小野　慈：悪性リンパ腫患者の末梢血リンパ球 PHA 反応に対する放射線治療の影響．神奈川腫瘍免疫化学療法研究会報告集，68—72，1977
12) Stobo, J.D. and Paul, W.E.: Functional heterogeneity of murine lymphoid cell. Differential responsiveness of T cells to phytohemagglutinin and concanavalin A as probe for T cell Subsets. J. Immunol., 110: 362—375, 1973
13) Slater, J.M. and Lau, B.H.S.: Effect of therapeutic irradiation on the immune responses. Am. J. Roentgenol., 126: 313—320, 1976
14) Chee, C.A., Ilbery, P.L.T. and Rickinson, A.B.: Depression of lymphocyte replicating ability in radiotherapy patients. Brit. J. Radiol., 47: 37—43, 1974
15) Aisenberg, A.C.: Studies on delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease. J. Clin. Invest., 41: 1964—1970, 1962
16) Han, T. and Sokal, H.: Lymphocyte response to phytohemagglutinin in Hodgkin's disease. Am. J. Med., 48: 728—734, 1970
17) Case, D.C., Hansen, J.A., Corrales, E., Young, C.W., Dupont, B., Pinsky, C.M. and Good, R.A.: Depression in vitro lymphocyte to PHA in patients with Hodgkin's disease in continuous long remission. Blood, 49: 771—778, 1977
18) Tarpley, J.L., Potvin, C. and Chretin, P.B.: Prolonged depression of cellular immunity in cured laryngopharyngeal cancer patients treated with radiation therapy. Cancer, 35: 638—644, 1975
19) 折田薫三：担癌患者の免疫能．最新医学，33：1521—1527，1978
20) Halili, M., Bosworth, J., Romney, S., Moukhtar, M. and Ghossein, N.A.: The long-term effect of radiotherapy on the immune status of patients cured of gynecologic malignancy. Cancer, 37: 2875—2878, 1976