

OK 432 投与後に natural killer 細胞活性が 増強した神経芽細胞腫 (stage IV-S) の 1 乳児例

青沼 架佐賜 川合 博
小宮山 淳 赤羽 太郎
信州大学医学部小児科学教室

An Infant Case of Neuroblastoma (Stage IV-S) with an Increase of Natural Killer Cell Activity After OK 432 Administration

Kesashi AONUMA, Hiroshi KAWAI, Atsushi KOMIYAMA
and Taro AKABANE

Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine

We report a 1-month-old boy with neuroblastoma stage IV-S in whom natural killer (NK) cell activity was initially decreased and subsequently increased after immunotherapy with OK432. His NK activity was impaired at the time of diagnosis, but it increased markedly *in vitro* in response to interferon or Poly I : C, an interferon inducer. Based on the staging of the neuroblastoma and the results of NK cell activity, we treated the patient with OK432 alone, which is known to increase NK cell activity. After treatment the NK cell activity increased, and apparent clinical improvements appeared. There are no clinical and laboratory abnormalities 16 months after the diagnosis. *Shinshu Med. J.*, 31 : 318-324, 1983

(Received for publication April 26, 1983)

Key words : OK432, natural killer cell activity, neuroblastoma
OK432, natural killer 細胞活性, 神経芽細胞腫

緒 言

神経芽細胞腫 stage IV-S は、原発巣が原発部位または所属リンパ節に限局し、肝、皮膚、骨髄などに転移のみられるものである。本症の興味深い点は、広範な転移の存在にもかかわらず予後が比較的良好なことである。特に 1 才未満の症例では自然退縮の可能性も指摘されており、その治療に関しては議論の多いところである¹⁾²⁾。腫瘍の治療過程においては免疫学的機序の関与が強く示唆されており、強力な化学療法や放射線療法は宿主の免疫能の低下をきたすため慎重であるべきとされ¹⁾²⁾、最近では免疫賦活療法が注目されて

いる。

われわれは診断時に natural killer (NK) 細胞活性の低下していた神経芽細胞腫 stage IV-S の 1 乳児例を経験した。本例の NK 細胞活性は、*in vitro* においてインターフェロン (IFN) または IFN 誘起剤である poly I : C 処理により増強した。そこで NK 細胞活性増強作用がある OK432 を本例に投与したところ NK 細胞活性が著明に増強し、良好な臨床経過をとっているのを報告する。

症 例

患児 : 1 カ月男児。

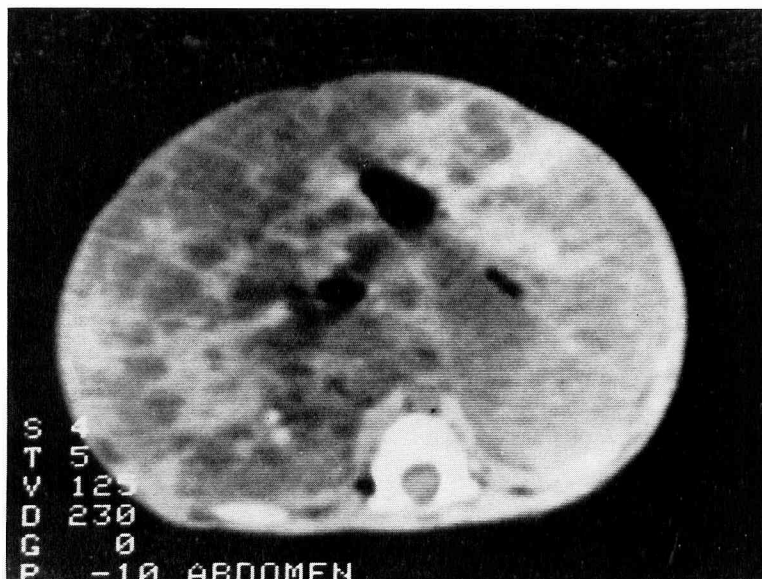


図1 腹部 CT 像

肝の広範な部位に転移巣が認められる。原発巣と思われる右腎上部には石灰化がみられる。

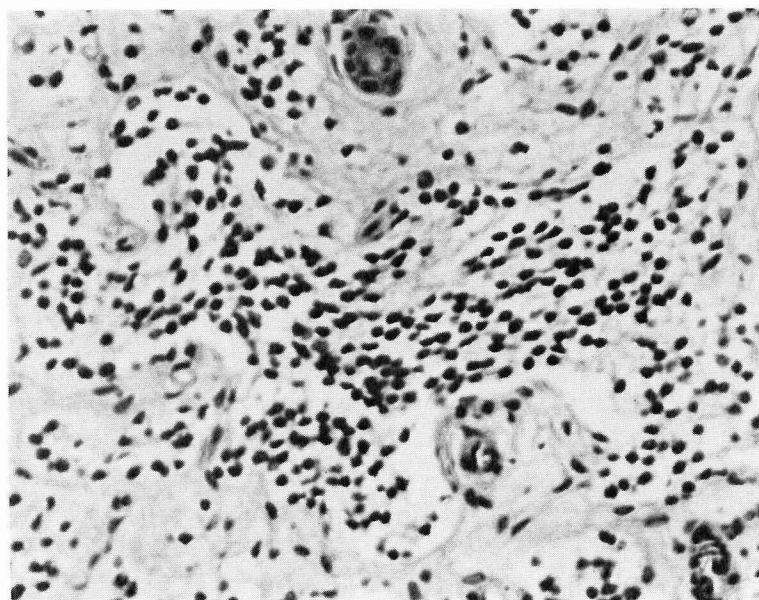


図2 皮下結節の生検像

神経芽腫細胞が集塊を形成して認められる。HE 染色。

表1 一般検査成績

RBC	339×10 ⁴ /mm ³	CRP	(-)	
Hb	11.0g/dl	ESR	6mm/hr	
Ht	34.4%	HB ag	(-)	
Plat.	53.02×10 ⁴ /mm ³	ab	(-)	
WBC	13,300/mm ³	Slide	(-)	
neutro band	4%	TPHA	(-)	
	seg	18		
	lymph	68	PT	11.2sec
	mono	5	APTT	37sec
	eosino	5	Fibrinogen	150mg/dl
BUN	7mg/dl			
Creat	0.6mg/dl	Urinalysis		
U. A	5.2mg/dl	pH	6.0	
T. Chol	183mg/dl	s. g	1008	
T. G	123mg/dl	OB	(-)	
T. Bil	1.5mg/dl	Prot	(-)	
AL-P	207mIU	Glu	(-)	
LDH	367mIU	Sed	(-)	
Isozyme 1	26.90%			
	2	35.17	Bone marrow aspiration	
	3	22.57	C. C	197,000
	4	9.39	Mgk	8×15
	5	5.97	myelobl	2 %
GOT	40KU	promyelo		10.4
GPT	17KU	myelocyte		14.4
γ-GTP	261mIU	metamyelo		6.4
CPK	141mU/ml	band		7.6
Na	142mEq/L	seg		5.2
K	4.7mEq/L	lymph	30	
Cl	107mEq/L	erythrobl	24	
Ca	5.4mEq/L			
P	6.3mg/dl	Rosette formation	(-)	
Fe	71μg/dl			

主訴：腹部膨満。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：妊娠39週。生下時体重4,050g。周産期に特別な異常はなかった。

現病歴：生後3週目に鼻汁、嘔吐が現れたため某病院を受診し、腹部膨満を指摘され入院した。入院中下痢が出現したが2～3日で軽快した。検査の結果神経芽細胞腫を疑われ、精査のため昭和56年12月2日当科を紹介され入院となった。

入院時現症：栄養状態良好。身長55cm、体重5,460g。腹囲、最大45.5cm。血圧116/50mmHg。胸部理

学所見には異常なかった。腹部膨満がみられ、腹部右半分を占める巨大な肝腫（右鎖骨中線上季肋下7cm）および脾腫（左季肋下4.5cm）が触知され、右鼠径部にヘルニアがみられた。両足底部に2～3個の直径2mm程度の皮下結節がみられ、一部紫色に変色していた。神経学的な異常所見はみられなかった。

入院時検査所見（表1, 2）：尿中カテコールアミンおよびその代謝産物の上昇がみられ、LDH アイソザイムにて3, 4型の上昇がみられるほかは異常所見はなかった。α-フェトプロテイン（AFP）の値は月令相当であった。

表 2 免疫学的ならびに特殊検査成績

TP	5.4g/dl
{ alb α_1 -glob α_2 β γ	70.67%
	2.42
	10.13
	10.03
	6.76
IgG	476mg/dl
IgA	47mg/dl
IgM	262mg/dl
D. Coombs	(-)
C3	66mg/dl
CH ₅₀	35.6U/ml
T. B subpopulation	
{ T B IgG FcR-T	77%
	2%
	7%
Toxoplasma	<80
CEA	0.94ng/ml
Paul-Bunnell	<7
Cytomegalo (CF)	<4
AFP	4,188ng/ml
Lysozyme	22.2g/ml
Ferritin	190ng/ml
尿中 VMA	21.8mg/day
HVA	13.2mg/day
Adrenalin	2 μ g/day
Noradrenalin	40 μ g/day
Dopamine	950 μ g/day

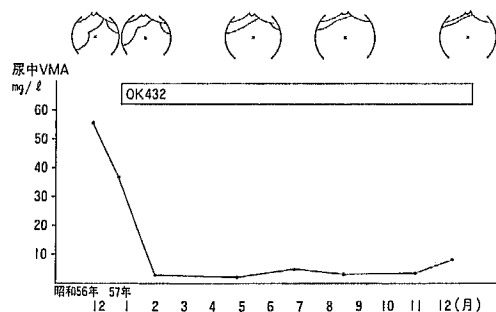


図 3 臨床経過

放射線学的所見：胸腹部単純X線で、腹部のかなりの部位を占める腫瘤がみられたが石灰化像は認められなかった。静脈性腎盂撮影では、右腎盂が右外下方へ圧排されていた。頭部と全身骨X線写真、⁶⁷Ga シンチグラムおよび骨シンチグラムには異常はみられなかった。肝シンチグラムでは、肝脾腫のほか特記すべき所見はみられなかった。腹部エコーでは右腎上部が充実性の腫瘤におきかわっていた。肝は広範な部位にわたってエコーのむらがあり、肝への転移が示唆された。大動脈や下大静脈には狭窄や中断はなかった。腹部CT上、右腎上部に石灰化のみられる腫瘤があり、肝には広範な部位に転移の所見がみられた(図1)。

足底部皮下結節の生検所見：異常細胞が小さな集塊を形成し多数浸潤していた。細胞は核が濃染し、胞体は少なく、おたまじゃくし型に尾をひくものもあった(図2)。

入院後経過：尿中カテコールアミンおよびその代謝産物の増加、足底部皮下結節の生検所見、放射線学的所見より、右副腎原発で、肝、皮膚に転移のみられる神経芽細胞腫 stage IV-S と診断した。経過を観察していたが、退縮傾向がみられず、尿中カテコールアミンおよびその代謝産物も依然高値を示しており、検査所見よりNK細胞活性が減少していたため、NK細胞活性増強作用を有するOK432による治療を昭和57年1月7日より開始した。当初は0.2KEより開始し、2日ごとに0.2KEずつ増量して筋注し、維持は1週間に1回2.0KEの筋注を行った。その後肝腫が縮少し、足底部皮下結節は2週目には消失し、腹部CTでは右腎上部原発巣が著明に縮少し、肝への転移も軽快していく傾向がみられた(図3)。OK432投与を続け1年たった時点で、理学的ならびに検査所見にまったく異常がみられないため、治療中止とした。診断1年4カ月後の現在も一般状態良好で再発の徴候はみられていない。

方 法

NK細胞活性の測定

OK432使用前に2回、使用中に2回NK細胞活性を測定した。また対照として健康成人についても同時に測定した。NK細胞活性の測定はすでに報告した⁵¹Cr release法により行った³⁾。

ヘパリン加静脈血よりFicoll-Paque比重遠沈法にて単核球を分離した後、附着法にて附着細胞を除去し、effector cellとした。標的細胞には、白血病由来培養

株化細胞である K562 細胞株を用いた。なお実験条件を一定にするため、実験前日に sub-culture したものをを用いた。

^{51}Cr で標識した標的細胞 2×10^4 個に effector 細胞：標的細胞比、40：1 の比率で effector 細胞を加え、マイクロプレートにて 4 時間培養後上清中に遊離された ^{51}Cr を測定し、次式から % specific lysis を求めた。

$$\% \text{ specific lysis} = \frac{\text{experimental release} - \text{spontaneous release}}{\text{maximum release} - \text{spontaneous release}} \times 100$$

また、*in vitro* で IFN および IFN 誘起剤である poly I : C による NK 細胞活性の反応性の検討は、附着細胞を除去した単核球にヒト白血球由来のインターフェロン(京都赤十字)1,000u/ml, poly I : C (Calbiochem., La Jolla, Calif.) 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ加え、20時間培養後洗浄し effector 細胞として用い、同様に % specific lysis を求めた。

なおデータの解析は % specific lysis とともに実験日による変動を除外するため、同時に行った健康成人の % specific lysis を100とし、それに対する比率を求めて行った。

結 果

図4に示すごとく、OK432 使用前の NK 細胞活性は % specific lysis で23.1%、28.3%であり、健康成人に対する比率はそれぞれ62.4、67.4と有意に低下していた。IFN, poly I : C に対する反応性は良好であった。

一方、OK432 使用中の NK 細胞活性は、% specific lysis で 44.3%、40.7%であり、健康成人に対する比率はそれぞれ 108.8、93 と正常化していた。ところが IFN, poly I : C には、*in vitro* ではもはや増強されなかった。

考 案

神経芽細胞腫は神経冠細胞起源で、交感神経系の神経節細胞や副腎髄質の細胞に分化してゆく途中の段階で腫瘍化したものであり、小児期に最も頻度が高く、今日なお予後不良な悪性固型腫瘍である。しかしながら3カ月以内の乳児剖検例で '*in situ*' 神経芽細胞腫が高頻度にみられること⁴⁾⁵⁾、悪性腫瘍の中では自然治癒の頻度が高いこと(1%)⁶⁾⁷⁾、発症時年齢、病期によっては良好な予後であること⁸⁾⁹⁾など興味深い点

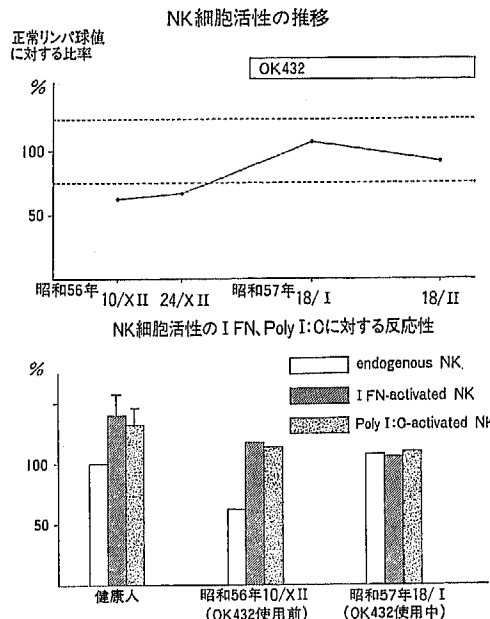


図4 経過中のNK細胞活性の推移とIFN, poly I : C に対する反応性

が多い。

神経芽細胞腫 stage IV-S は、広範な転移がみられるにもかかわらず予後は比較的良好であり、一部はおそらく腫瘍細胞の成熟化あるいは分化により自然治癒¹⁰⁾するものと考えられている。しかし stage IV-S でも、肝転移巣の急激な増大による呼吸不全や stage IV への移行により、予後不良例もみられる。したがって注意深い治療の選択が大切であり、一般には宿主の免疫能がおかされないよう極力保存的にすべきであるが、もし呼吸不全がみられるようなら少量の放射線や化学療法¹⁾²⁾、stage IV への進行が疑われるなら stage IV と同様な強力な治療が必要であるといわれている¹¹⁾。本症例に関しては、広範な肝転移がみられたが呼吸不全をおこす程度ではなく、骨髄にも異常な細胞はみられず、一般状態も比較的良好であり、化学療法や放射線療法は不必要と思われた。

近年、免疫監視機構としてのNK細胞の役割が注目されてきている。本症例ではNK細胞活性が低下しており、腫瘍を排除するための宿主の免疫能の何らかの障害が示唆された。しかしながら本症例のNK細胞は、IFNまたはIFN誘起剤であるpoly I : C 処理に良好な反応を示し、その活性の増強がみられた。そこでNK細胞活性の増強を目的として、OK432による治療を行った。

溶連菌製剤である OK432 は、癌の種類や進行度に
関係なく NK 細胞活性増強作用があるといわれてお
り¹²⁾¹³⁾、その機構についてはいまだ明らかでないが、
主として IFN を介するものと推察されている¹⁴⁾。本
症例では、OK432 使用中、NK 細胞活性が増強し
た。興味深いことには、本剤使用中の NK 細胞には、
IFN, poly I:C に対する反応性はみられず、NK
細胞活性は最大に賦活された状態であった。

OK432 には抗腫瘍作用も認められており、癌細胞
に直接作用してそれを破壊することが知られている
¹⁵⁾¹⁶⁾。また本剤には、細網内皮系の賦活化、マクロフ
ージの活性化なども認められており、NK 細胞の
活性化を介さない抗腫瘍効果も指摘されている¹⁷⁾¹⁸⁾。
本症例において OK432 の抗腫瘍効果については不明

であるが、本剤投与により著明な NK 細胞活性の増
強がみられたこと、本症例の臨床経過が良好であるこ
となど興味深く思われる。

結 語

低下していた natural killer (NK) 細胞活性が OK
432 投与により増強し、良好な経過をとっている神経
芽細胞腫 stage IV-S の乳児例を報告した。本症例の
NK 細胞活性は *in vitro* でインターフェロン(IFN)
または IFN 誘起剤である poly I:C 処理により著明
に増強した。NK 細胞活性増強作用のある OK432 の
投与のみにより治療したところ、NK 細胞活性が増強
し、著明な腫瘍の縮小がみられ、診断後 1 年 4 ヶ月現
在臨床上異常所見はまったくみられない。

文 献

- 1) Evans, A. E., Chatten, J., D'Angio, G. J., Gerson, J. M., Robinson, J. and Schnauffer, L. : A review of 17 IV-S neuroblastoma patients at the children's hospital of Philadelphia. *Cancer*, 45 : 833-839, 1980
- 2) Evans, A. E., Baum, E. and Chard, R. : Do infants with stage IV-S neuroblastoma need treatment ? *Arch Dis Child*, 56 : 271-274, 1981
- 3) Komiyama, A., Kawai, H., Miyagawa, Y. and Akabane, T. : Childhood lymphoblastic leukemia with natural killer activity : Establishment of the leukemia cell lines retaining the activity. *Blood*, 60 : 1429-1436, 1982
- 4) Beckwith, J. B. and Perrin, E. : In situ neuroblastomas ; A contribution to the natural history of neural crest tumors. *Am J Pathol*, 43 : 1089-1104, 1963
- 5) Beckwith, J. B. and Martin, R. : Observations on the histopathology of neuroblastoma. *J Pediatr Surg*, 3 : 106-110, 1968
- 6) Forther, J., Nicastrì, A. and Murphy, M. L. : Neuroblastoma, natural history and results of treating 133 cases. *Ann Surg*, 167 : 131-142, 1968
- 7) Bill, A. H. : The regression of neuroblastoma. *J Pediatr Surg*, 3 : 103-106, 1968
- 8) 沢口重徳, 菅沼 靖, 渡辺 至, 土田嘉昭, 岡部郁夫, 沢田 淳, 田口信行, 高橋英世, 絹巻 宏, 伊勢 泰, 角田昭夫, 角岡秀彦, 植田 隆, 牟田博夫 : 神経芽細胞腫の特性に関する研究(第一報) 一年令, 病期別にみた予後の検討一. *日小外会誌*, 15 : 1119-1126, 1979
- 9) Breslow, N. and McCann, B. : Statistical estimation of prognosis for children with neuroblastoma. *Cancer Res*, 31 : 2098-2103, 1971
- 10) Rangecroft, L., Lauder, I. and Wagget, J. : Spontaneous maturation of stage IV-S neuroblastoma. *Arch Dis Child*, 53 : 815-817, 1978
- 11) 内野純一, 佐々木文章, 池田雄祐, 泰 温信, 品田佳秀, 外岡立人, 箱崎博美, 武田武夫, 南部春生 : 神経芽腫 IV-S 期の治療. *小児外科*, 10 : 1455-1462, 1978
- 12) 若杉 尋, 押味和夫, 宮田道夫, 森岡恭彦 : 癌患者における溶連菌製剤 OK-432 の natural killer 細胞活性再増強作用. *日本臨床免疫学会会誌*, 4 : 111-115, 1981
- 13) Uchida, A. and Micksche, M. : In vitro augmentation of natural killing activity by OK-432. *Int J Immunopharmacol*, 3 : 365-375, 1981
- 14) Matsubara, S., Suzuki, F. and Ishida, N. : Induction of immune interferon in mice treated with a bacterial immunopotentiator, OK-432. *Cancer Immunol. Immunother*, 6 : 41-45, 1979
- 15) Okamoto, H., Minami, M., Shoin, S., Koshimura, S. and Shimizu, R. : Experimental anticancer

studies part XXXI. On the streptococcal preparation having potent anticancer activity. Jpn J Exp Med, 36 : 175, 1966

- 16) Sakurai, Y., Tsukagoshi, S., Satoh, H., Akiba, T., Suzuki, S. and Takagaki, Y. : Tumor-inhibitory effect of a streptococcal preparation (NSC-B116209). Cancer Chemother Rep, 56 : 9-17, 1972
- 17) 木村郁郎, 大槌泰亮, 高野純行, 大沢 汎, 安原尚蔵, 渡部達夫, 杉山元治, 平木 潔 : 癌化学療法における溶連菌製剤の宿主を介する作用. 臨と研, 50 : 2965-2969, 1973
- 18) 川口 勉, 富沢正吾, 光井碩樹, 小川春樹, 野本亀久雄 : 腹腔マクファージの諸機能に及ぼすピンバニールの効果. 日本癌学会総会記事, 36 : 78, 1977

(58. 4. 26 受稿)