

切除不能肺癌患者に対する clarithromycin の 有効性に関する臨床的・基礎的研究

奈良県立医科大学第2内科学教室

坂本 正 洋

BASIC AND CLINICAL STUDY ON THE EFFICACY OF CLARITHROMYCIN TREATMENT FOR PATIENTS WITH UNRESECTABLE LUNG CANCER

MASAHIRO SAKAMOTO

Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received August 19, 1998

Abstract : I carried out a randomized study of 100 consecutive patients with unresectable primary lung cancer to ascertain whether clarithromycin (CAM), a 14-membered ring macrolide, can improve the outcome of the patients. A total of 95 complete cases had received prior chemotherapy and/or radiotherapy during admission. They were randomly allocated into two study groups on the first visit to the out-patient clinic after discharge: 49 patients recieved CAM (400 mg/day orally), and 46 patients did not recieve CAM. There was no significant difference in median survival time for small cell lung cancer between the CAM group and the non-CAM group. In contrast, CAM treatment significantly elongated the median survival time for non-small cell lung cancer patients. The underlying mechanism explaining such effects of CAM may be postulated; a long-term treatment of CAM is able to decrease the production of cachexia-inducing cytokin interleukin 6, and increase the production of interleukin 12 and INF- γ in association with increasing NK-cell activity. In mice bearing murine lung cancer, administration of CAM initiated 7 days after the completion of anticancer chemotherapy inhibited the tumor growth to a greater extent, and significantly increased NK-cell activity, compared with the combined use of CAM and anticancer chemotherapy. CAM was especially effective for patients at the early clinical stages and having responded well to prior anticancer therapy, which was confirmed by the study of CAM effect on murine lung cancer.

(奈医誌. J. Nara Med. Ass. 49, 312~333, 1998)

Key words : Lung Cancer, Clarithromycin, Interlukin 6, Interlukin 12, NK activity

緒 言

難治性慢性下気道感染症の基本的治療法として14員環マクロライド系抗菌薬 erythromycin(EM), clarithromycin(CAM)長期投与療法が確立されている。この治療法は澤木ら¹⁾が最初に報告していたが、マクロライドが本来抗菌力をもたない緑膿菌感染にも臨床的に有効で、

今日まで国内外でマクロライド薬の宿主や菌に対する多くの基礎的・臨床的検討がある。その過程で濱田ら²⁾は担癌マウスを用いた実験系でマクロライド薬が本来の抗菌力以外に生体応答修飾物質 biological response modifier(BRM)作用を有することを認め、三笠ら³⁾はCAMが非小細胞肺癌患者の生存期間を延長することを報告している。諸外国でも Anderson⁴⁾, Frascini⁵⁾, Rensburg⁶⁾

難したのがつらかった 18. その他 () 19. 特に困ったことはなかった)

441. 項目数

(5) 項目数

(6) 現在のストレス

500. 去年の夏からいままでの間に、最もストレスと感じたのは何ですか (あてはまるものすべてに丸をつけて下さい)

- (1. 死んだ家族のことが頭から離れないこと 2. 家族の仲が悪くなったこと
3. 家族の仲に大酒のみがいること 4. アルコールに頼ってしまうようになったこと 5. 余暇や友人との交流が減ったこと 6. 住み慣れない環境の中で暮らさなければならなくなったこと 7. 収入が震災前よりかなり減少したこと
8. 収入の道がなくなったこと 9. 将来の蓄えをほとんどつかってしまったこと
10. 職業を失って再就職できないこと 11. 転職したが以前の仕事よりよくないこと 12. 定住できる家が見つからないこと 13. 住居を確保・再建したが多くの借金が残ったこと 14. 家が狭くなったこと 15. 仮設住宅をいつ追い出されるかと不安なこと 16. 仮設住宅の環境が悪いこと 17. 生活の再建のめどがたたないこと 18. 行政の対応が冷たいこと 19. その他 () 20. 特にない

500. 項目数

(7) いまの感情 今度の地震のことをどう思いますか?

600. (1. 自然の怒りであると思う 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
601. (1. 自然災害だからしかたない 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
602. (1. 人間への自然からの警告・罰であると思う 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
610. (1. 人災の部分もたぶんにある 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
620. (1. 震災を乗り越えられたと思う 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
621. (1. 震災を乗り越えてある種の自信がついた 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
630. (1. 震災によって今後の生活の希望がなくなった 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
631. (1. 震災は自分の生活に大きな影響を与えなかった 2. そうは思わない 3. わからない) ☐
640. (1. 震災のことは思い出したくもない恐ろしいことだと思う 2. そうは思わない 3. わからない) ☐

らが in-vitro, in-vivo の実験系で EM が抗菌作用以外に好中球やリンパ球機能を制御し, 免疫修飾作用を有することを報告している. そこで著者は肺癌患者で CAM の有効性の詳細な解析とその BRM 作用とについて臨床的・基礎的検討をおこない, 新たな知見を得たので報告する.

対象と方法

1. 延命効果とその階層別解析

解析対象は寺本⁷⁾が施行した randomized control study の切除不能原発性肺癌患者 100 例で, 男性 83 例, 女性 17 例, 平均年齢は 64.5 歳(41~84 歳)であった.

方法は入院中に前治療として抗癌化学療法, 放射線療法を併用, あるいは単独で施行し, 退院後初回外来受診時に CAM 投与群と CAM 非投与群とに封筒法で無作為に割付を行った. CAM は 200 mg を 1 日 2 回経口投与し内服可能な限り続行し, 薬剤の内服状況は問診で確認した. 尚, 本研究対象症例は他の BRM 製剤や副腎皮質ステロイド薬を使用した症例を除外し, CAM 投与に際しては文書でインフォームド・コンセントを得た.

前治療は原則として非小細胞肺癌には MVP 療法(CDDP 100 mg/m² day 1, vindesine 3 mg/m² day 2 day 8, mitomycinC 8 mg/m² day 1), 小細胞肺癌には PE 療法(CDDP 100 mg/m² day 1, etoposide 100 mg/m² day 1 day 3 day 5), または CE 療法(carboplatin 300 mg/m² day 1, etoposide 100 mg/m² day 1 day 3 day 5)を施行し, 症例により放射線療法(リニアック 2 Gy/day, 週 5 回, 総線量 40~60 Gy)を同時に併用した.

登録期間は 1992 年 7 月 1 日から 1995 年 8 月 31 日まで, 解析日は 1996 年 2 月末日とした. 臨床病期分類と腫瘍縮小効果判定とは日本肺癌学会基準, performance status(P.S.)は The Eastern Cooperation Oncology Group(ECOG)の基準によった.

2. CAM が腫瘍免疫に及ぼす影響

(1) interleukin 6(IL-6)に与える影響

対象は当科に初回入院した切除不能の非小細胞肺癌患者 33 例, 男性 26 例, 女性 7 例, 平均年齢は 67.2 歳(49~78 歳)であった. 組織型は扁平上皮癌 13 例, 腺癌 18 例, 大細胞癌 2 例で, 臨床病期はⅢ A 期 7 例, Ⅲ B 期 15 例, Ⅳ 期 11 例であった(Table 1).

当科入院後, 先述のような抗癌療法を施行し, 抗癌療法終了 4 週後から CAM 200 mg を 1 日 2 回経口投与した. CAM 投与前, 3 カ月後に体重, コリンエステラーゼ, 血中総蛋白, アルブミン, ヘモグロビンを測定した. 血清中 IL-6 は sandwich ELISA 法(Quantikine HS,

R&D, Minneapolis, USA)で入院時, CAM 投与前, 投与 3 カ月後に測定し背景因子を一致させた CAM 非投与症例 14 例, 男性 10 例, 女性 4 例, 平均年齢 62.0 歳と比較した. また CAM 投与群で CAM 投与前後の IL-6 の変動(Δ IL-6), 各臨床指標の変動(Δ BW, Δ ChE, Δ TP, Δ ALB, Δ Hb)および臨床病期, 組織型, 生存期間の関連を検討した. 生存期間は CAM 投与開始日を第 1 日として算定した.

(2)末梢血単核球中 interleukin 12(IL-12)mRNA の発現に与える影響

対象は CAM 投与症例 10 例, 非投与症例 2 例(Table 2)で, reverse transcriptase-assisted polymerase chain reaction(RT-PCR)を用い, 患者末梢血単核球中の IL-12 mRNA を検討した.

方法は CAM 投与前, 投与 3 カ月時に患者から採血したヘパリン加静脈血から Ficoll 比重遠心法で単核球を分離し 10⁶ 個の単核球から TRizol(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)を用いた acid-guanidinium-

Table 1. Characteristics of patients enrolled in determination of IL-6

		CAM group	non-CAM group
No. of cases		33	14
Sex	M	26	10
	F	7	4
Mean age \pm SD (yr)		67.2 \pm 10.7	62.0 \pm 9.9
Histology	Squamous	13	8
	Adeno	18	6
	Large cell	2	0
Stage	ⅢA	7	3
	ⅢB	15	7
	Ⅳ	11	4
P. S.	0	5	4
	1	20	7
	2	8	3
Basic therapy	MVP	6	3
	MVP+R	19	10
	CE+R	1	0
	R	7	1
Response	PR	9	5
	NC	21	8
	PD	3	1

— N.S. —

P.S.: performance status, MVP; CDDP + VDS + MMC, CE; CBDCA + VP-16, R; radiation, PR; partial response, NC; no change, PD; progressive disease.

thiocyanate-phenol-chloroform(AGPC)法で RNA を抽出した。0.1 μ g の RNA を逆転写酵素反応緩衝液[20 mM Tris-HCl(pH 8.4), 50 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 各 1 mM の d-ATP, d-CTP, d-GTP, d-TTP, 0.25 μ g Oligo(dT)₁₂₋₁₈ primer, 10 単位 RNAasin(東洋紡, 大阪)]と 50 単位 reverse transcriptase(Gibco BRL)とを混合し 43°C, 90 分の反応で RNA を cDNA に変換した。4 μ l の cDNA を PCR 緩衝液[25 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 8.4), 2.5 mM d-ATP, d-CTP, d-GTP, d-TTP, 1 μ M primers, 0.25 単位 Taq DNA polymerase(Gibco BRL)]に混合し, ミネラルオイルを重層した。この反応液を thermal cycler

(日本ジェネティクス, 東京)で 94°C 1 分, 60°C 1 分, 72°C 1 分を 1 サイクルとして 35 サイクル行い, 得られた PCR 産物を 1.0 % アガロースゲル電気泳動(100 V, 35 分)にて分画し, エチジウムブロマイド染色により IL-12 mRNA の発現を確認した。IL-12 p 35 の検出には sense primer : 5'-GACCACCTCAGTTTGGCCAG -3' と antisense primer : 5'-GGCCAGGCAACTCCCATTAG -3' とを用い, IL-12 p 40 の検出には sense primer : 5'-CCAAGAAGTTCAGCTGAAG -3' と antisense primer : 5'-TGGGTCTATTCCGTTGTGTC -3' とを用いた。尚, 各 PCR 産物の同定は 123 bp DNA Ladder を用い塩基サイズを算出し, 特異的 DNA プローブを用

Table 2. Characteristics of patients enrolled in the study of mRNA expression for IL-12

Case	CAM	Age (yr)	Sex	Histology	Stage	Basic therapy	Response
1	+	62	male	sq	IV	MVP, RT	PD
2	+	75	female	sq	IIIB	MVP	PR
3	+	66	male	la	IV	MVP, RT	NC
4	+	51	male	ad	IV	MVP	NC
5	+	50	female	sq	IV	MVP, RT	NC
6	+	71	male	sq	IIIB	MVP, RT	PR
7	+	77	male	sq	IIIB	MVP, RT	PR
8	+	77	male	la	IIIB	RT	NC
9	+	62	female	ad	IV	MVP	NC
10	+	76	male	sq	IIIB	RT	NC
11	-	77	male	ad	IIIB	RT	NC
12	-	56	male	sq	IV	MVP, RT	PR

sq ; squamous cell carcinoma, la ; large cell carcinoma, ad ; adenocarcinoma, MVP ; CDDP+VDS+MMC, RT ; radiation therapy, PD ; progressive disease, PR ; partial response, NC ; no change.

Table 3. Characteristics of patients enrolled in the study of mRNA expression for IL-12 and INF- γ in tumor tissues

Case	CAM	Age (yr)	Sex	Histology	Stage
1	+	49	male	sq	II
2	+	66	male	ad	II
3	+	65	male	ad	II
4	+	62	female	ad	II
5	-	62	female	ad	I
6	-	74	male	sq	IIIA
7	-	70	male	ad	II
8	-	66	male	sq	II

Sq ; squamous cell carcinoma, ad ; adenocarcinoma.

い southern hybridization により確認し同定を行った。
(3)局所腫瘍組織 IL-12, interferon γ (INF- γ) mRNA の発現に与える影響

対象は切除可能な原発性非小細胞肺癌患者で CAM 投与 4 例, 男性 3 例, 女性 1 例, 平均年齢 60.5 歳 (49~66 歳), 腺癌 3 例, 扁平上皮癌 1 例, 全例臨床病期 II 期と CAM 非投与 4 例, 男性 3 例, 女性 1 例, 平均年齢 68.0 歳 (62~74 歳), 腺癌 2 例, 扁平上皮癌 2 例, 臨床病期 I 期 1 例, II 期 2 例, III A 期 1 例 (Table 3) で, CAM 投与例には診断確定時から手術までの約 1 カ月間 CAM 200 mg, 1 日 2 回経口投与し, 摘出肺から腫瘍組織や腫瘍周辺肺組織約 0.1 g をとりだし, 滅菌生理食塩水で附着血液を十分に洗い流し検体とした。AGPC 法で RNA を抽出し, RT 反応を経て PCR 30 サイクル施行し, INF- γ , IL-12 mRNA の発現を確認した。INF- γ の検出には sense primer : 5'-ATGAAATATACAAGTTATATCTTGCTTT-3' と antisense primer : 5'-GATGCTCTTCGACCTCGAAACAGCAT-3' とを用いた。対象患者にはあらかじめ文書でインフォームド・コンセントを得た。

(4) CAM が NK 活性に与える影響

1) CAM 投与非小細胞肺癌患者の NK 活性の変動

①対象と方法

対象は非小細胞肺癌患者 18 例, 平均年齢 68.2 歳 (32~85 歳), 男性 14 例, 女性 4 例, 組織型は腺癌 11 例, 扁平上皮癌 7 例。病期は III 期 12 例, IV 期 6 例であった (Table 4)。抗癌治療終了 4 週間後から CAM 200 mg, 1 日 2 回を経口投与し, 入院時, CAM 投与前, 投与 1 カ月後, 3 カ月後に NK 活性を測定した。

② NK 活性測定方法

a. effector 細胞の調整

ヘパリン加末梢血 20 ml から Ficoll 比重遠心法で単核球分画を分離し, 非働化牛胎児血清 (FBS) 10 % 添加 RPMI 1640 (含 10 mM HEPES, 100 u/ml PCG, 100 μ g/ml SM, 以下 FBS 加 RPMI) で 2 回洗浄した。T 細胞分離用ナイロンファイバーカラム (和光純薬, 京都) で NK 細胞含有 T 細胞分画を得, 10⁷/ml の細胞浮遊液を作成し, effector 細胞 (E) とした。

b. target 細胞の調整

ヒト NK 感受性の K 562 CML 細胞 (理研細胞銀行, 筑波) を用い, FBS 加 RPMI で 10⁶/ml の細胞浮遊液を作成し target 細胞 (T) とした。

Table 4. Characteristics of patients enrolled in determination of NK activity

Case	Age (yr)	Sex	Histology	Stage	Basic therapy	Response
1	73	male	ad	III	CE, RT	NC
2	81	male	ad	III	RT	NC
3	85	male	ad	III	RT	NC
4	67	male	ad	III	MVP, RT	PR
5	72	female	ad	III	MVP, RT	PR
6	64	female	ad	III	RT	NC
7	72	male	sq	III	RT	NC
8	61	male	sq	III	MVP, RT	NC
9	77	male	sq	III	MVP, RT	NC
10	57	male	sq	III	RT	NC
11	78	male	sq	III	RT	PR
12	68	female	ad	III	MVP	NC
13	69	male	ad	IV	MVP, RT	PR
14	68	male	ad	IV	CE	PR
15	76	male	ad	IV	RT	NC
16	60	female	ad	IV	MVP, RT	NC
17	67	male	sq	IV	CE, RT	NC
18	32	male	sq	IV	MVP, RT	PR

CE ; CBDCA+VP-16, RT ; radiation, MVP ; CDDP+VDS+MMC, NC ; no change, PR ; partial response, ad ; adenocarcinoma, sq ; squamous cell carcinoma.

c. 細胞傷害活性の測定

96 穴 V 底マイクロプレートに FBS 加 RPMI を 170 μ l 入れ, effector 細胞 20 μ l (2×10^5 /well), target 細胞 10 μ l (1×10^4 /well) を triplicate で分注し (E/T=20), プレートを室温で 800 rpm, 5 min 遠心後, 37°C, 5 % CO₂ 下で 4 時間培養し, 上清中の lactate dehydrogenase 量を CytoTox 96 (Promega, WI, USA) で測定し, NK 活性を判定した. 各測定毎に同一健康人 2 名を同時に測定し NK 活性値を補正し, % NK 活性の算出には次の式を用いた: % NK activity = $100 \times (\text{experimental} - \text{effector cell spontaneous LDH release} - \text{target cell spontaneous LDH release}) / (\text{target cell maximum LDH release} - \text{target cell spontaneous LDH release})$

2) マウス肺癌モデルの CAM の至適用量と NK 活性に与える影響

マウスは 6 週令雌 C 57 BL/6 (日本 SLC, 浜松) を, 腫瘍細胞にはルイス肺癌細胞 (LLC, 理研細胞開発銀行) を用いた. CAM (ダイナボット, 大阪) は 2.5 g/ml となるよう 99.5 % エタノールに溶解後, 蒸留水で適宜必要濃度に希釈し, 経口摂取用ステンレスゾンデを用いて 1 日 1 回 100 μ l を直接胃内へ投与した.

① CAM の至適用量に関する検討

3.0×10^5 LLC 細胞を C 57 BL/6 マウス腹壁に皮下接種後, CAM を腫瘍接種日から 16 日間 1 日 1 回 0.1, 1.5, 10, あるいは 50 mg/kg/day の濃度で投与し, 腫瘍接種 16 日目に安楽死させ, 腫瘍体積, 腫瘍重量を測定した. 同時に 0.5 % エタノールを経口投与した溶媒対照群 (vehicle control, VC), 薬剤無投与の無治療群 (untreated control, UC) を設定し, 実験は各群 5 匹で 3 回繰り返した.

② CAM が NK 活性に与える影響と至適投与時期とに関する検討

A. LLC 担癌マウスにおける抗癌治療モデル

ヒト非小細胞肺癌の治療に準じ, LLC 担癌マウスに腫瘍接種 7 日後 (day 7) に, cisplatin (CDDP, 日本化薬, 東京) 6 mg/kg, vindesine (VDS, 塩野義製薬, 大阪) 7 mg/kg を生理食塩水に溶解し尾静脈から投与した. 担癌マウスを以下の 4 群に分け腫瘍接種前日 (day -1) および当日 (day 0) に NK 活性を測定し, 腫瘍接種後 7 日毎 (day 7, day 14, day 21) に腫瘍体積, NK 活性を測定した. マウスは測定日毎に 5 匹ずつ安楽死させ, 同実験を 3 回繰り返した.

同時併用群: 抗癌薬投与日 (day 7) から CAM 10 mg/kg/day を腫瘍接種後 28 日目 (day 28) まで連日投与した.
時間差投与群: 抗癌薬投与 7 日後 (day 14) から CAM を

day 28 まで継続投与した.

溶媒対照群 (VC): 抗癌剤投与 day 7 から day 28 まで 100 μ l の 0.5 % エタノールを連日経口投与した.

無治療群 (UC): 腫瘍接種後, 抗癌薬も CAM も投与しなかった.

B. マウス NK 活性測定方法

a. effector 細胞の調整

マウス脾細胞を FBS 加 RPMI で 2 回洗浄し, T 細胞分離用ナイロンファイバーカラムで B 細胞, マクロファージを除去後 10^7 /ml の細胞浮遊液を作成し^{8,9)}, effector 細胞とした.

b. target 細胞の調整

マウス NK 感受性 Yac-1 細胞 (理研細胞開発銀行) を用い, FBS 加 RPMI で 10^6 /ml の細胞浮遊液を作成し target 細胞とした.

c. 細胞傷害活性の測定

96 穴 V 底マイクロプレートに FBS 加 RPMI を 140 μ l/well 入れ, effector 細胞 50 μ l/well (5×10^5 /well), target 細胞 10 μ l/well (1×10^4 /well) を triplicate で分注し (E/T=50), プレートを室温で 800 rpm, 5 min 遠心後, 37°C, 5 % CO₂ 下で 4 時間培養し LDH 法で NK 活性を測定した.

effector 細胞を asialo-GM₁ 抗体 (和光純薬) とウサギ補体 (Cedarlane, Ont., USA) とを用いて前処置した実験¹⁰⁾ も実施した.

3. 統計学的処理

生存曲線, median survival time (MST) は Kaplan-Mayer 法で算出し, 一般化 Wilcoxon 検定, Log-Rank 検定をおこなった. 他は Student's t-test, Kruskal-Wallis 検定, Pearson's correlation coefficient を用い, いずれも危険率 5 % 未満を有意差ありとした.

結 果

1. CAM の延命効果

(1) 解析対象症例の背景因子

登録症例 100 例中経過中に手術を施行した 2 例と登録時に他の BRM 製剤の投与を受けていた 3 例の計 5 例を除く 95 例を解析対象症例とした. CAM 投与群 49 例, 非投与群 46 例の背景因子を比較すると, 両群間に性別・年齢・組織型・臨床病期・P.S. には有意差はなく (Table 5), また前治療内容, 抗癌化学療法施行回数, 平均照射線量, 治療効果, 奏効度に有意差は認めなかった (Table 6).

(2) 生存期間

全症例の生存曲線では CAM 投与群で 50 % 生存期間

(median survival time ; MST)が有意に延長した(Log-Rank $p=0.0154$, Wilcoxon $p=0.0313$)(Fig. 1A), 小細胞癌は両群間に有意差を認めなかったが, 非小細胞肺癌ではCAM 投与群で有意に生存期間が延長し, MSTはCAM 投与群で535日, CAM 非投与群では277日であった(Log-Rank $p=0.0012$, Wilcoxon $p=0.0016$)(Fig. 1B). したがって非小細胞癌患者についてのみ以下の3項目の検討を行った.

①組織型別検討

非小細胞癌75例中CAM 投与群は42例, 非投与群は33例で両群間に年齢・性別・組織型・治療内容(抗癌化学療法施行回数, 照射線量)には有意差はなかったが臨床病期ではCAM 投与群でIV期が有意に多かった($p=0.03$)(Table 7), 非小細胞癌を組織型別にみると腺癌・大細胞癌ではCAM 投与群でMSTが有意に延長したが(Log-Rank $p=0.0044$, Wilcoxon $p=0.0036$)(Fig. 2), 扁平上皮癌は両群間に有意差はなかった.

②病期別検討

病期別ではII-III B期はCAM 投与群で有意にMST

が延長するが(Log-Rank $p=0.0034$, Wilcoxon $p=0.044$), IV期では有意差はなかった(Fig. 3). 病期と組織型とではstage III B・IV期の腺癌・大細胞癌はCAM 投与群で有意にMSTが延長するが(Log-Rank $p=0.024$, Wilcoxon $p=0.017$)stage III B・IV期の扁平上皮癌には有意差がなかった. 症例数は少ないがII・III A期の扁平上皮癌はMSTが延長する傾向であった(Log-Rank $p=0.046$, Wilcoxon $p=0.058$)(Fig. 4).

③前治療別検討

入院中の前治療(抗癌治療)との関連は前治療の有無にかかわらず有意にMSTが延長した(Log-Rank $p=0.0014$, Wilcoxon $p=0.0013$; Log-Rank $p=0.039$, Wilcoxon $p=0.034$). 前治療の内容別では化学療法と放射線療法とを併用した症例はCAM 投与群で有意に

Table 5. Characteristics of patients enrolled in a randomized study

		CAM group	non-CAM group	
No. of cases		49	46	
Sex	M	40	39	
	F	9	7	N.S.
Age	~49	3	3	
	~59	5	15	
	~69	24	12	
	~79	16	12	
	80~	1	4	N.S.
Histology	Small	7	13	
	Squamous	24	16	
	Adeno	17	14	
	Large	1	3	N.S.
Stage ¹	II	1	1	
	IIIA	6	5	
	IIIB	18	27	
	IV	24	13	N.S.
P.S. ²	0	7	7	
	1	30	30	
	2	10	9	
	3	2	0	
	4	0	0	N.S.

CAM ; clarithromycin, ¹Determined according to the TNM classification, ²P.S. ; Performance status scored according to the ECOG scale.

Table 6. Comparison of basic therapy for lung cancer between the non-small cell group and the small cell group

Non-small cell			
	CAM group 42 cases	non-CAM group 33 cases	
MVP	8	5	
R+MVP	17	15	
R+PE	1	1	N.S.
R	7	9	
(-)	9	3	
MVP : CDDP+VDS+MMC, PE : CDDP+VP-16, R : radiation			
CR	2	0	
PR	9	10	
NC	21	19	
PD	1	1	
Response rate (%)	33.3	33.3	N.S.
Small cell			
	CAM group 7 cases	non-CAM group 13 cases	
PE	0	1	
CE	3	2	
R+PE	2	5	N.S.
R+CE	2	4	
R	0	1	
PE : CDDP+VP-16, CE : CBDCA+VP-16, R : radiation			
CR	0	1	
PR	5	8	
NC	1	3	
PD	1	1	
Response rate (%)	71.4	69.2	N.S.

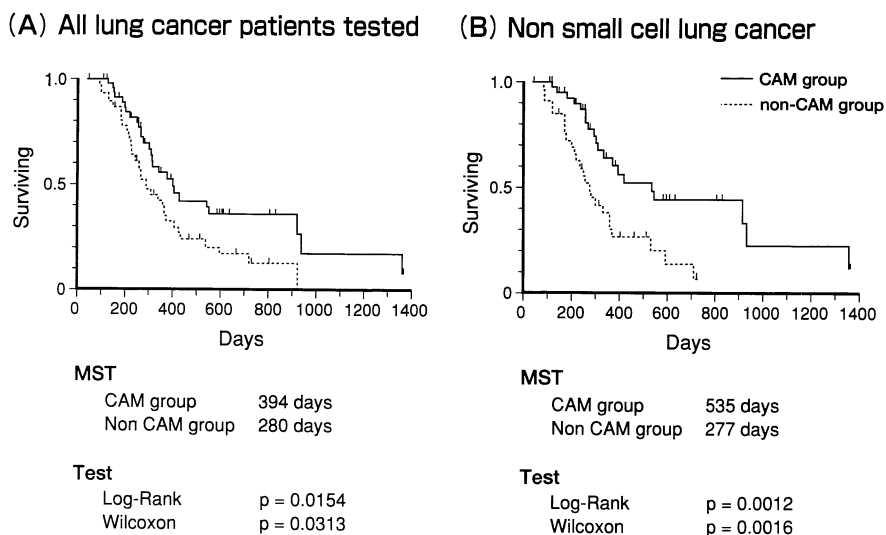


Fig. 1A. Estimates of the median survival time for all lung cancer patients by the Kaplan-Meier method.

1B. Estimates of the median survival time for patients with non-small-cell lung cancer.

A ; Vertical bars indicate patient still alive. Solid line=CAM group (n=49), dotted line=non-CAM group (n=46), B ; Solid line=CAM group (n=42), dotted line=non-CAM group (n=33), MST ; median survival time.

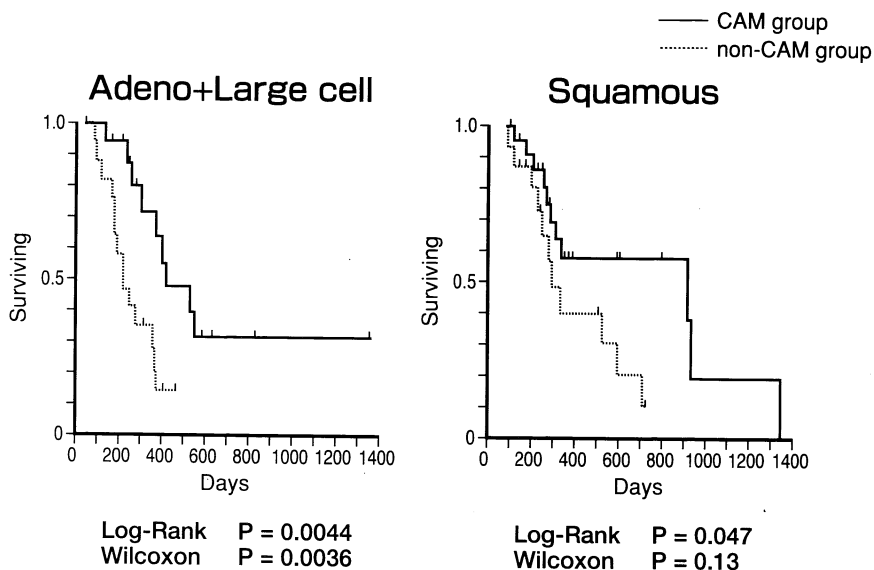


Fig. 2. Estimates of the median survival time for patients classified according to histology. Adeno+Large ; Solid line=CAM group (n=18), dotted line=non-CAM group (n=17), Squamous ; Solid line=CAM group (n=24), dotted line=non-CAM group (n=16).

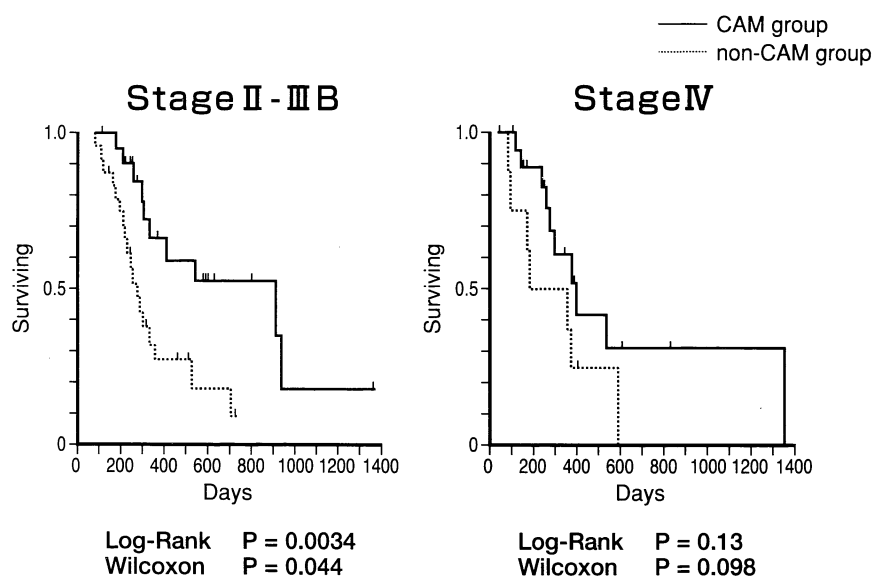


Fig. 3. Estimates of the median survival time for patients classified according to clinical stage. Stage II-III B; Solid line=CAM group (n=22), dotted line=non-CAM group (n=25), Stage IV; Solid line=CAM group (n=20), dotted line=non-CAM group (n=8).

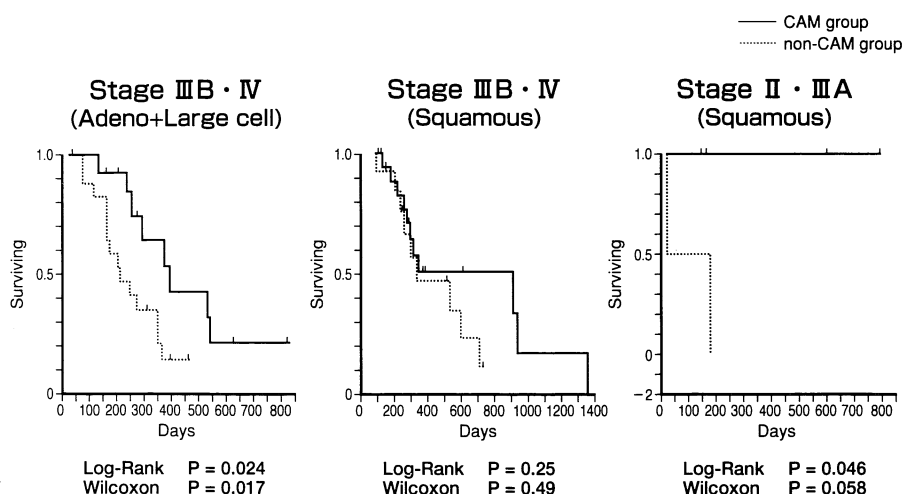


Fig. 4. Estimates of the median survival time for patients classified according to clinical stages and histology.

Stage III B · IV (Adeno+Large cell); Solid line=CAM group (n=15), dotted line=non-CAM group (n=17), Stage III B · IV (Squamous); Solid line=CAM group (n=20), dotted line=non-CAM group (n=14), Stage II · III A (Squamous); Solid line=CAM group (n=4), dotted line=non-CAM group (n=2).

Table 7. Characteristics of patients with non-small cell lung cancer

		CAM group	non-CAM group
No. of cases		42	33
Age		65.93±8.53	63.36±10.54
Sex	M	34	29
	F	8	4
Histology	Squamous	24	16
	Adeno	17	14
	Large cell	1	3
Stage	II	1	0
	IIIA	6	2
	IIIB	15	23
	IV	20	8
Basic therapy	Cycles of chemotherapy	1.7±0.1	1.7±0.2
	Radiation (Gy)	55.6±9.2	52.2±15.6

MST が延長した(Log-Rank $p=0.003$, Wilcoxon $p=0.0082$)(Fig. 5). 治療効果との関連では治療効果にかかわらず, CAM 投与群で MST が有意に延長した(Log-Rank $p=0.014$, Wilcoxon $p=0.027$; Log-Rank $p=0.028$, Wilcoxon $p=0.013$)(Fig. 6).

2. CAM が腫瘍免疫に及ぼす影響

(1) IL-6 に与える影響

①血清中 IL-6

血清中 IL-6 は CAM 投与群で入院時平均 10.9 pg/ml, 抗癌療法終了 4 週後の CAM 投与前は 9.27 pg/ml と高値を呈していたが, CAM 投与 3 カ月後には 4.71 pg/ml と有意に低下していた($p<0.05$). CAM 非投与群では入院時平均 11.7 pg/ml, 登録時 10.4 pg/ml, 登録 3 カ月後 10.9 pg/ml といういずれの時点でも高値を呈していた. 臨床病期・組織型で差は認めなかった(Fig. 7).

②臨床指標と血清中 IL-6 との変動(Δ IL-6)

CAM 投与群で投与 3 カ月後に体重($p<0.01$), コリンエステラーゼ, ヘモグロビン($p<0.05$)は有意に増加した(Table 8). 臨床指標の変動である Δ ChE, Δ TP, Δ ALB, Δ Hb と Δ IL-6 との間に有意な相関は認められなかったが, Δ IL-6 と Δ BW との間には有意な負の相関を認めた($R=0.47$, $p<0.05$)(Fig. 8).

③生存期間と Δ IL-6

生存期間と Δ IL-6 との間には有意な負の相関を認めた($R=0.68$, $p<0.05$). 組織型・臨床病期で差はなかった(Fig. 9).

(2)末梢血単核球中 IL-12 mRNA

CAM 投与例の症例 1 では, 投与前は IL-12 p 35 のみ

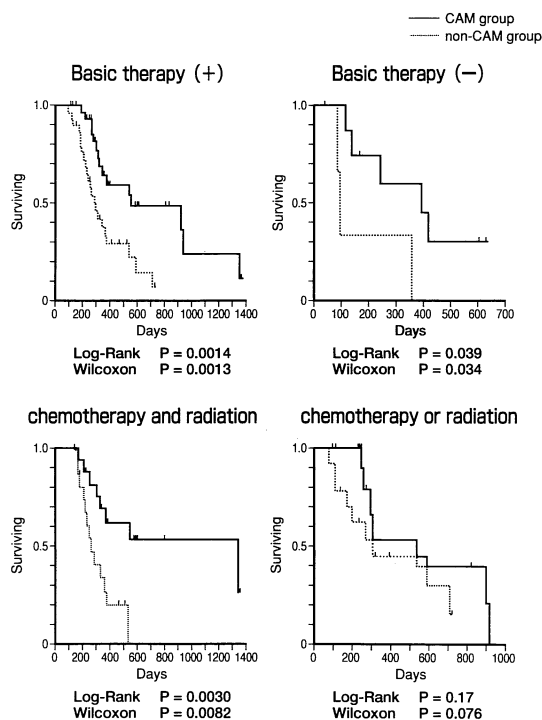


Fig. 5. Estimates of the median survival time for patients classified according to basic therapy. Basic therapy (+); Solid line=CAM group ($n=33$) dotted line=non-CAM group ($n=30$), Basic therapy (-); Solid line=CAM group ($n=9$), dotted line=non-CAM group ($n=3$), chemotherapy and radiation; Solid line=CAM group ($n=18$), dotted line=non-CAM group ($n=16$), chemotherapy or radiation; Solid line=CAM group ($n=15$), dotted line=non-CAM group ($n=14$),

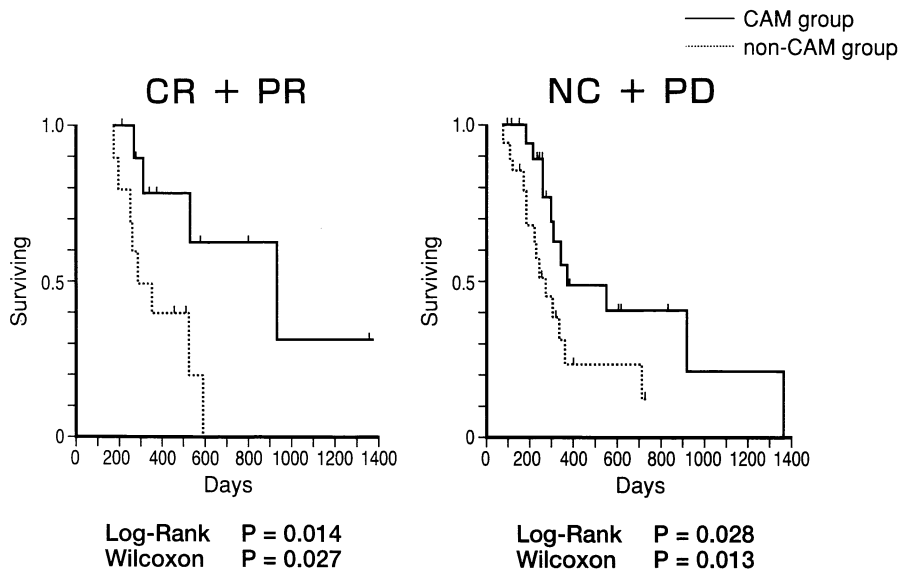


Fig. 6. Estimates of the median survival time for patients classified according to response to basic therapy. CR+PR; Solid line=CAM group (n=11), dotted line=non-CAM group (n=10), NC+PD; Solid line=CAM group (n=22), dotted line=non-CAM group (n=20).

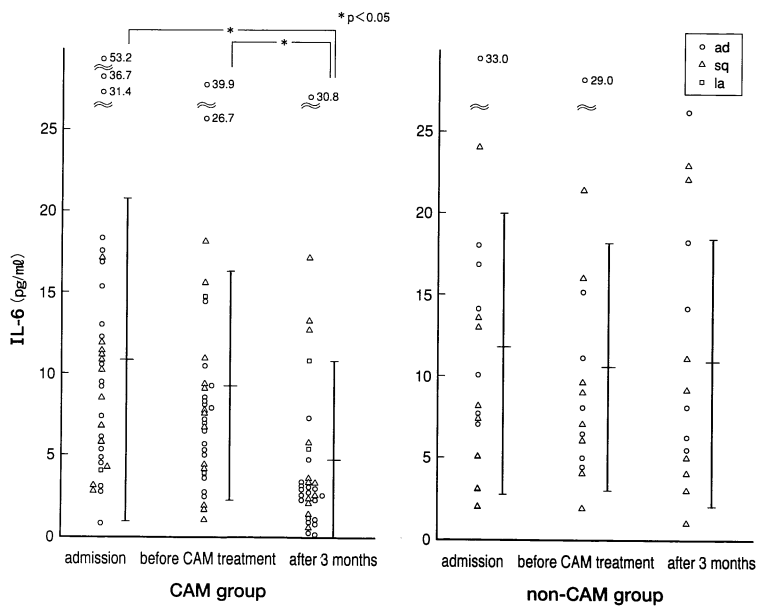


Fig. 7. Change in serum IL-6 levels before and after clarithromycin treatment. ad; adenocarcinoma, sq; squamous cell carcinoma, la; large cell carcinoma.

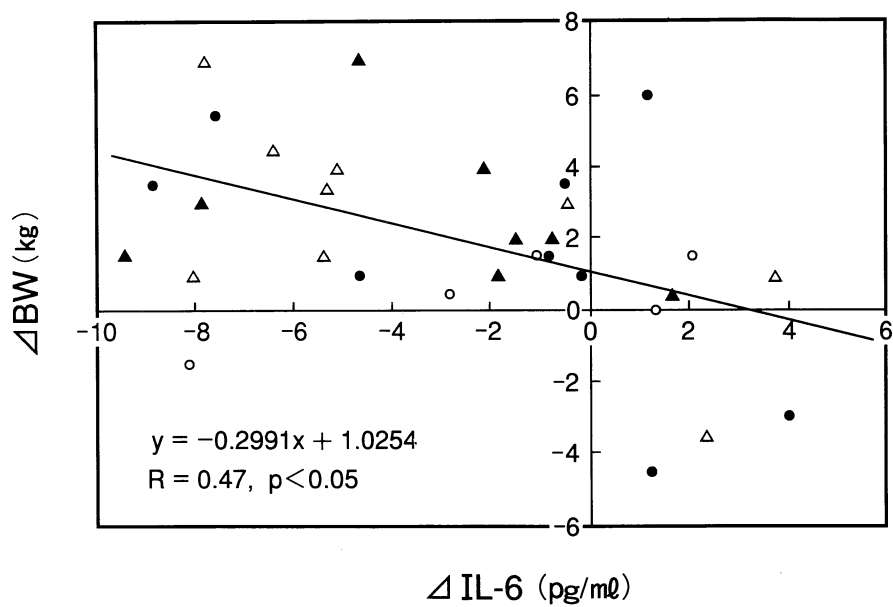


Fig. 8. Relationship between ΔBW and $\Delta IL-6$.

\triangle squamous cell carcinoma under stage III, \circ adenocarcinoma and large cell carcinoma under stage III, \blacktriangle squamous cell carcinoma under stage IV, \bullet adenocarcinoma and large cell carcinoma under stage IV. $\Delta IL-6$ was negatively correlated with ΔBW .

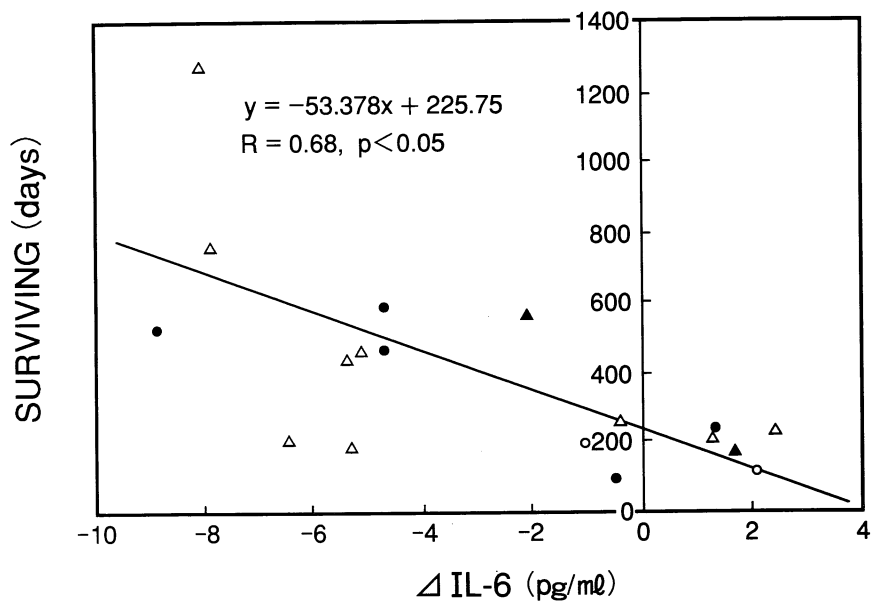


Fig. 9. Relationship between survival times and $\Delta IL-6$.

$\Delta IL-6$ was negatively correlated with survival times.

発現したが IL-12 p 40 は発現せず, CAM 投与 3 カ月後には IL-12 p 40 も発現した(Fig. 10). 一方, CAM 非投与例の症例 11 では登録 3 カ月後も IL-12 p 40 mRNA は発現しなかった(Fig. 11).

IL-12 p 35 mRNA は CAM 投与, 非投与にかかわらず全例に常に発現していた. IL-12 p 40 mRNA は CAM 投与前には 10 例中 2 例(20 %)に発現したのみであったが,

投与 3 カ月後には 10 例中 9 例(90 %)に発現した. CAM 非投与 2 例ではいずれの時点でも発現しなかった(Table 9).

(3)局所腫瘍組織 IL-12 および INF- γ mRNA

局所腫瘍組織で INF- γ mRNA は CAM 投与 4 例全例に発現し IL-12 p 40 mRNA は症例 4 の 1 例に発現したが, CAM 非投与例では INF- γ , IL-12 p 40 mRNA は

Table 8. Change in the level of clinical parameters in non-small cell lung cancer patients after CAM treatment

		CAM group		non-CAM group	
		before treatment	at 3 months	before treatment	at 3 months
Body weight	(kg)	50.6 \pm 8.13	54.5 \pm 9.51**	50.9 \pm 7.01	52.0 \pm 8.12
Cholinesterase	(IU/l)	436 \pm 151	462 \pm 171*	404 \pm 162	399 \pm 149
Total protein	(g/dl)	7.07 \pm 0.597	7.10 \pm 0.741	7.10 \pm 0.482	7.29 \pm 0.661
Albumin	(g/dl)	3.82 \pm 0.438	3.91 \pm 0.563	3.95 \pm 0.410	3.98 \pm 0.701
Hemoglobin	(g/dl)	10.8 \pm 1.37	12.2 \pm 1.77*	11.2 \pm 1.01	11.7 \pm 1.08

Data are expressed as mean \pm SD. *p<0.05 compared with before CAM treatment, ** p<0.01 compared with before CAM treatment.

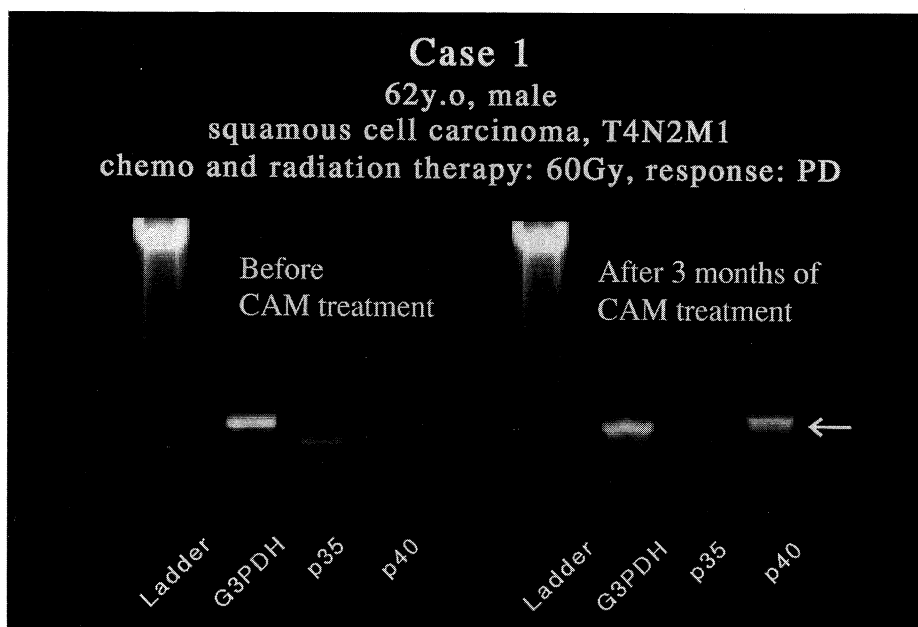


Fig. 10. Expression of IL-12 mRNA in RNA extracted from peripheral blood mononuclear cells with clarithromycin treatment. After 3 months of clarithromycin treatment, IL-12p40 mRNA was detected (arrow).

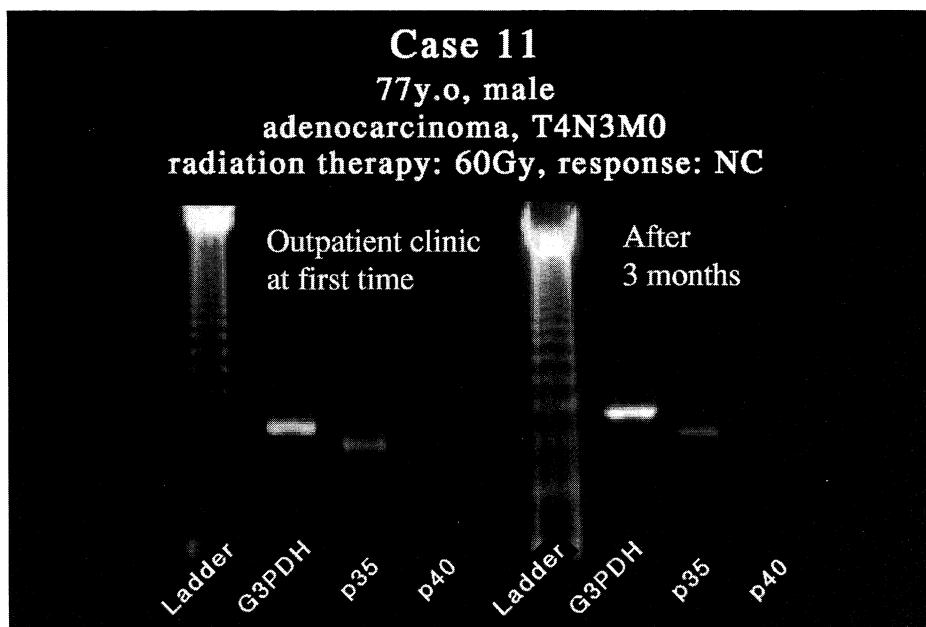


Fig. 11. Expression of IL-12 mRNA in RNA extracted from peripheral blood mononuclear cells without clarithromycin treatment, IL-12p40 mRNA was not detected at any time in patient without CAM treatment.

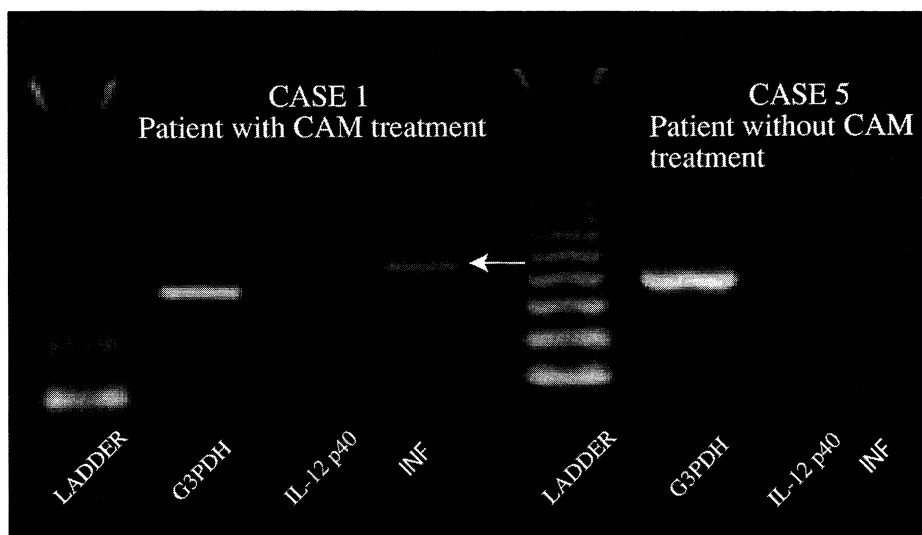


Fig. 12. Expression of IL-12p40 and INF- γ mRNAs in RNA extracted from tumor tissues of non-small cell lung cancer patients with and without clarithromycin treatment. After 1 month of CAM treatment, INF- γ mRNA was detected (arrow). INF- γ mRNA was not detected in a patient without CAM treatment.

発現しなかった。また腫瘍を含まない周辺肺組織ではCAM投与、非投与にかかわらずINF- γ およびIL-12 p40 のmRNA は発現しなかった(Fig. 12)(Table 10)。

(4) NK 活性に与える影響

1) 非小細胞肺癌患者におけるNK活性の変動

a. CAM投与前後のNK活性の比較

CAM投与前後で比較するとCAM投与1ヵ月後には投与前と比較してNK活性が上昇する傾向で臨床病期別はIII期の症例で(Fig. 13), 組織型別は扁平上皮癌で(Fig. 14), 前治療別は放射線治療単独で(Fig. 15), 治療効果別はPR群で(Fig. 16)有意に上昇していた($p < 0.05$)。CAM投与前と投与3ヵ月後とは有意差はなかった。

2) マウス肺癌モデルにおけるCAM至適用量とNK活性に与える影響

① CAM至適用量の検討(Fig. 17)

a. 腫瘍体積

腫瘍接種後16日目の腫瘍体積はCAM投与量10 mg/kg/dayの群でVC群とUC群とに比して有意に少なかった($p < 0.05$)。

b. 腫瘍重量

腫瘍重量は5-10 mg/kg/dayの群で腫瘍増殖抑制効果がみられたが, 10 mg/kg/dayで最も効果が強かった($p < 0.05$)。

② NK活性に与える影響と投与時期との検討

a. 腫瘍体積

Table 9. Expression of mRNAs for IL-12 p35 and p40 in RNA extracted from peripheral blood mononuclear cells of clarithromycin-treated patients

	CAM group		non-CAM group	
	before CAM treatment	after 3 months of CAM treatment	at first time	after 3 months
IL-12 p35	10/10 (100%)	10/10 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)
IL-12 p40	2/10 (20%)	9/10 (90%)	0/2 (0%)	0/2 (0%)

Table 10. Expression of mRNAs for IL-12 and INF- γ in RNA extracted from tumor tissues of clarithromycin-treated patients

		no. of positive cases/total	
		mRNA	
CAM group	tumor tissue	4/4 (100%)	1/4 (25%)
	lung tissue without tumor	0/4 (0%)	0/4 (0%)
non-CAM group	tumor tissue	0/4 (0%)	0/4 (0%)
	lung tissue without tumor	0/8 (0%)	0/8 (0%)

Table 11. Effect to CAM treatment following chemotherapy on NK activity of splenic nonadherent cells of tumor-bearing mice

Treatment of tumor-bearing mice	NK activity (%) ^a			
	Days after tumor inoculation			
	-1	7	14	21
Untreated control	5.7 \pm 1.4	8.6 \pm 2.3	12.3 \pm 4.5	— b
Mice receiving chemotherapy (day 7)				
1. Without CAM treatment	—	—	6.3 \pm 2.2	19.4 \pm 4.8
2. CAM treatment from day 7	—	—	15.7 \pm 5.9	23.6 \pm 6.2
3. CAM treatment from day 14	—	—	—	43.6 \pm 7.2

a. Splenic nonadherent cells enriched by nylon wool columns were mixed with YAC-1 cells at a E/T=50. Data were obtained from three different experiments and expressed as the mean \pm SD.

b. — : not tested c. $p < 0.05$ d. not significant

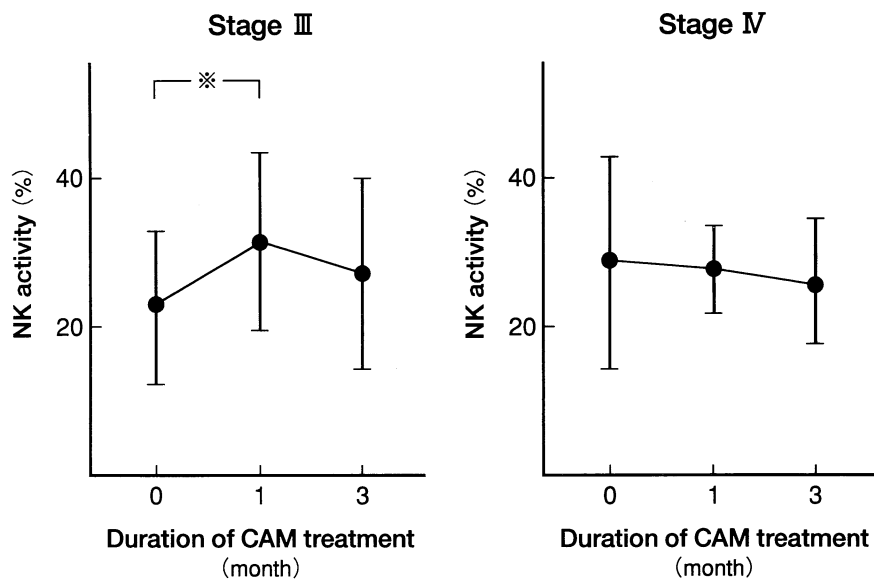


Fig. 13. Comparison of changes in NK activity during CAM treatment between stages III and IV.

* $p < 0.05$ compared with before CAM treatment.

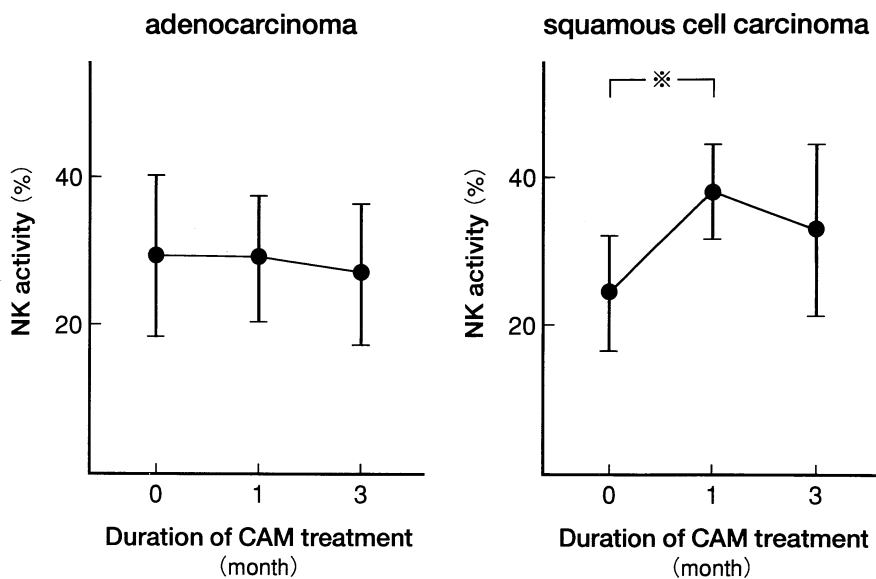


Fig. 14. Comparison of changes in NK activity during CAM treatment between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma.

* $p < 0.05$ compared with before CAM treatment.

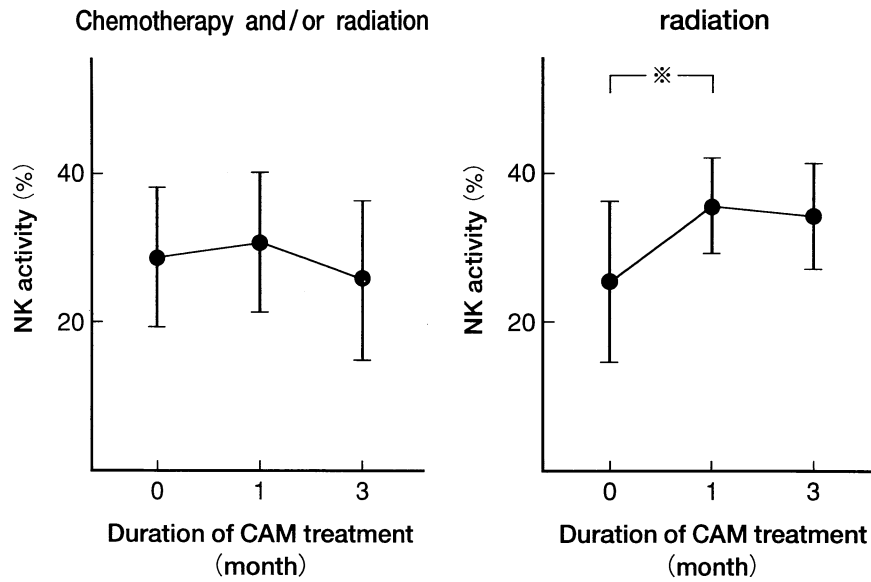


Fig. 15. Comparison of changes in NK activity during CAM treatment between combined chemotherapy and radiotherapy alone.
* $p < 0.05$ compared with before CAM treatment.

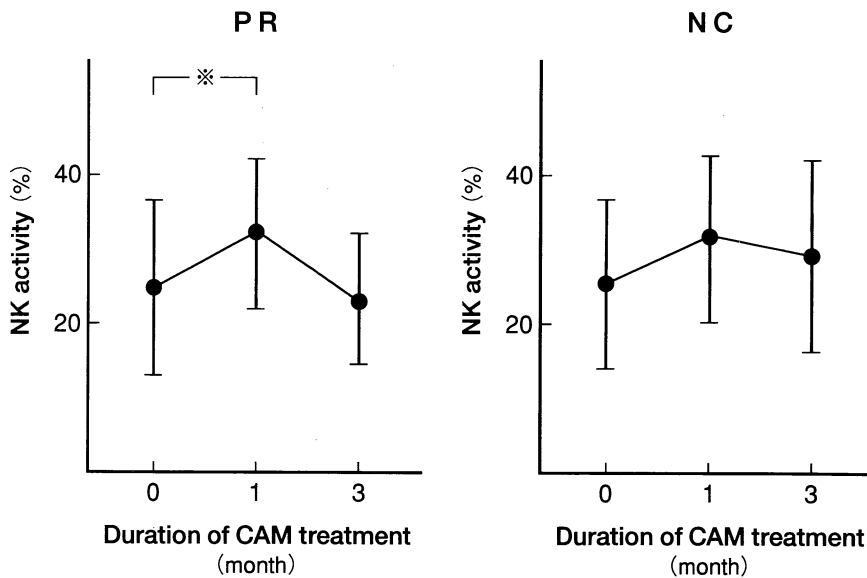


Fig. 16. Comparison of changes in NK activity during CAM treatment between PR and NC groups.
* $p < 0.05$ compared with before CAM treatment.

抗癌薬の投与をうけた VC 群は CAM も抗癌薬も投与をうけなかった UC 群と比して day 14, 21 で有意に腫瘍増殖が抑制された ($p < 0.01$). CAM 同時併用群と VC 群との間には有意差はなかったが, CAM 時間差投与群では VC 群と比較して day 21, 25, 28 で有意に増殖が抑制されていた ($p < 0.01$), また CAM 時間差投与群は CAM 同時併用群に比べても腫瘍増殖が day 25, 28 で有意に抑制されていた ($p < 0.05$) (Fig. 18).

b. NK 活性

UC 群に比して VC 群の NK 活性は抗癌薬静注後 7 日目 (day 14) に有意に低下していたが ($p < 0.05$), CAM 同時併用群では NK 活性は UC 群と差はなく, VC 群より有意に高かった ($p < 0.05$), しかし, 抗癌薬静注後 14 日目 (day 21) では VC 群と CAM 同時併用群との間には有意差は認めなかった. 一方, 抗癌薬静注後 7 日目 (day 14) から CAM 投与を開始した CAM 時間差投与群では day 21 でも VC 群, 同時併用群と比較して有意に NK 活性は高値であった ($p < 0.05$) (Table 11). また day 21 の時間差投与群脾細胞を asialo-GM₁ 抗体と補体とで前処理す

ると NK 活性値は $9.4 \pm 2.3\%$ と低下した.

考 察

CAM は 14 員環マクロライド系抗菌薬で, びまん性汎細気管支炎などの慢性下気道感染症に有効性が認められている^{11,12}. 臨床的解析からマクロライド薬が抗菌力以外に種々の作用を有していることが明らかにされ注目されている. 著者ら²⁾は EM・CAM が BRM 活性を有し, 担癌マウスを用いた実験系で EM・CAM に抗腫瘍活性があることを報告している.

一方, 肺癌は診断確定時に手術不能例が多く, 特に非小細胞肺癌は既存の化学療法だけでは強い副作用と低い奏効率に加え生存期間の延長もわずかで, quality of life (QOL) の向上を目指した新たな治療法の確立が待たれている^{13,14,15}.

寺本⁷⁾は BRM 作用を期待して 80 例の進行期非小細胞肺癌患者に CAM を投与し有用性を報告した. 今回, 著者は小細胞肺癌患者 20 例を含めた 100 例の肺癌患者の詳細な延命効果の解析を行った. 適格症例 95 例で

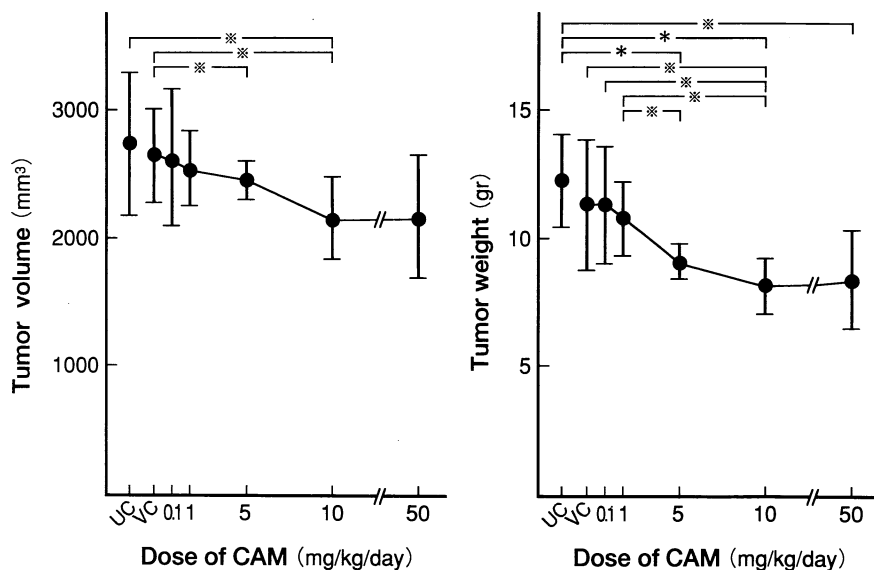


Fig. 17. Effect of CAM on the growth of LLC tumors.

The tumor volume and weight were significantly lower ($*p < 0.05$, $*p < 0.01$) in mice which received CAM in the dose range of 5-10 mg/kg, compared with those in both control mice. UC; untreated control, VC; vehicle control.

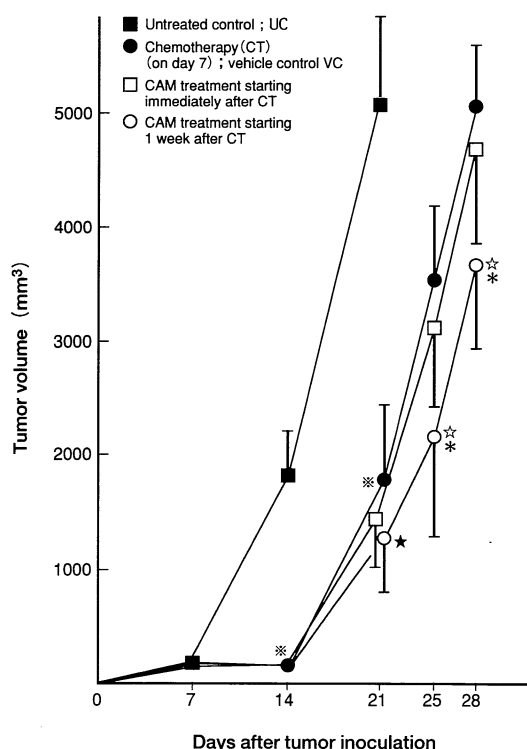


Fig. 18. Antitumor effect of the combination treatment of chemotherapy and clarithromycin. Chemotherapy (CT) retarded the growth of Lewis lung carcinoma on days 25 and 28, compared with that in untreated mice ($p < 0.01$). CAM treatment starting from day 14 enhanced this chemotherapeutic effect significantly ($p < 0.01$) on days 25 and 28. In contrast, CAM treatment starting from day 7 did not significantly enhance this chemotherapeutic effect. ※; $p < 0.01$, compared with untreated control, ☆; $p < 0.01$, compared with vehicle control, ★; $p < 0.05$, compared with vehicle control, *; $p < 0.05$, compared with mice receiving CT followed by CAM treatment from day 7.

CAM 投与群で有意に生存期間が延長した。組織型では小細胞癌はCAM 投与群と非投与群とに有意な差は認められなかったが、非小細胞癌の生存期間はCAM 投与群で有意に延長した。小細胞癌で延命効果がみられなかった理由は明らかでないが、小細胞癌はkultschitzky細胞由来とされ、非小細胞癌とは発生母細胞が異なることが一つの理由と推察された。また小細胞癌は化学療法に感受性が高く、化学療法と生存期間とにある程度の相関がみられ生存期間の延長が可能となってきた。未だ有用な治療法が確立していない進行期非小細胞肺癌に有効であったのは貴重な成績であった。

今回の研究の重要課題の第一は非小細胞肺癌のどのような症例にCAM が有効であることを明らかにすることである。その結果、非小細胞癌の中でもCAM の延命効果は腺癌・大細胞癌で優れており、臨床病期が早期であるほど有効である。また入院中の前治療との関連は前治療が無くとも延命効果が認められたが、前治療施行例では治療効果にかかわらずCAM でより優れた延命効果が認められ、治療内容別には特に化学療法と放射線療法との併用群で良好な成績を得ている。抗癌治療、特に抗癌化学療法が宿主の免疫系にも作用して修飾し、担癌生体の癌組織の免疫逃避機構を抑制・打破してBRM 療法の効果をさらに増強するという報告がある。細川ら^{16,17)}は比較的低用量の抗癌薬が癌細胞の抗原性を増強したり、T細胞やマクロファージの免疫抑制因子産生を減弱させ、また癌細胞で誘導されるサプレッサーT細胞の活性を抑制し、抗腫瘍性エフェクター細胞の機能が增強されることを報告している。現在までにcyclophosphamide, bleomycin, mitomycin, adriamycin等でこれらの作用が確認されている。これらはCAM の延命効果の階層別解析の結果で、前治療施行後にCAM を投与すると治療効果にかかわらず良好な成績が得られたことの一つの説明となる可能性がある。

第二の重要課題はなぜCAM が有効であるかということである。著者ら^{18,19)}は慢性下気道感染症患者でCAM がIL-12, IL-4の産生を亢進させ、NK活性を上昇させることを報告している。これらのサイトカインやNK細胞は感染免疫のみならず腫瘍免疫にも重要な役割を担っている。Ehrlich ascites carcinomaやp 388 Leukemiaを用いたマウスモデルで、EM がIL-4を介してマクロファージを活性化し抗腫瘍効果を発現することを濱田ら²⁾は明らかにしたが、ヒト肺癌での有用性は不明である。寺本ら²⁰⁾は非小細胞肺癌患者でCAM 投与でQOL が向上し、各種臨床指標の改善や体重の増加傾向が認められ、癌悪液質の進行を阻止している可能性を報告している。

現在、癌悪液質の成因には様々なサイトカインの関与が考えられているが、最初に癌患者や慢性感染症で宿主に悪液質を引き起こすモノカインとして cachectin が発見されている²¹⁾。これは広範な生物活性を有する腫瘍壊死因子 TNF- α と同一物質であることがその後明らかにされている²²⁾。それ以後、cachectin/TNF- α はマクロファージが産生する癌悪液質のメディエーターとして注目されるようになっていく²³⁾。しかし B 細胞の分化因子としてクローニングされた IL-6 も非常に多彩な生物活性を有し²⁴⁾、最近では TNF- α や IL-1 等の他のサイトカインで産生が誘導された IL-6 が直接的な悪液質誘導物質と報告されている^{25,26)}。未治療の肺癌患者で血清中 IL-6 は高値を示し低アルブミン血症との関連が既に明らかにされている²⁷⁾。本研究の対象患者でも、抗癌治療後も非小細胞肺癌患者の血清中 IL-6 が依然高値で癌悪液質の進行に関与していることが示唆される。しかし CAM 投与開始 3 カ月後には IL-6 は有意に低下し、体重および血中コリンエステラーゼ値やヘモグロビン値の有意な改善をみている。一方 CAM 非投与群ではいずれも有意な変動を認めていない。また、CAM 投与前後の IL-6 の変動値 (Δ IL-6) は組織型にかかわらず体重、生存期間と有意な負の相関を示す。悪性疾患中悪性リンパ腫等では IL-6 が予後因子となりうるということが報告された²⁸⁾ が、今回の検討で CAM は非小細胞肺癌患者の血清 IL-6 値を低下させ悪液質を改善し、 Δ IL-6 は CAM 投与非小細胞肺癌患者の延命効果の指標となりうるということが示唆される。

IL-12 は分子量 35 kD の subunit p 35 と 40 kD の subunit p 40 とが分子内ジスルフィド結合した異形二量体の糖蛋白で、両 subunit の発現で生物活性を示すとされている。また IL-12 は natural killer stimulatory factor (NKSF) と呼ばれ、主にマクロファージから産生され NK 細胞の活性化や T-helper 1 細胞からの INF- γ 産生を誘導して抗腫瘍効果を示すと考えられている²⁹⁾。これまでマクロライド薬がサイトカイン mRNA に及ぼす影響は種々報告されているが、喜多ら³⁰⁾ は CAM 長期投与マウスの脾細胞から抽出した RNA 中の各種サイトカイン mRNA の発現変化を RT-PCR 法で検討している。それによると各種サイトカイン mRNA 合成は一定の間隔で亢進・抑制が生じているが、 β actin mRNA には変化が認められないので誘導性蛋白のみをマクロライド薬が調節する可能性を報告している。今回の検討で CAM 投与 3 カ月後に患者末梢血単核球中 IL-12 p 40 mRNA の発現が増強したことから、CAM が末梢血単核球 p 40 産生を誘導し宿主免疫能を賦活化して

いる可能性が示唆される。一方、癌病巣局所では CAM 投与例で INF- γ mRNA の発現をみたが CAM 非投与例では認められず、また腫瘍を含まない周辺肺組織にも IL-12 や INF- γ の mRNA の発現は認められない。非小細胞肺癌の腫瘍周辺部では Th 2 ヘルパー細胞優位に免疫系がシフトしており³¹⁾、また腫瘍内に浸潤しているマクロファージ、T 細胞からはほとんど INF- γ mRNA は発現されない³²⁾ という免疫逃避機構が成立しているが、今回の結果からは腫瘍組織に浸潤した免疫エフェクター細胞からの INF- γ 産生を CAM が誘導している可能性が考えられ、抗腫瘍活性の一要因と推察される。

一般に腫瘍の増大に伴い NK 活性は低下し^{33,34)}、また抗癌薬治療後も著しく低下する^{35,36)} と報告された。しかし、今回の検討では抗癌治療後 CAM 投与で NK 活性は上昇傾向を示し、CAM は低下した生体防御能を賦活化して非小細胞肺癌患者の延命に寄与する可能性が考えられた。IV 期症例では一定の傾向がみられないが、転移を生じると免疫学的監視機構が破綻し NK 活性が低下するとの報告³⁷⁾ があり、このような状態では宿主に対する CAM の BRM 作用も期待できないことが推察された。抗癌薬投与終了 4 週後の CAM 投与前と投与 1 カ月後との NK 活性を比較すると臨床病期は III 期で、組織型別は扁平上皮癌、前治療は放射線治療単独、前治療効果は PR 群でより有効であった。上述した非小細胞肺癌に対する CAM の延命効果の解析でも IV 期患者の成績は芳しくなく、臨床病期が早期で前治療効果のよい症例ほど延命効果が期待できた。

CAM の肺癌に対する有効性の第三課題は至適投与量や至適投与時期であった。マウス肺癌モデルによる検討では CAM 投与量は、ほぼ臨床使用量と同量の 10 mg/kg/day で最大効果を発揮し、CAM と抗癌薬を併用するより、抗癌薬投与 7 日後から CAM 投与を行う方が腫瘍増殖抑制効果が強く、抗癌治療で低下した NK 活性も速やかに有意に上昇することが明らかとなった。前田ら³⁸⁾ は alloxan で作成した糖尿病マウス、すなわち生体防御能が低下した動物で CAM が炎症反応に与える影響を検討した。糖尿病マウスに 14 日間 CAM を前投与すれば糖尿病マウスでは低下していた炎症反応が健常マウスに近い水準に回復し、非糖尿病マウスでは炎症反応が逆に抑制されるという dual effect があり、マクロライド薬の作用は宿主の免疫能で変化することをザイモザン腹膜炎モデルを用いて明らかにした。この結果からも CAM を前治療(抗癌治療)終了後に投与すれば回復過程にある宿主免疫能をより強く賦活することが推察された。

以上から CAM は抗癌治療を受けた、病期のあまり進

行していない担癌宿主で悪液質抑制と免疫系賦活化とから延命に寄与すると考えられ、今までにない新しい作用を有する肺癌治療の補助薬となる可能性が示唆された。

結 語

切除不能原発性肺癌患者100例に対するCAMのrandomized control studyの生存期間の階層別解析を行った。またCAM投与前後で血清中IL-6、末梢血単核球と腫瘍局所のIL-12およびINF- γ mRNAおよびNK活性を測定した。マウス肺癌モデルを用いCAM投与時期、至適投与量を検討した。

(1)生存期間の階層別解析では、非小細胞肺癌患者中組織型別は腺癌、臨床病期別はIII期、前治療を施行した症例でより優れた延命効果を示した。

(2)非小細胞肺癌患者はCAM投与で血清中IL-6が有意に低下し、各種臨床指標は有意に改善した。CAM投与前後のIL-6の変動(Δ IL-6)は体重の変動と生存期間と負の相関を有し、 Δ IL-6はCAM投与非小細胞肺癌患者の予後因子となることを明らかにした。

(3)CAM投与で末梢血単核球中IL-12 mRNAが誘導され、腫瘍局所ではINF- γ が誘導される可能性を示唆した。

(4)非小細胞肺癌患者のNK活性はCAM投与1ヵ月後に上昇する傾向で特に臨床病期III期、扁平上皮癌、前治療効果の良好な症例で有意に上昇した。

(5)マウス肺癌モデルでCAMは抗癌薬と同時併用するより抗癌薬投与後一定期間において投与する方が抗腫瘍活性が増強し、CAM至適投与量は10 mg/kg/dayであった。

以上からCAM投与非小細胞肺癌患者では病期が早期で前治療を施行された症例に有効例が多いことを臨床的に初めて明らかにし、実験的には抗癌治療後一定期間において投与を行うと有効性が高く、CAM至適投与量は10 mg/kg/dayであるという新しい知見を得た。

尚、本論文の要旨の一部は第44回日本化学療法学会総会(1996年6月、鹿児島)、第45回日本化学療法学会総会(1997年6月、東京)、第46回日本化学療法学会総会(1998年6月、和歌山)、第37回日本肺癌学会総会(1996年11月、千葉)、第38回日本肺癌学会総会(1997年11月、仙台)、第36回日本胸部疾患学会総会(1996年4月、宇都宮)、第38回日本呼吸器学会総会(1998年3月、熊本)、第55回日本癌学会ワークショップ(1996年10月、横浜)、第56回日本癌学会(1997年10月、京都)、第34回日本癌治療学会(1996年10月、横浜)、第20回国際化学療法学会(1997年7月、シドニー、オーストラリア)、

第8回世界肺癌学会(1997年8月、ダブリン、アイルランド)で発表した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました奈良県立医科大学内科学第二講座成田亘啓教授、細菌学講座喜多英二教授に深甚なる謝意を捧げるとともに御校閲、御助言を賜りました腫瘍病理学講座小西陽一教授に深謝申し上げます。さらに研究の遂行について終始御指導を頂いた故澤木政好助教授、三笠桂一助手に深謝いたします。また、日々御協力頂いた内科学第二講座および細菌学講座諸兄姉に深謝いたします。

文 献

- 1) 澤木政好, 三上理一郎, 三笠桂一, 国松幹和, 伊藤新作, 成田亘啓: 慢性下気道感染症におけるErythromycin長期化学療法の検討。感染症誌。60: 37-50, 1986。
- 2) Hamada, K., Kita, E., Sawaki, M., Mikasa, K. and Narita, N.: Antitumor effect of erythromycin in mice. Chemotherapy 41: 59-60, 1995。
- 3) Mikasa, K., Sawaki, M., Kita, E., Hamada, K., Teramoto, S., Sakamoto, M., Maeda, K., Konishi, M. and Narita, N.: Significant survival benefit to patients with advanced non-small cell lung cancer from treatment with clarithromycin. Chemotherapy 43: 288-296, 1997。
- 4) Anderson, R.: Erythromycin and roxithromycin potentiate human neutrophil locomotion in vitro by inhibition of leukoattractant-activated superoxide generation and autooxidation. J. Infectious Dis. 159: 966-973, 1989。
- 5) Frascini, F., Scaglione, F., Ferrara, O., Braga, P. C. and Teodori, F.: Evaluation of the immunostimulating activity of erythromycin in man. Chemotherapy 32: 286-290, 1986。
- 6) van Rensburg, C. E. J., Anderson, R., Joone, G., van der Merwe, M. and van Rensburg, A. J.: Effect of erythromycin on cellular and humoral immune functions in vitro and in vivo. J. Antimicrob. Chemotherapy 8: 467-474, 1981。
- 7) 寺本正治: 非小細胞肺癌に対するBiological response modifierとしてのclarithromycin長期投与の臨床的検討, 奈医誌。48: 383-391, 1997。
- 8) Julius, M., Simpson, E. and Herzenberg, L.: A

- rapid method for the isolation of functional thymus-derived murine lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* **3**: 645-649, 1973.
- 9) Kita, E., Nishikawa, F., Yagyu, Y. and Kashiba, S.: Nonspecific stimulation of host defense by *Corynebacterium kutscheri*. I. Antitumor effect. *Nat. Immun. Cell Growth Regul.* **8**: 313-324, 1989.
 - 10) Kita, E., Emoto, M., Oku, D. and Nishikawa, F.: Nonspecific stimulation of host defense by *Corynebacterium kutscheri*. II. Isolation of the active moiety. *Nat. Immun. Cell Growth Regul.* **9**: 387-396, 1990.
 - 11) 武田博明, 三浦 洋, 川平昌秀, 小林宏行, 小友進, 中池司朗: びまん性汎細気管支炎に対する TE-031 長期投与の検討. *感染症誌.* **63**: 71-78, 1989.
 - 12) 三笠桂一, 澤木政好, 喜多英二, 古西 満, 前田光一, 濱田 薫, 竹内章治, 坂本正洋, 辻本正之, 国松幹和, 櫻葉周三, 成田亘啓: Erythromycin 無効の慢性下気道感染症に対する clarithromycin 長期化学療法の検討. *日化療会誌.* **43**: 430-435, 1994.
 - 13) Marino, P., Pampallona, S., Preatoni, A., Cantoni, A. and Invernizzi, F.: Chemotherapy vs supportive care in advanced non-small cell lung cancer. *Chest* **106**: 861-865, 1994.
 - 14) Souquet, P. J., Chauvin, F., Boissel, J. P., Cellerino, R., Cormier, Y., Ganz, P. A., Kaasa, S., Pater, J. L., Quoix, E., Rapp, E., Tumarello, D., Williams, J., Woods, B. L. and Bernard, J. P.: Polychemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Lancet* **342**: 19-21, 1993.
 - 15) Grill, R., Oxan, A. D. and Julian, J. A.: Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* **11**: 1866-1872, 1993.
 - 16) 細川真澄男, 袁 嵐: BRM と化学療法. *Biotherapy*, **10**: 574-580, 1996.
 - 17) 細川真澄男: 癌化学療法剤による免疫修飾. *日臨免会誌.* **15**: 530-537, 1992.
 - 18) 前田光一, 澤木政好, 喜多英二, 三笠桂一, 古西満, 寺本正治, 森 啓, 坂本正洋, 辻本正之, 竹内章治, 濱田 薫, 国松幹和, 成田亘啓: 慢性下気道感染症におけるマクロライド薬投与によるサイトカインの変動. *日化療会誌.* **43**: 825-829, 1995.
 - 19) 三笠桂一, 澤木政好, 古西 満, 江川信一, 米田尚弘, 柳生善彦, 藤村昌史, 濱田 薫, 国松幹和, 成田亘啓: 慢性下気道感染症患者におけるエリスロマイシン治療の Natural killer 細胞活性に与える影響について. *感染症誌.* **63**: 811-815, 1989.
 - 20) 寺本正治, 三笠桂一, 澤木政好, 濱田 薫, 古西満, 前田光一, 坂本正洋, 辻本正之, 森 啓, 喜多英二, 成田亘啓: 原発性肺癌患者に対する clarithromycin 長期投与の検討——臨床的指標に与える影響について——. *日化療会誌.* **6**: 451-458, 1996.
 - 21) Kawakami, M. and Cerami, A.: Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase activity. *J. Exp. Med.* **154**: 631-639, 1981.
 - 22) Beutler, B., Greenwold, D., Hulmes, J. D., Chang, M., Pan, Y. C. E., Mathison, J., Ulevithch, R. and Cerami, A.: Identity of tumor necrosis factor and the macrophage-secreted factor, cachectin. *Nature* **316**: 552-554, 1985.
 - 23) Tracy, K. J., Wei, H. and Manogue, K. R.: Cachectin/TNF induces cachexia, anemia and inflammation. *J. Exp. Med.* **167**: 1211-1227, 1988.
 - 24) 中嶋弘一, 平野俊夫: IL-6 の基礎と臨床. *癌と化学療法.* **18**: 505-514, 1991.
 - 25) Stassman, G., Fong, M., Kenney, J. S. and Jacob, C. O.: Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *J. Clin. Invest.* **89**: 1681-1684, 1992.
 - 26) Strassman, G., Jacob, C. O., Evans, R., Beall, D. and Fong, M.: Mechanism of experimental cancer cachexia. *J. Immunol.* **148**: 3674-3678, 1992.
 - 27) Yanagawa, H., Sone, S., Takahashi, Y., Haku, T., Shinohara, T. and Ogura, T.: Serum levels of interleukin 6 in patients with lung cancer. *Br. J. Cancer* **71**: 1095-1098, 1995.
 - 28) Seymour, J. M., Talpaz, M., Cabanillas, F., Wetzler, M. and Kurzrock, R.: Serum interleukin 6 levels correlate with prognosis in diffuse large-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.* **13**: 575-582, 1995.
 - 29) 小川 真, 藤原大美: IL-12 の抗腫瘍作用. *感染・炎症・免疫.* **26**: 20-27, 1996.
 - 30) 喜多英二, 澤木政好, 三笠桂一: マクロライド剤のサイトカイン産生に対する影響. *炎症と免疫.* **3**: 68-73, 1995.
 - 31) Huang, M., Wang, J., Lee, P., Sharma, S., Mao, J. T., Meissner, H., Ueyama, K., Modlin, R., Wollman, J. and Dubinett, S. M.: Human non-

- small cell lung cancer express a type 2 cytokine pattern. *Cancer Res.* **55**: 3847-3853, 1995.
- 32) **Gingras, M. C., Roussel, E., Roth, J. A. and Moser, R. P.** : Little expression of cytokine mRNA by fresh tumor-infiltrating mononuclear leukocytes from glioma and lung adenocarcinoma. *Cytokine* **7**: 580-588, 1995.
 - 33) **Kadish, A. S., Doyle, A. T., Steinhauer, E. H. and Ghossein, N. A.** : Natural cytotoxicity and interferon production in human cancer. *J. Immunol.* **127**: 1817-1822, 1981.
 - 34) **Steinhauer, E. H., Doyle, A. T., Reed, J. and Kadish, A. S.** : Defective natural cytotoxicity in patients with cancer. *J. Immunol.* **129**: 2255-2259, 1982.
 - 35) **Saijo, N., Shimizu, E. and Irimajiri, N.** : Analysis of natural killer activity and antibody-dependent cellular cytotoxicity in healthy volunteers and in patients with primary lung cancer and metastatic pulmonary tumors. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **102**: 195-214, 1982.
 - 36) **Saijo, J., Shimizu, E. and Shibuya, M.** : Effect of chemotherapy on natural-killer activity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in carcinoma of the lung. *Br. J. Cancer* **46**: 180-189, 1982.
 - 37) **Talmadge, J. E., Meyers, K. M., Prieur, D. J. and Sterkey, J. R.** : Role of NK cells in tumor growth and metastasis in *beige* mice. *Nature* **284**: 622-624, 1980.
 - 38) 前田光一, 澤木政好, 三笠桂一, 古西 満, 寺本正治, 森 啓, 坂本正洋, 辻本正之, 竹内章治, 濱田薫, 国松幹和, 成田亘啓, 喜多英二, 樫葉周三 : Clarithromycin の炎症反応に対する dual regulatory effect. 厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班研究報告書. 166-169, 1993.