
 原 著

ヒト CSF の多様性：産生腫瘍 6 症例の 臨床的特徴と CSF の性状の解析

新潟大学医学部第一内科学教室（主任：柴田 昭教授）

鳥羽 健

Heterogeneity of Human CSFs: Clinical Features of 6 Patients with CSF
Producing Tumors and Natures of the CSFs from Cultured Tumor Cells.

Ken TOBA

*The First Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine
(Director: Professor Akira Shibata M.D.)*

Here we reported on six cases of CSF producing tumors including a gallbladder cancer (case 1), a renal cancer (case 2), two lung cancers (case 3 and 4), an adult T-cell leukemia (case 5) and a metastatic liver cancer (case 6). In hematological examination, granulocytosis was seen in all cases ($35\sim 136\times 10^9/L$); two cases with marked eosinophilia (case 3 : 44%, case 5 : 76%), four cases with thrombocytosis (case 1, 4, 5, 6 : $360\sim 900\times 10^9/L$), and two with absolute reticulocytosis without any anemia (case 3 : 248, case 6 : $350\times 10^9/L$). CSF and BPA activities were examined in the tumor conditioned mediums. CSF activity was noted in all six cases, and BPA activity was also noted in all tested three cases (case 2, 3, 4). The molecular weight of CSFs was about 27kd gel chromatographically in all five cases tested (case 1, 2, 3, 4, 6). BPA activity was heat-tolerable at 90°C, but CSF activity was not. Hydrophobic chromatography was done in four cases. The CSFs were seemed to be Hydrophobic (CSF- β) in only one case (case 1), and hydrophilic (csf- α) in other three cases (case 2, 3, 4). These observations suggest that CSF appears heterogeneous with wide variation among tumors which produce CSF in vivo.

Key words: CSF producing tumor, BPA, CSF- α and CSF- β , heat atability.

Reprint requests to Ken TOBA,
the first department of internal
medicine, Niigata University
School of Medicine, Asahimati 1,
Niigata, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通り1番町
新潟大学医学部第一内科教室

鳥羽 健

I はじめに

著明な顆粒球増多を伴う悪性腫瘍の症例の存在は古くから指摘されており¹⁾、それらの中には granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) を産生する CHU-2²⁾・granulocyte-macrophage CSF (GM-CSF) を産生する Mo cell³⁾・macrophage CSF (M-CSF: CSF-1) を産生する MIA-Paka-2⁴⁾ を初めとする多くの CSF 産生腫瘍細胞株が報告されている。またこれらを材料としてマウスと同様ヒトでも 4 種の CSF すなわち G-CSF⁵⁾・M-CSF⁶⁾・GM-CSF⁷⁾ および interleukin-3 (IL-3)⁸⁾ がすでに cloning された。しかしヒトの場合これら 4 つの CSF のほかに、免疫系に作用するリンホカイン IL-4⁹⁾・IL-5¹⁰⁾・IL-6 もまた CSF 様活性を有し、さらに G-CSF そのものにも subtype⁵⁾ の存在することが知られ、ヒトの造血には多くの因子が関わってより複雑な制御がなされていることが想定される。

従って既知の CSF のほかにさらに多くの CSF 様物質あるいは既知の CSF の subtype が存在することは十分想像され、今後も CSF 産生腫瘍症例およびその産生する CSF を解析することに大きな意味があると思われる。

我々は今までに 2 種の CSF 産生腫瘍 SPT-1¹¹⁾・SPT-2¹²⁾ について報告したが、今回更に 4 例の CSF 産生腫瘍症例を経験したので、これら 6 例の臨床像を解析すると同時に、産生する CSF の性状について検討したので報告する。

II 対象症例

1. 対象症例

既に教室の高橋らが報告した胆嚢癌症例¹¹⁾、岸らの報告した腎癌症例¹²⁾のほか、今回経験した肺癌 2 症例 (76才・男性, 48才・女性)、ATL 症例 (59才・女性) および転移性肝癌症例 (50才・男性) の計 6 例を対象とした。うち既に報告された 2 例から樹立した CSF 産生細胞株 (SPT-1 及び SPT-2) の培養上清は、 -20°C に凍結保存されていたものを実験に用いた。また、比較の目的で、AML 3 例の白血病細胞を TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, 10^{-7}M) の存在下で培養した上清と、正常ヒト末梢血付着細胞培養上清中の CSF について、その疎水性をも検討した。

2. 腫瘍の液体培養

SPT-3 は症例 3 の腹水より得た腹膜播種腫瘍細胞を、SPT-4 (症例 4) および SPT-6 (症例 6) は死亡時無

菌的に採取した腫瘍細片を、SPT-5 は症例 5 の末梢血単核細胞を 10% 牛胎児血清 (以下 FBS)、PC-G 100U/ml、SM 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 加 RPMI 1640 を用い、10cm 培養皿 (Falcon #3003) 内で、 37°C 5% CO_2 飽和水蒸気圧の条件下で培養を開始した。5~7 日おきに培養液の全交換を行った。SPT-3 は腹水由来で B リンパ球などの混入が考えられたため、早期に 96 穴 Microwell plate (Nunc) を用いた限界希釈法によりクローニングを行い、上清中の CSF 活性の高いクローンを以下の実験に用いた。SPT-5 は培養約 2 カ月目で ATL 細胞が死滅したため、培養初期の上清を実験に用いた。

SPT-3, SPT-4, SPT-6 の細胞はいずれも付着性に増殖し、培養皿底に confluent となった後の培養上清 (以下 TCM, tumor conditioned medium) を -20°C に凍結保存し、CSF 活性の検討に用いた。20~30 日おきに、0.02% EDTA, 0.025% トリプシン加 Dulbecco PBS 処理により付着細胞を剝離し継代培養を行った。

3. CSF 活性および BPA 活性の検討

CSF 活性の測定は軟寒天単層法により行った。すなわち、各濃度の TCM, 15% FBS, 0.3% 寒天加 McCoy's 5A medium に $1\sim 2 \times 10^5$ 個の正常ヒト骨髄非貪食細胞を浮遊させたもの 1 ml を、35mm 培養皿 (Falcon, #3001) で 37°C 5% CO_2 の条件下にて 7~14 日間培養した。培養終了後倒立顕微鏡下に 40 個以上の細胞集塊をコロニーとして算定し、またゲルを生理食塩水に浮遊させ、スライドガラス上に乗せ温風乾燥後、May-Giemsa 染色を行いコロニーの形態およびその構成細胞を観察した。

BPA (Burst promoting activity) の測定はメチルセルロース法にて行った。すなわち、各濃度の TCM, 30% FBS, 0.8% Methylcellulose, $5 \times 10^{-5}\text{M}$ 2-ME, 1u Erythropoietin (ヒト尿由来: 和光純薬) 加 Iscove's modified Dulbecco's MEM (IMDM) に $0.5\sim 1.0 \times 10^5$ 個の正常ヒト末梢血 T 細胞除去非付着単核細胞を浮遊させたもの 1 ml を、35mm 培養皿で 37°C 5% CO_2 の条件下にて 14 日間培養した。培養終了後倒立顕微鏡下に 500 個以上の赤色細胞集塊または 2 個以上の subcolony よりなる赤色コロニー群を BFU-e として算定した。

4. CSF および BPA の熱および各種薬剤に対する耐性の検討

熱耐性の検討は、TCM を $50\sim 90^{\circ}\text{C}$ で 30 分間処理したのものについて、CSF および BPA の活性を検討した。還元剤に対する耐性は終濃度 2mM の 2-ME で 30 分間処理したものを、酸に対する耐性は pH 2.5 の PBS

で一晩透析したものを、それぞれ pH 7.4 の PBS で透析し、活性を測定した。TCM を trypsin 0.1mg/ml で37℃30分間処理し soybean trypsin inhibitor で反応を停止したものの活性を、最初から trypsin と soybean trypsin inhibitor を加えて37℃30分間処理したものと比較した。また TCM を Neuraminidase 0.1mg/ml で37℃30分間処理したものを、無処理のものと比較した。

5. ゲル濾過による分子量の推定

各細胞株を 0.2% FBS, human insulin 5μg/ml, iron saturated human transferrin 5μg/ml 加 IMDM で培養した TCM 約 1,000ml を、ペリコン=ラボカセットおよび cut off 値 10kd のフィルター (Millipore 社) をもちいて 2 ml に濃縮したものを、Ultrogel AcA 54 (5 cm²×77cm) でゲル濾過し、各画分の CSF 活性を測定した。

6. フェニルセファロースによる疎水性の検討

TCM について Nicola らの方法¹³⁾による phenyl-sepharose の batchwise column chromatography を行った。すなわち、ゲル濾過で活性のあった画分を Phenyl Sepharose CL4B (約 50ml) に apply 後 0.1M PBS (pH 7.4) による elute でそのまま通過するものを α 画

分、その後 ethylene glycol (50%, v/v) で elute されるものを β 画分とし、それぞれの画分を濃縮して CSF の活性を検討した。

III 結 果

1. 症例の解析

(症例1) 72才の女性で右上腹部腫瘍を主訴として昭和56年1月5日入院した。入院時より右季肋下4横指の腫瘍を触知し、黄疸および胆道系酵素の上昇を認めた。腹部 CT では胆嚢内を造影剤により増強される腫瘍が占めていた。開腹生検により胆嚢の腺癌と診断され、OK 432 の腫瘍内局注により、腫瘍の縮小が観察された。経過中最高 132×10⁹/L の好中球を主体とした白血球増多を示し、また最高で 360×10⁹/L の血小板増加を認めた。その後、腫瘍は再度増大傾向を示し、入院50日目に癌悪液質のため死亡した。死亡直後に無菌的に採取した腫瘍から細胞株 SPT-1 を樹立した¹¹⁾。

(症例2) 84才の女性で右上腹部痛を主訴として昭和58年1月25日入院した。入院時より左腹部に3×4 cm の皮下腫瘍を認め、右季肋部深部に腹部腫瘍を触知した。腹部 CT では右腎の巨大な多発囊胞状腫瘍および、下

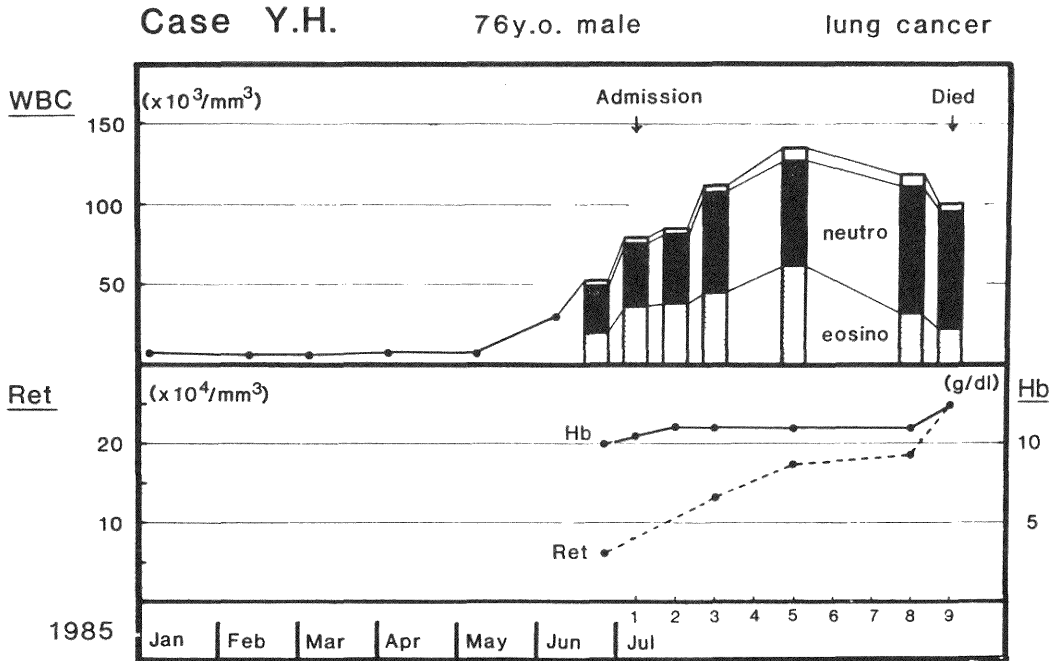


図1 症例3の経過表：大細胞型未分化肺癌症例。好中球および好酸球を主体とした白血球増多と網赤血球増多が特徴。

大静脈・腹部大動脈を巻き込んだ腫瘤を認めた。経過中最高 $51 \times 10^9/L$ の好中球を主体とした白血球増多を示したが、血小板数は正常であった。入院後約 2 カ月で尿毒症のため死亡した。死亡前に行った皮下腫瘤の生検組織からは横紋筋肉腫を疑っていたが、剖検時採取された腫瘍の組織像から、腎癌と診断された。死亡直後に無菌的に採取した腫瘍から細胞株 SPT-2 を樹立した¹²⁾。

(症例 3) 76才の男性で発熱・咳嗽を主訴として昭和60年7月1日入院した。胸部写真で右肺門部異常陰影あり、肝腫大および腹水を認め、CT などの検査の結果、肝転移および腹膜播種を伴った肺癌と診断された。経過中最高 $136 \times 10^9/L$ の白血球増多(好中球50%, 好酸球44%)を示し、また貧血が無いにも拘らず最高 $248 \times 10^9/L$ の網赤血球増多を認めた。血小板の増加は無かった。入院9日目に全身衰弱のため死亡し病理解剖の結果、大細胞型未分化肺癌と診断した(図 1)。死亡前に採取した腹水播種細胞を培養し、CSF 産生細胞株 SPT-3 を樹立した。

(症例 4) 48才の女性で、腰痛・歩行困難および皮下腫瘤を主訴として昭和61年1月6日入院した。入院時より Virchow リンパ節・右腋下リンパ節の腫大および体幹部に直径 2~6 cm 大の皮下腫瘤 5 コを認めた。胸部

写真で左肺門より上葉に不規則な腫瘤影と肺門リンパ節の腫大を認め、CT などの検査の結果、リンパ節・皮下・肝・骨・胃粘膜に多発性転移を伴った肺癌と診断し、CDDP および VDS による化学療法を開始したが、DIC を併発し全身状態不良のため入院44日目に死亡した。病理解剖の結果、多発性転移を伴った肺の腺扁平上皮癌と診断した。入院中最高で $59 \times 10^9/L$ の好中球を主体とした白血球増多および $417 \times 10^9/L$ の血小板増多を示したが、網赤血球の増加は認めなかった(図 2)。死亡直後に無菌的に採取した腫瘍を培養し、CSF 産生細胞株 SPT-4 を樹立した。

(症例 5) 59才の女性で、全身の皮疹を主訴として昭和60年7月10日入院した。紅皮症の診断で皮膚科的治療を行われていたが、経過中最高 $35 \times 10^9/L$ の白血球増多(好酸球76%)および最高 $580 \times 10^9/L$ の血小板増多を示した。昭和61年3月13日、リンパ節の急速な腫大に伴って末梢血に異型リンパ球が出現し、諸種の検索の結果 CD4 陽性の ATL と診断された。本症例では HTLV-I proviral DNA が検出された。CHOP 療法を開始したが全身状態不良のため3月19日死亡した(図 3)。末梢血単核細胞(ATL 細胞50%)を10% FBS 加 RPMI 1640 にて培養開始したところ、上清中に明らかな CSF

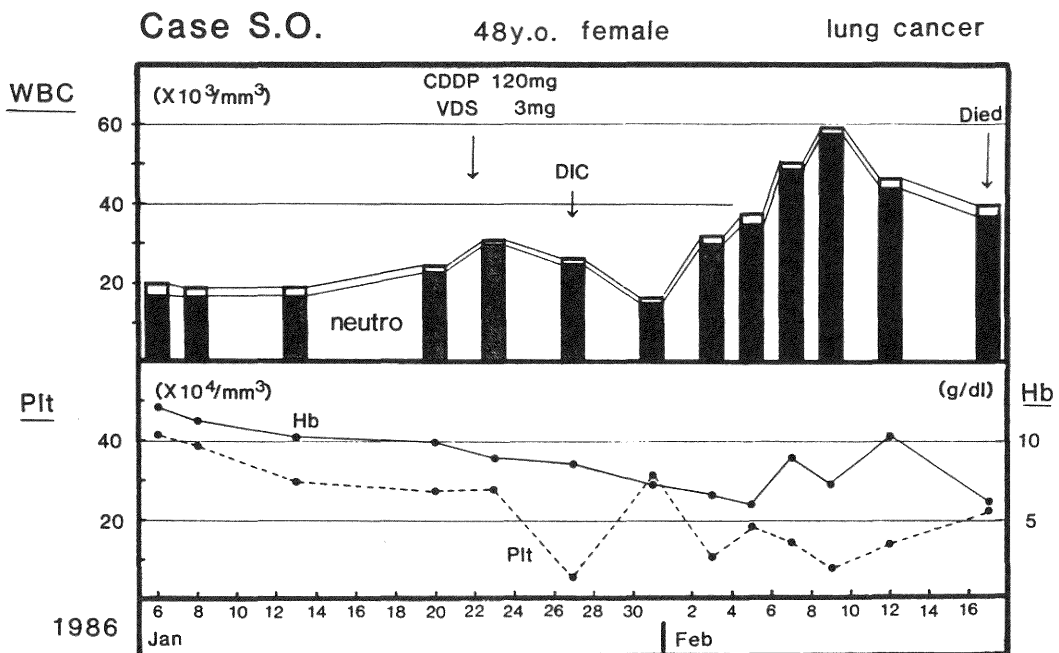


図 2 症例 4 の経過表：肺の腺扁平上皮癌症例。好中球増多と血小板の増加が特徴。

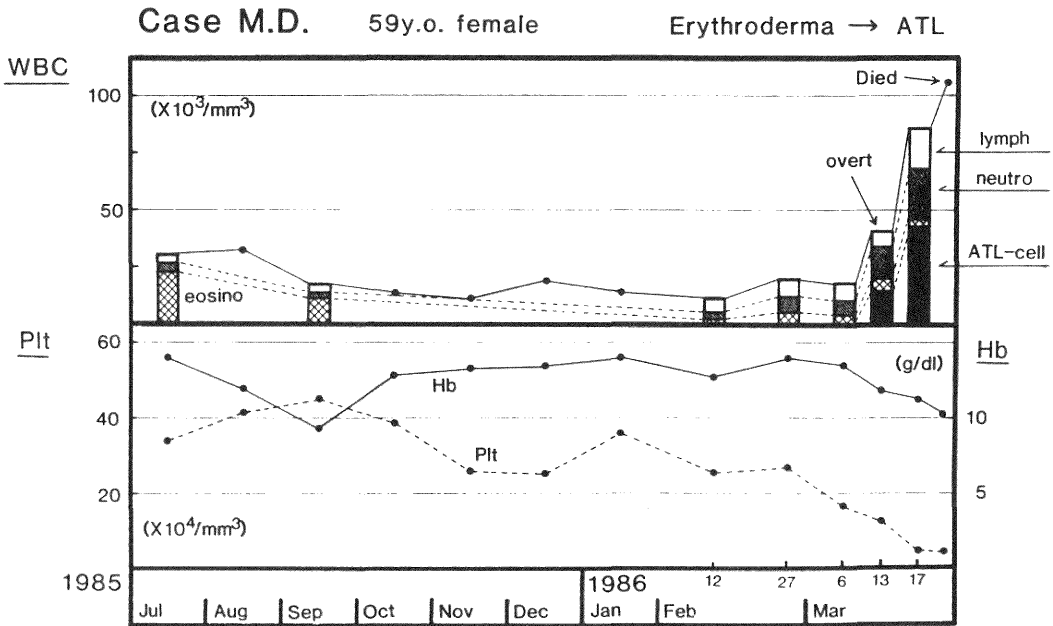


図3 症例5の経過表：ATL 症例. 好中球および好酸球を主体とした白血球増多と血小板の増加が特徴.

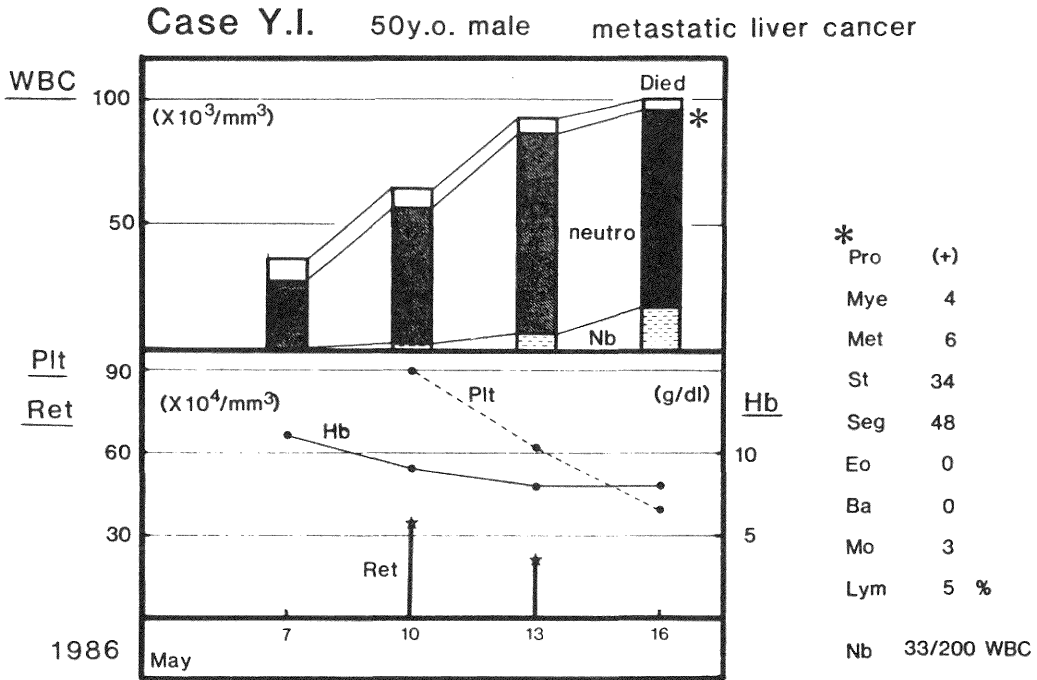


図4 症例6の経過表：転移性肝癌症例. 好中球増多, 血小板の増加および網赤血球の増加が特徴.

活性を認めたものの、培養開始 2 カ月目で ATL 細胞が死滅し細胞株の樹立に至らなかった。

(症例 6) 50 才の男性で、右季肋部痛を主訴として昭和 61 年 5 月 10 日入院した。入院時、右季肋下 4 横指の凹凸不整の硬い肝腫を触れた。腹部エコーで肝の多発性腫瘍が見られ、転移性肝癌を疑われたが、検索不十分のまま入院 8 日目に急性腎不全のため死亡した。死亡時の肝組織診の結果、原発不明の未分化癌と診断された。経過中最高 $100 \times 10^9/L$ の白血球増多(好中球 92%，赤芽球 33/200 WBC) および $900 \times 10^9/L$ の血小板増加を示し、また貧血のない時期に $350 \times 10^9/L$ の網赤血球増加を認めた(図 4)。死亡直後に得られた肝腫瘍組織を培養し CSF 産生細胞株 SPT-6 を樹立した。

以上の 6 症例の入院時検査成績を一括して表 1 に示した。CSF 産生腫瘍は胆嚢癌 1 例、腎癌 1 例、肺癌 2 例、ATL 1 例および転移性肝癌 1 例で多様であったが、末梢血では全例顆粒球増加が特徴であった。中には好酸球の著しい増加が 2 例に、血小板増加が 4 例に、また網

赤血球増加が 2 例に観察されたが、血清カルシウム濃度は高低様々であった。

2. 培養上清の CSF 活性

ヒト骨髄 7 日目の CFU-c に対する TCM の CSF 活性は SPT-2, SPT-3, SPT-4, SPT-6 とともに、最高値がヒト骨髄非貪食細胞 10^5 コあたりコロニー数で約 250 コ前後であった。SPT-2, SPT-3 は TCM の添加濃度 1.25~2.5% ですでに最高値に達しているが、SPT-4, SPT-6 の TCM は 20% の添加で初めて最高値に達した。いずれの CSF 活性も対照にした GCT-CM (GCT-conditioned medium, GIBCO 社) の CSF 活性より高く、活性の強さは SPT-2=SPT-3>SPT-4>SPT-6>GCT-CM の順であった(図 5)。

7 日目のコロニー構成細胞では、殆ど全てが好中球コロニーであった。14 日目のコロニーの構成細胞は、TCM を 10% 添加した時のヒト骨髄非貪食細胞 10^5 コあたりのコロニー数(好中球・マクロファージコロニー/好酸球コロニー)で表すと、各々 SPT-2 (267/54), SPT-3

表 1 CSF 産生腫瘍 6 症例の入院時検査所見

	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4	症例 5	症例 6
診断	胆嚢癌	腎癌	肺癌	肺癌	ATL	転移性肝癌
RBC $\times 10^{12}/L$	4.11	3.03	3.63	4.01	4.61	3.30
Hb g/dL	12.4	8.9	11.0	12.3	14.0	9.0
Ht %	39.1	27.3	32.7	37.4	42.0	28.8
MCV fL	95.1	90.0	89.8	93.3	91.1	87.0
MCH pg/dL	30.2	29.4	30.4	30.7	30.4	27.3
MCHC %	31.7	32.6	33.8	32.9	33.3	31.3
Ret %			3.7	0.4		11.2
WBC $\times 10^9/L$	44.1	11.4	84.5	20.3	29.7	63.8
Pro %						1
Mye %			1			4
Met %			1			2
St %	28	2	33	5	3.5	37
Seg %	71	90	18	79	10.5	43
Ba %				1		
Eo %		1	44	2	76.5	
Mo %			2	4	2.5	5
Lym %	1	7	1	9	7.0	8
Nbl/200WBC				✓		3
Plt $\times 10^9/L$	199	241	150	417	341	897
Ca mEq/L	5.3	6.9		5.3		3.9
p mg/dl	4.0	3.0		3.5		4.8

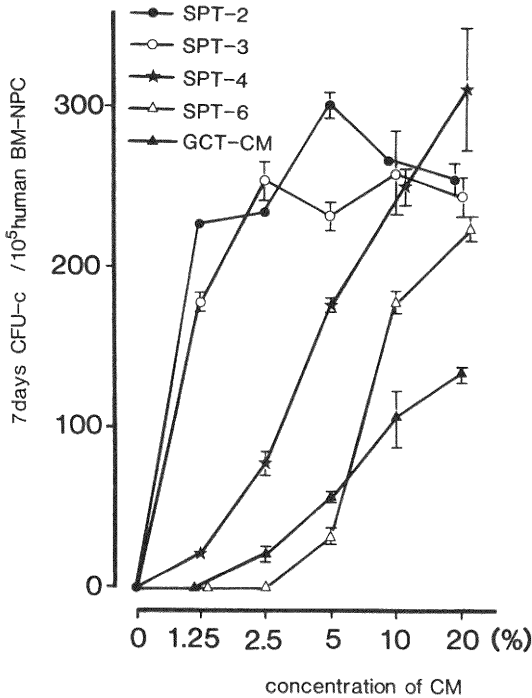


図5 各細胞株 TCM の CSF 活性：横軸は TCM の濃度。縦軸は 7 日目のコロニー数。CSF 活性の強さは SPT-2 = SPT-3 > SPT-4 > SPT-6 > GCT-CM の順であった。

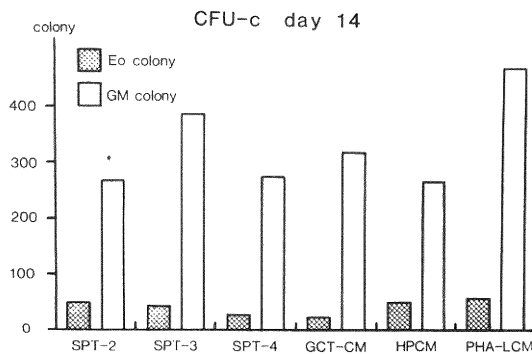


図6 14日目の CFU-c の構成細胞：各細胞株 TCM を10%添加。コロニーを軟寒天ごと乾燥固定し、May-Giemsa 染色した。いずれも構成細胞に数の上で大きな差はないものの、SPT-3 の好酸球コロニーは際だってサイズが大きかった。

(387/44), SPT-4 (277/28) であり、対照に用いた CM では GCT-CM (321/25), HPCM (265/52), PHA-LCM (470/60) と、数の上で大きな差は見られなかったものの、SPT-3 の場合には形成される好酸球コロニーのサ

イズが他の CM に比して際だって大きい傾向が見られた (図 6)。

3. 培養上清の BPA 活性

ヒト末梢血 T 細胞除去非付着単核細胞を標的とした BFU-e の数で、SPT-2, SPT-3, SPT-4 の TCM 中の BPA 活性を見た。TCM 非添加時の BFU-e は 0.77×10^5 コ細胞あたり 6 ± 0 コであったものが、各 TCM 添加により最高で40~50コに増加した。三種の TCM はほぼ同等の BPA 活性を有し、いずれも TCM 10%添加によりコロニーの数の大きさも最高に達し、20%添加ではむしろ抑制が見られた (図 7)。

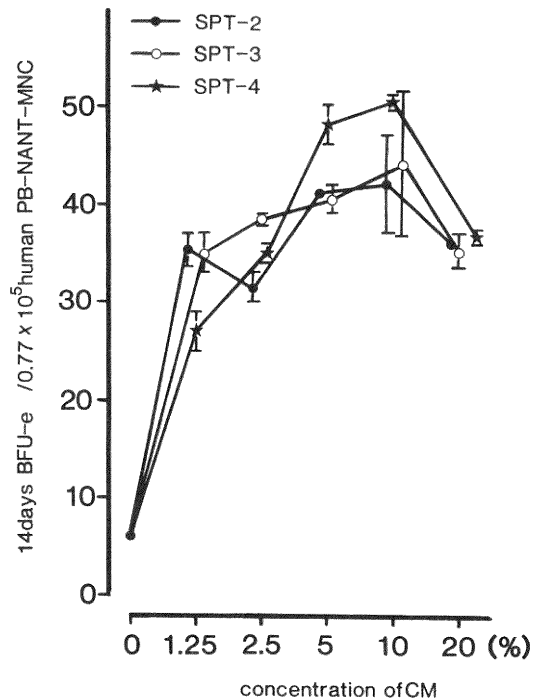


図7 各細胞株 TCM の BPA 活性：横軸は TCM の濃度。縦軸は BFU-e 数。いずれの TCM も高い BPA 活性を有した。

4. CSF および BPA の熱および各種薬剤に対する活性の変化

SPT-2, SPT-3 および SPT-4 の TCM について調べた。7日目の CFU-c に対する CSF 活性の熱耐性を熱処理しない場合の活性に対する比で見ると、いずれの TCM も 70℃30分間の処理で完全に活性が失われた。個々の TCM についてみると、SPT-2 は 60℃で活性の低下が見られず、SPT-4 では活性が約20%に抑制され、SPT

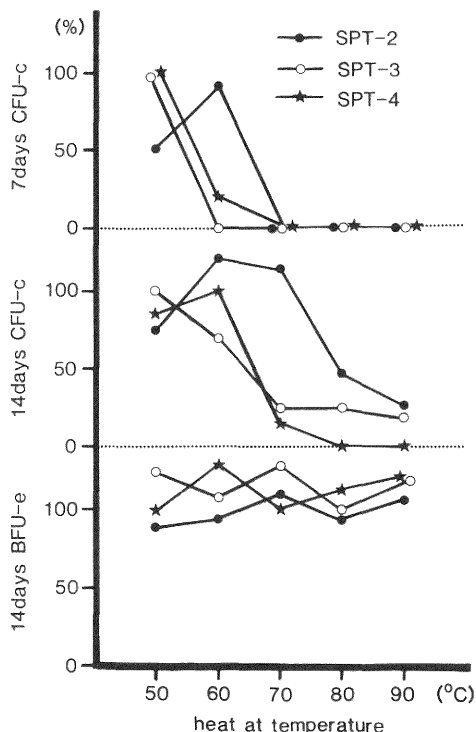


図 8 CSF および BPA の熱耐性：各細胞株 TCM を各温度で30分加熱した時の活性を、未処理の活性に対する比率で示す。各活性の熱耐性の強さは BPA > CSF (14days) > CSF (7days) の順であった。

-3 は60℃で完全に失活した。14日目の CFU-c に対する CSF 活性の熱耐性は、SPT-2 では80℃ではじめて50%以下に抑制されたが90℃でも完全には失活しなかった。SPT-3 は、70℃ですでに25%以下に抑制されたが、やはり90℃でも活性は残存した。SPT-4 は70℃の処理で約15%に抑制され80℃で完全に失活した。7日目の CFU-c で見た場合より14日目の CFU-c で見た場合の方が CSF 活性がより耐熱性であるが、これは14日目の CFU-c がより低濃度の TCM でコロニー数が peak に達することと関連があると思われる。これに対し、BPA 活性はいずれの TCM でも90℃まで全く活性の低下が見られなかった (図 8)。

各種薬剤に対する活性の変化を SPT-2, SPT-3, SPT-4 の TCM について、7日目の CFU-c、14日目の CFU-c および14日目の末梢血 BFU-e で見た。2mM 2ME 処理、pH 2.5 での酸処理、トリプシン処理、ノイラミニダーゼ処理のいずれによっても SPT-2, SPT

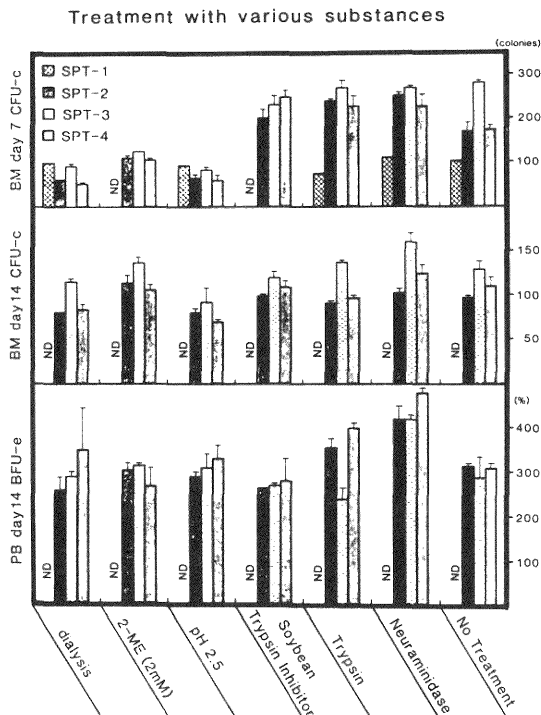


図 9 CSF および BPA の薬剤耐性：各種薬剤で処理した TCM の活性を7日目の CFU-c 数、14日目の CFU-c 数、および BFU-e 数で比較した。いずれの活性も有意な変化を受けなかった。

-3, SPT-4 の TCM 中の CSF 活性および BPA 活性は有意な変化を受けなかった (図 9)。

5. ゲルろ過による CSF の分子量

SPT-2, SPT-3, SPT-4 および SPT-6 の TCM を濃縮したものをゲルろ過し、各画分の CSF 活性を7日目の CFU-c の数で見た。4種の TCM のいずれも CSF 活性の peak は分子量 27kd の画分に存在した (図10)。SPT-2 についてのみ BPA 活性も測定したが、BPA 活性の peak もまた 27kd の画分にあり、CSF の peak と一致した (図11)。比較のため PHA-LCM, HPCM および GCT-CM についてもゲルろ過を行ったが、いずれも CSF の peak は 27kd の画分に存在した (成績省略)。

6. CSF の疎水性

SPT-1 の TCM は高橋らが作製し凍結保存していたゲルろ過の活性画分を、SPT-2, SPT-3, SPT-4 は今回行ったゲルろ過の活性画分を用いて、phenylsepharose への親和性を見た。比較のため PHA-LCM, HPCM,

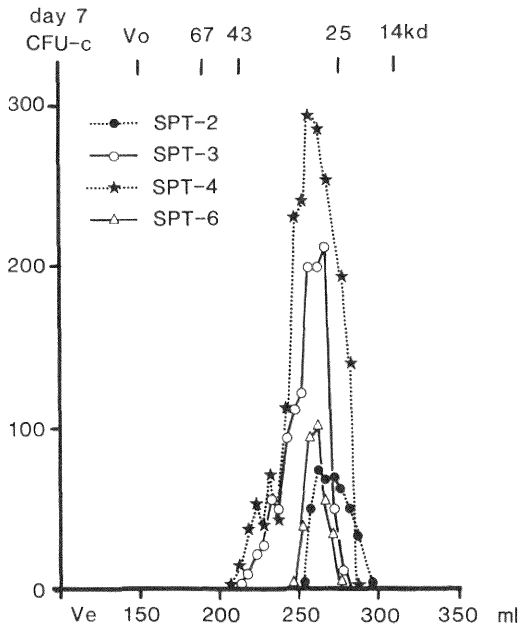


図10 各細胞株 TCM の CSF の分子量：いずれも約 27kd に活性のピークを有す。

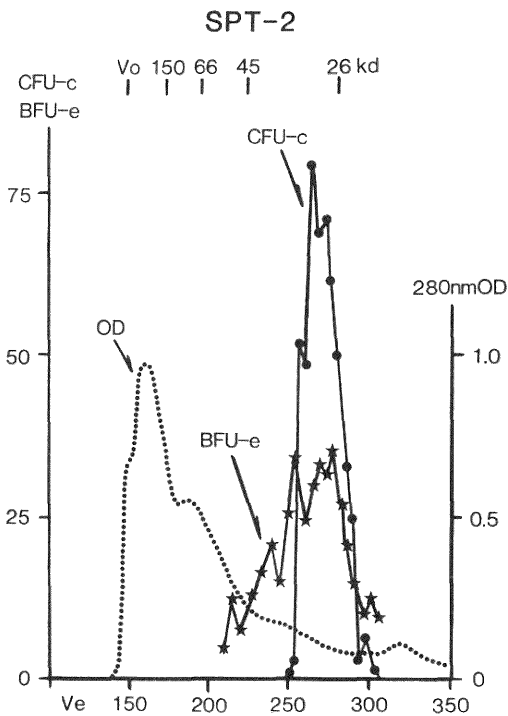


図11 SPT-2 の BPA の分子量：約 27kd で、CSF と一致した。

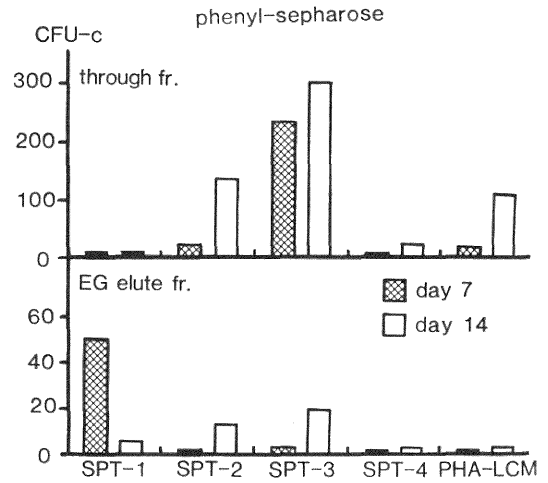


図12 各細胞株 TCM の CSF の疎水性：PT-1 のみ疎水性 (CSF-β) で、他は親水性 (CSF-α) であった。

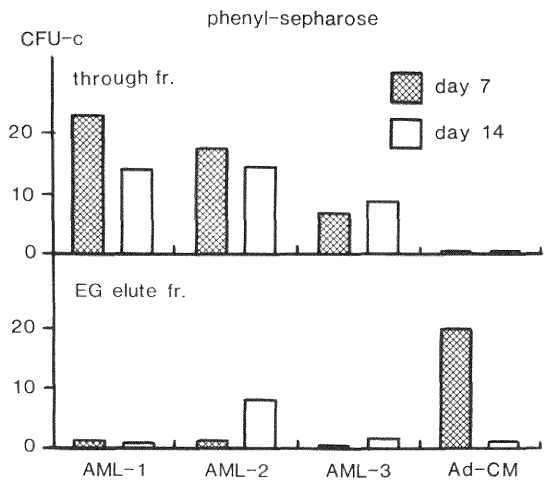


図13 AML 細胞培養上清の CSF の疎水性：3例の AML 症例の末梢血白血病細胞を TPA 存在下に培養した上清中の CSF はいずれも CSF-α であり、正常人末梢血付着細胞の培養上清中の CSF は CSF-β であった。

GCT-CM についても行った。SPT-1 では疎水性画分に7日目の CFU-c を強く刺激する CSF-β が認められたが、他の SPT-2, SPT-3, SPT-4, PHA-LCM, HPCM, GCT-CM ではいずれも親水性画分に14日目の CFU-c を強く刺激する CSF-α が認められた (図12)。また AML 3 症例の白血病細胞を TPA 存在下に培養した上清中の CSF はいずれも CSF-α であり、一方正常ヒト末梢血付着細胞の培養上清中の CSF は CSF-β

であった (図13)。

IV 考 案

表 2 に 6 症例の臨床的特徴と産生する CSF の性状をまとめて比較した。症例 5 については ATL 診断以前の白血球増多が ATL 細胞の産生する CSF によるのか否かは明らかでない。また細胞株の樹立に失敗したため、その産生する CSF の性状についても不明である。他の 5 症例のうち症例 1 のみがコロニーの構成細胞と、産生する CSF が CSF- β であることから G-CSF 産生腫瘍例であると考えられ、一方症例 2・3 および 4 はコロニーの構成細胞および CSF- α であることから GM-CSF 産生腫瘍例と考えられた。

臨床的には 6 例いずれも著明な顆粒球増多を認めたが、その中で症例 1・2・4 および 6 は好中球が 90% 以上を占めたのに対して、症例 3 及び 5 はむしろ著明な好酸球増多が特徴的であり、特に症例 3 より樹立した SPT-3 株の産生する CSF が好酸球コロニーを強く誘導することと関連して興味深い。文献的にも好酸球増多を特徴とする肺癌症例⁽⁴⁾や甲状腺癌症例⁽⁵⁾の報告があり、一方ヒト recombinant GM-CSF を臨床投与した場合⁽⁶⁾にはこれほどの著明な好酸球増多を示さないことから、特に好酸球を強く誘導する新たな CSF, GM-CSF の subtype, あるいは IL-5 のように好酸球を分化誘導する cofactor の存在することが強く示唆される。

他の血液成分については、6 症例のうち症例 1・4・5・6 の 4 症例で血小板増多が認められ、また網赤血球数の変化を観察し得た 3 症例のうち症例 3 および症例 6 の 2 症例で、貧血がないにも拘らず網赤血球数の増加を認め、経過とともにヘモグロビンが増加した。このような血液像の違いが、はたして CSF そのものの生物活性

の差に依るのか、いわゆる Multi-CSF が存在するのか、腫瘍が CSF 以外の造血因子を同時に産生していたのか、あるいは CSF に対する造血の個人差を反映しているのかは興味深い問題である。

Vadhan-Raj⁽⁶⁾らは rhGM-CSF を MDS 症例に投与し、その約 50% の症例で造血 3 系統が増加することを認めており、その要因の一つとして、マクロファージを介した他の造血因子の二次的な産生の関与を示唆している。しかし、以上の臨床像と産生される CSF の多様性を説明するためには、さらに造血因子の臨床投与を解析するのみならず、分子レベルでの CSF の解析が今後とも必要であろう。

TCM 中の BPA 活性を調べた SPT-2・SPT-3 および STP-4 の 3 つの細胞株は、いずれも BPA 活性を有していたが、この 3 症例のうち症例 3 では網赤血球増多を認め、症例 4 では認めなかった。純化 GM-CSF は同時に BPA 活性を有するが、ここに報告した BPA 活性を有する 3 つの細胞株では、CSF 活性と BPA 活性に耐熱性の著しい違いが観察された。このことは、BPA 活性が CSF とは別の造血因子に由来することを意味するのか、あるいは単一の物質として CSF 活性と BPA 活性を同時に有していながら、かつ両活性に耐熱性の差があるということの意味するのかは不明である。後者の考え方の場合、CSF 活性と BPA 活性が同一分子上の異なる活性部位に存在し、両部位に熱による変性の態度に差がある可能性と、もう 1 つは両活性が同じ活性部位に存在しながら、両者の receptor に作用する段階で receptor の要求する活性部位の構造の厳密性に差があり、熱によって若干の構造の変化を受けても、活性部位の構造の厳密性をあまり要求されない BPA 活性のみが残存するという考え方の、2 通りの説明が可能である。

表 2 CSF 産生腫瘍 6 症例の臨床像と産生する CSF の性状

	患者末梢血の血球増多の有無				CSF の性状				
	白血球 ($\times 10^9/L$)	好中球(%) / 好酸球(%)	血小板 ($\times 10^9/L$)	網赤血球 ($\times 10^9/L$)	培養 細胞	活 性	分子量 (kd)	BPA	α / β
症 例 1	有(132)	(90/0)	有(360)	不明	SPT-1	G **	27~30	ND	β
症 例 2	有(51)	(98/0)	無(264)	不明	SPT-2	GM***	27	+	α
症 例 3	有(136)	(50/44)	無(180)	有(248)	SPT-3	GM	27	+	α
症 例 4	有(59)	(96/0)	有(417)	無(16)	SPT-4	GM	27	+	α
症 例 5*	有(35)	(14/76)	有(580)	不明	SPT-5	ND	ND	ND	ND
症 例 6	有(100)	(92/0)	有(900)	有(350)	SPT-6	GM	27	ND	ND

* 症例 5 は白血化前の検査数値

** granulocyte CSF,

*** granulocyte-macrophage CSF

いずれにせよ BPA 活性の分子量を測定した SPT-2 の TCM では、CSF・BPA ともに分子量 27kd で一致したことから、単一の物質が両活性を同時に有している可能性が強く示唆される。

以上のごとく CSF は種々の腫瘍によって産生されるが、その臨床像は多彩で、その性状も heterogeneous であり、BPA 活性を含め、既知の造血因子と CSF の関係、さらにその subtype など今後さらに検討して行く必要があると思われる。

V 結 語

CSF 産生腫瘍症例として既に報告している 2 例に今回新たに経験した 4 症例を加え、その臨床像および産生する CSF の性状につき若干の考察を加えて報告した。産生している CSF は症例 1 のみが CSF- β であり、症例 2・3・4 の 3 例は CSF- α であった。CSF の分子量はいずれも 27kd 前後で、また BPA 活性を検討した 3 例はいずれも高い BPA 活性を有していた。CSF 産生腫瘍症例の多彩な臨床像とその産生する CSF の関連を調べることは、造血因子の研究に意義あるものと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲賜りました新潟大学医学部第一内科柴田昭教授、ならびに終始御指導賜りました新潟大学医学部高密度無菌治療部森山美昭助教授、新潟大学医学部第一内科岸賢治助手、および高橋益広助手、また今回の報告で貴重な症例を提供していただいた新潟県立新発田病院内科伊藤正一先生、新潟聖園病院内科渡辺茂先生、厚生連長岡中央総合病院内科佐藤正彰先生・八幡和明先生・大野康彦先生、新潟大学皮膚科田沢敏男先生、および研究に協力していただいた新潟大学第一病理学教室本山梯一助教授に深甚なる謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Hughes, W.F., Higley, C.S.: Marked leukocytosis resulting from carcinomatosis. *Ann Intern Med* 37: 1085~1088, 1952.
- 2) Nomura, H., et al.: Purification and characterization of human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). *EMBO J* 5: 871~876, 1986.
- 3) Golde, D.W., et al.: Human T lymphocyte cell line producing colony-stimulating activity. *Blood* 52: 1068~1072, 1978.
- 4) Wu, M., et al.: Purification of a colony stimulating factor from cultured pancreatic cells. *J Biol Chem* 254: 6226~6228, 1979.
- 5) Nagata, S., et al.: The chromosomal gene structure and two mRNAs for human granulocyte colony-stimulating factor. *EMBO J* 5: 575~581, 1986.
- 6) Kawasaki, E.S., et al.: Molecular cloning of a complementary DNA encoding human macrophage-specific colony-stimulating factor (CSF-1). *Science* 230: 291~296, 1985.
- 7) Kaushansky, K., et al.: Genomic cloning, characterization, and multilineage growth-promoting activity of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 3101~3105, 1986.
- 8) Yang, Y.C., et al.: Human IL-3 (multi-CSF): Identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell* 47: 3~10, 1986.
- 9) Rennick, D., et al.: Interleukin 4 (B-cell stimulating factor-1) can enhance or antagonize the factor-dependent growth of hemopoietic progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 6889~6893, 1987.
- 10) Campbell, H.D., et al.: Molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of the gene encoding human eosinophil differentiation factor (interleukin 5). *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 6629~6633, 1987.
- 11) 高橋益広, 他: CSF 産生胆嚢癌一症例報告と腫瘍産生 CSF の性状. *日血会誌*, 46: 1037~1044, 1983.
- 12) 岸 賢治, 他: CSF 産生横紋筋肉腫株の樹立と産生される CSF の性状. *臨床血液*, 25: 1618~1625, 1984.
- 13) Nicola, N.A., et al.: Separation of functionally distinct human granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood* 54: 614~627, 1979.
- 14) Slungaard, A., et al.: Pulmonary carcinoma

- with eosinophilia. *New Engl J Med* **29**: 778~781, 1983.
- 15) 久米田茂喜, 他: 著明な好酸球増多を伴った甲状腺未分化癌の 1 例. *癌の臨床*, **26**: 1595~1599, 1980.
- 16) Vadhan-Raj, S., et al.: Effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *New Engl J Med* **317**: 1545~1552, 1987.

(昭和63年10月25日受付)
