

肺癌患者に合併する感染症の病態・予後の解析

—予後に関わる低アルブミン血症の臨床的意義—

奈良県立医科大学第2内科学教室

森 啓

STUDIES ON INFECTIOUS DISEASES IN PATIENTS
WITH LUNG CANCER
: CLINICAL SIGNIFICANCE OF HYPOALBUMINEMIA ASSOCIATED
WITH PROGNOSIS OF INFECTION

KEI MORI

Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received October 22, 1997

Abstract: The present study was conducted to determine what clinical factors affect the prognosis of lung cancer patients with infectious diseases.

Among respiratory infections, bacterial pneumomonia was closely related to poor prognosis in lung cancer patients. Bacterial culture of transtracheal aspirates showed that *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* were most frequently isolated. Bacteria comprising normal flora in the upper tract and the oral cavity, such as a *Streptococcus sp.*, were also isolated from transtracheal aspirates of lung cancer patients, which indicated a decrease in local resistance of the lower respiratory tract of such patients.

The onset of sepsis in lung cancer patients usually followed respiratory infection as a secondary complication; the major causative bacteria were *Staphylococcus aureus* and *Esherchia coli*.

Lung cancer patients with hypoalbuminemia (serum albumin < 3.0 g/dl) contracted respiratory infection and sepsis more frequently than did those with normoalbuminemia. Analysis of cytokine mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by reverse-transcriptase assisted polymerase chain reaction (RT-PCR) demonstrated that the expression of mRNA for interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-8, interferon- γ , tumor necrosis factor- α and mannose binding protein was decreased in PBMC of lung cancer patients with hypoalbuminemia; even the in vitro stimulation of PBMC with phytohemagglutinin did not enhance the ability of PBMC to express mRNAs for those proteins.

These results suggest that infectious diseases including respiratory infection and sepsis are a critical factor for the prognosis of lung cancer patients with hypoalbuminemia which affects the ability of PBMC to express mRNA for immunoregulatory proteins.

Index Terms

lung cancer, infectious disease, hypoalbuminemia, cytokine, mannose binding protein, RT-PCR.

緒 言

近年悪性腫瘍の治療法は様々な工夫がなされている一方、それに伴い感染に低抗力の低下した患者が増加し¹⁾、悪性腫瘍患者に発症する感染症は患者の病態や予後に関わる重要な合併症の一つである²⁾ので、感染症対策が問題となっている。合併感染症の中でも呼吸器感染症と敗血症とがしばしば患者の直接死因となっていることは周知の事実である。

そのような状況の中で、近年患者数が増加し、癌死の一位となった肺癌患者に合併する呼吸器感染症、敗血症の病態と予後因子とを解析することは重要な課題である。

感染症の病態を解析する際の重要な点は正確な方法で起炎微生物の決定を行うことである。敗血症の起炎微生物決定法は後述の方法ではば標準化されているが、問題は呼吸器感染症である。多くの施設では呼吸器感染症の起炎微生物決定を喀痰培養で行っているが、喀痰採取時に上気道・口腔内常在菌で汚染されるため、精度は低くなり³⁾、それを基礎とする病態解析は当然信頼度は低くなる。

そこで本研究では呼吸器感染症は経皮的に気管を穿刺し直接下気道内分泌物を採取する経気管吸引法(trans-tracheal aspiration: TTA)で起炎菌を決定し、呼吸器感染症を診断した肺癌症例の病態を解析する。

また一方、悪性疾患に合併する敗血症報告は血液悪性疾患では多数みられるが、患者が多いにもかかわらず、肺癌患者の敗血症の詳細な検討報告はない。そこで本研究では敗血症の病態解析も行う。

次に肺癌患者の生体防御機構の検討を行う。宿主は本来感染に非特異的防御機構、液性免疫、細胞性免疫などの多様な防御機構を有している。これらの免疫機構調節因子にサイトカインの関与が明らかにされつつある^{4,5)}。またオプソニン作用も重要な初期感染防御機構の一つで、近年オプソニン化に関与する mannose binding protein (MBP)の重要性が示唆されている^{6,7)}。

本研究では肺癌患者に合併する感染症の予後予測因子を臨床病態から見いだすとともに、その因子と患者末梢血単核球 RNA 中の各種サイトカイン・MBP の mRNA 発現・動態との関連性を reverse transcriptase-associated polymerase chain reaction (RT-PCR)法で解析した。

対象および方法

(I) 肺癌患者に合併した感染症の予後別病態解析

A) 対象

(1) 呼吸器感染症合併症例

対象は1983年9月から1994年9月までに呼吸器感染症と診断し、TTAで細菌を分離した肺癌患者107例である。対象の平均年齢は67.3±8.0歳、性別は男性102例、女性5例である。抗菌薬治療で呼吸器感染症発症後30日以上生存した例を生存群、呼吸器感染症発症後抗菌薬治療にもかかわらず状態が悪化し30日未満で死亡した例を死亡群と定義する。

(2) 敗血症合併症例

対象は1991年から1995年までにBone⁸⁾の敗血症の診断基準を満たし、血液培養で細菌を分離した肺癌患者27例である。対象の平均年齢は70.7±6.6歳、性別は男性23例、女性4例である。敗血症の診断後抗菌薬治療で臨床所見が改善せず死亡した例を死亡群、抗菌薬治療で臨床所見が改善した例を生存群と定義する。

B) 方法

(1) TTAの方法

TTAは前頸部皮膚をポピドンヨードとハイポアルコールとで消毒し、1%リドカインで局所麻酔後、甲状軟骨と輪状軟骨との間を16ゲージのVenula静脈留置針で穿刺し、50mlの注射器で気管内分泌物を吸引採取、採取検体は直ちにグラム染色、好気・嫌気細菌培養を行う。

(2) 血液培養の方法

血液培養は採血部位の皮膚をポピドンヨードとハイポアルコールとで消毒後静脈採血し、バクテアラート®(オルガノンテクニカ)で好気・嫌気細菌培養を10日間実施し、分離細菌については菌種同定を行う。

C) 検討項目

(1) 呼吸器感染症の予後別病態解析

呼吸器感染症の病態、TTA分離菌、肺癌治療の内容、宿主要因を両群間で比較検討した。

(2) 敗血症の予後別病態解析

血液培養分離菌、敗血症の誘因、宿主要因を両群間で比較検討した。

D) 統計学的解析方法

t検定、Mann-Whitney U検定、 χ^2 検定を用い、危険率5%未満を有意と判定した。

(II) 肺癌患者の末梢血単核球のサイトカイン mRNA 発現の解析

A) 対象

合併症のない肺癌患者で血清アルブミン値が3.8g/dl以上の正常アルブミン血症群16例と血清アルブミン値

が3.0 g/dl未満の低アルブミン血症群10例とである。両群間には年齢、性別、肺癌病期に有意差はないが、低アルブミン血症群では肺癌が多く($p < 0.05$), performance status(PS)は有意に不良である($p < 0.01$) (Table 1).

B) 方法

(1) 末梢血単核球の分離と RT-PCR 法

末梢静脈からヘパリン加採血した血液4 mlに Ficoll-Paque[®] (Pharmacia LKB Biotechnology AB, Sweden)3 mlを加えて比重遠心法(1,800 rpm, 40分間)で単核球分画を分離採取し、PBSで2回洗浄後その単核球分画を 5.0×10^6 /mlに調節した。分離単核球は TRIzol[®] (GIBCO BRL, Gaithersburg, Md, USA)中で、 -80°C で測定まで保存した。TRIzol[®]中で保存された単核球から総RNAを抽出し、 $0.1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ のRNA量に調節した。その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 dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 0.25 μg Oligo(dT)₁₂₋₁primer], 10単位 RNase inhibitor(東洋紡, 大阪)および50単位 reverse transcriptase(GIBCO BRL)を混合し、 $43^{\circ}\text{C} \cdot 90$ 分、 $95^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 分の反応でRNAをcDNAに変換した。そのcDNA $4 \mu\text{l}$ をPCR緩衝液 [25 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 8.4), 2.5 mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 1 μM 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(日本ジェネティスク, 東京)で $94^{\circ}\text{C} \cdot 1$ 分, $60^{\circ}\text{C} \cdot 1$ 分, $72^{\circ}\text{C} \cdot 1$ 分で35サイクルのPCRを行い、得られたPCR産物を100 V, 35分間, 1.0%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色でサイトカインのmRNAに特異的なバンドの発現を確認した。使用した各種サイトカインの特異的 primerを Table 2に示した。コントロールにはG3PDHを用い、123 bp DNA Ladder(GIBCO BRL)で各PCR産物の塩基ベース数を測定し、検出サイトカインの同定を行った。

C) 検討項目

interleukin(IL)-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, interferon(IFN)- γ , tumor necrosis factor (TNF)- α , granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF), granulocyte-monocyte colony-stimulating factor(GM-CSF)のmRNA発現を両群間で比較検討した。

D) 統計学的解析方法

統計学的解析には χ^2 検定を用い、危険率5%未満を有意と判定した。

(III) 末梢血単核球培養系でのサイトカイン・MBPmRNAの動態の解析

A) 対象

合併症のない肺癌患者で血清アルブミン値が3.8 g/dl以上の正常アルブミン血症群と血清アルブミン値が3.0 g/dl未満の低アルブミン血症群との各3例であった。両群間に年齢、性別には大差なく、肺癌組織、肺癌病期に

Table 1. Characteristics of patients with lung cancer in the analysis of mRNA expression for cytokines in peripheral blood mononuclear cells

Characteristics	Normoalbuminemia group	Hypoalbuminemia group	Statistical analysis
No. of patients	16	10	N.S.
age (mean \pm SD, years)	65.6 \pm 8.2	68.3 \pm 8.5	N.S.
sex			
male	13	8	
female	3	2	N.S.
histology			
adenocarcinoma	4	8	
squamous cell carcinoma	7	1	
small cell carcinoma	5	1	P<0.05
stage			
II	1	0	
IIIa	2	1	
IIIb	6	5	
IV	7	4	N.S.
performance status			
1	15	0	
2	1	0	P<0.01
3	0	2	
4	0	8	

N.S. : not significant

差はなかったが、PSは正常アルブミン血症群では全例1、低アルブミン血症群では全例4であった。またC3、C4、CH50は低アルブミン血症群、正常アルブミン血症群とも全例正常値であった(Table 3)。

B) 方法

(1) 末梢血単核球の分離

(II)と同じ方法で、末梢静脈血から単核球分画を分離し、 2.5×10^6 /mlに調節した。

(2) 単核球の培養・保存

2.5×10^6 /mlの単核球になる様に α -MEM(Flow laboratories, Mclean, Va, USA)10 mM HEPES, 0.07% NaHCO₃, 0.5 mM 2-mercaptoethanol, 50 μ g/ml

penicilin-G, 10% heat-inactivated fetal bovine serum (ICN Biomedicals, Costa Mesa, Ca, USA)の培養液に浮遊させた。この単核球浮遊液を200 μ lずつ96穴平底プレート(Corning, NY, USA)に分注、10 μ g/ml(最終濃度)のphytohemagglutinin(PHA)(Difco laboratories, USA)を添加、非添加で37°C、5% CO₂下で24時間培養後、1,500 rpm、10分の遠心にて単核球を回収した。

培養後回収した単核球はTRIZOL®を加え、-80°Cで測定まで保存した。

(3) サイトカイン・MBPmRNAの発現

IL-1 β , IL-2, IL-8, IFN- γ , TNF- α およびMBPに

	sense primer	antisense primer
IL-1 β (STRATGENE, USA)	CTTTCATCTTTGAAGAAGAACCTATCTTCTT	AATTTTGGGATCTACACTCCAGCTGTA
IL-2 (STRATGENE, USA)	ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTT	GTCAGTGTGAGATGATGCTTTGAC
IL-3 (STRATGENE, USA)	ATGAGCCGCTGCCCGTCTG	GCGAGGCTAAAAGTCGTCTGTTG
IL-4 (STRATGENE, USA)	ATGGGTCTCACCTCCCAACTGCT	CGAACACTTTGAATATTTCTCTCTCAT
IL-5 (STRATGENE, USA)	GCTTCTGCATTTGAGTTTGTAGCT	TGGCCGTC AAYGTATTTCTTTATTAAG
IL-6 (STRATGENE, USA)	ATGAACTCCTTCTCCACAAGCGC	GAAGAGCCCTCAGGCTGGACTG
IL-8 (CLONTECH, USA)	CGATGTCAGTGCAATAAGACA	TGAATTCTCAGCCCTCTCAAAAA
IFN- γ (STRATGENE, USA)	ATGAAATATAACAAGTTATATCTTGGCTTT	GATGCTCTTCGACCTCGAAACAGCCAT
TNF- α (STRATGENE, USA)	CGGGACGTGAGCTGGCCGAGGAG	CACCAGCTGGTTATCTCTCAGCTC
G-CSF (STRATGENE, USA)	GTGCAGGAAGCCACCCCTGGGC	CCCTCTGCCCGGCGCTGGA AAGC
GM-CSF (STRATGENE, USA)	ACACTGCTGAGATGAATGAAACAGTAG	TGGACTGGCTCCACAGCTCAAAGGGGATG
MBP ⁶⁾	AGTCGACCCAGATTGTAGGACAGAG	AGGATCCAGGCAGTTTCTCTGGAAGG
G3PDH (CLONTECH, USA)	TGAAGTCCGGAGTCAACGGATTGGT	CATGTGGCCATGAGGTCACCAC

Table 2. Sequences of primers specific for cytokines and MBP

Table 3. Characteristics of subjects in the analysis of expression kinetics of mRNA for cytokines and MBP in cultured mononuclear cells

Characteristics	Normoalbuminemia group			Hypoalbuminemia group		
	N1	N2	N3	L1	L2	L3
Case No.						
age (years)	67	65	72	66	74	63
sex	male	male	female	male	male	male
histology	Ad	Ad	Sq	Sq	Ad	Ad
stage	IIIb	IIIb	IIIb	IIIb	IIIb	IIIb
performance status	1	1	1	4	4	4
serum albumin (g/dl)	4.2	3.8	4.1	2.6	2.8	2.6
C3 (mg/dl)	156.2	132.6	128.8	114.2	118.6	82.3
C4 (mg/dl)	38.9	28.6	24.5	24.2	28.2	18.6
CH50	47	52	44	42	46	34

Ad : adenocarcinoma Sq : squamous cell carcinoma

特異的な primer (Table 2) を用いて、RT-PCR で増幅し、発現したサイトカインと MBP との mRNA 量を densitometer (Quantity One, *pdi* USA) を用いて G 3 PDHmRNA 量を内部基準にて比較定量した。

結 果

(I) 肺癌に合併した感染症の予後別病態解析

1. 呼吸器感染症の予後別病態解析

①患者背景

生存群は 88 例(平均年齢 67.0±8.3 歳, 男性 87 例, 女性 1 例), 死亡群は 19 例(平均年齢 68.3±6.7 歳, 男性 15 例, 女性 4 例)であった。両群間に年齢, 性別に有意差はなく, 肺癌組織型も両群で扁平上皮癌, 小細胞癌が多く, 有意差はなく, 両群とも III・IV 期例が多いが, 死亡群には I・II 期例はなかった (Table 4)。

②呼吸器感染症の病態と発症場所

呼吸器感染症の病態は生存群では肺炎 48 例(54.5%), 気管支炎 40 例(45.5%), 死亡群では肺炎 16 例(84.2%), 気管支炎 3 例(15.8%)であり, 死亡群では生存群に比べて肺炎例が有意に多かった ($p < 0.05$)。呼吸器感染症の発症場所は生存群では院内発症 67 例(76.1%), 院外発症 21 例(23.9%), 死亡群では院内発症 14 例(73.7%), 院外発症 5 例(26.3%)であった。

③ TTA 分離菌

TTA で一菌種のみを分離した単独菌感染例 56 例, 二菌種以上を同時に分離した複数菌感染例 51 例であった。生存群では単独菌感染例 48 例(54.5%), 複数菌感染例 40 例(45.5%), 死亡群では単独菌感染例 8 例(42.1%), 複数菌感染例 11 例(57.9%)と, 死亡群で複数菌感染例

が多い傾向であった。

TTA 分離菌種は, 両群とも α -*Streptococcus* 属, *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Neisseria* 属, *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) が多く, この 7 菌種で約 70% を占めた。また分離菌種は両群間に差異はなかった (Table 5)。

④肺癌治療との関係

抗癌化学療法や放射線療法などの抗癌治療と呼吸器感染症発症時期との関係は生存群では呼吸器感染症が抗癌治療前と治療後 30 日以内に発症した例が多かったが, 死亡群では抗癌治療後 30 日以後に呼吸器感染症を発症した例が有意に多かった ($p < 0.01$) (Fig. 1)。

呼吸器感染症発症前に副腎皮質ステロイド薬を投与していた例は生存群では 7 例(8.0%), 死亡群では 4 例(21.1%)であり, 死亡群にやや多い傾向であったが, 有意差はなかった。

⑤宿主要因

呼吸器感染症発症前の全身状態は生存群では PS 1 から 2 が 67 例(76.1%), PS 3 と 4 とが 21 例(23.9%)で, 死亡群では PS 2 が 4 例(21.1%), PS 3 と 4 とが 15 例(78.9%)であり, 死亡群では生存群と比べて有意に全身状態不良例が多かった ($p < 0.01$) (Fig. 2)。

呼吸器感染症発症時の検査所見は, 死亡群では生存群と比べて末梢白血球数, 好中球数は有意に高値であったが ($p < 0.05$), リンパ球数には有意差はなかった。また血清コリンエステラーゼ値 ($p < 0.01$), 血清アルブミン値 ($p < 0.05$), 総コレステロール値 ($p < 0.05$) は死亡群で

Table 4. Background of lung cancer patients with respiratory infection

Background	Total	Survival group	Deceased group	Statistical analysis
Sex				
male	102	87	15	N.S.
female	5	1	4	
age (mean±SD, years)	67.3±8.0	67.0±8.3	68.3±6.7	N.S.
Histology				
squamous cell carcinoma	56	44	12	
small cell carcinoma	23	20	4	N.S.
adenocarcinoma	24	20	3	
large cell carcinoma	4	4	0	
Stage				
I	9	9	0	
II	4	4	0	N.S.
III	48	38	10	
IV	46	37	9	

N.S.: not significant

は生存群と比べて有意に低値であった。免疫グロブリン値、免疫皮膚反応の陽性率は両群間に有意差はなかった (Table 6)。

(2) 敗血症の予後別病態解析

①患者背景

生存群は16例(平均年齢69.4±6.6歳, 男性14例, 女性2例), 死亡群は11例(平均年齢72.5±1.9歳, 男性9例, 女性2例)であった。肺癌組織型は腺癌10例, 扁平上皮癌8例, 小細胞癌8例, 大細胞癌1例, 肺癌病期は大半がⅢ・Ⅳ期例であった。敗血症発症前のPSは2の例が最も多かった。両群間に年齢, 性別, 肺癌病期に有意差はなかったが, 死亡群では肺癌組織型は腺癌と小細胞癌のみであった (Table 7)。

②血液培養分離菌

血液培養分離菌はグラム陽性菌12例, グラム陰性菌11例, 嫌気性菌1例, 複数菌感染3例であり, 菌種別では *S. aureus* と *Escherichia coli* (*E. coli*) との分離例が

Table 5. Bacteria isolated by transtracheal aspiration from lung cancer patients with respiratory infection

Organisms	Total	Survival group	Deceased group
<i>α-Streptococcus sp.</i>	31	25	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	29	24	5
<i>Neisseria sp.</i>	22	18	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	19	14	5
<i>Moraxella catarrhalis</i>	18	14	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	8	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	7	2
<i>Peptococcus sp.</i>	6	4	2
<i>Corynebacterium sp.</i>	5	4	1
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	5	5	0
<i>Bacteroides sp.</i>	2	1	1
Others	38	34	4

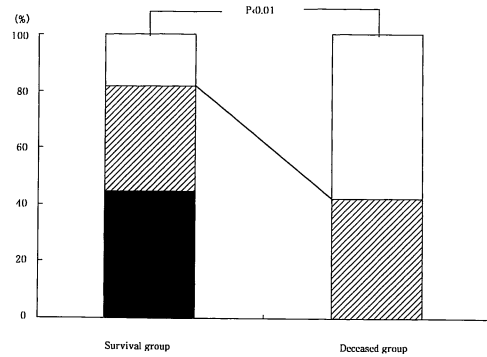


Fig. 1. Comparison of the timing of the onset of infection during anti-cancer therapy between the two groups

- longer than 30 days after the end of anti-cancer therapy
- ▨ within 30 days after the end of anti-cancer therapy
- before anti-cancer therapy

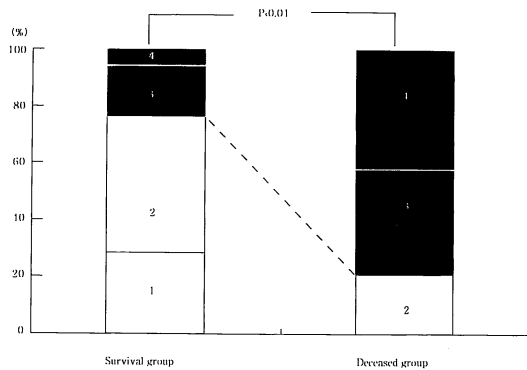


Fig. 2. Comparison of PS before the onset of respiratory infection between the two groups numbers: PS grades

Table 6. Laboratory findings at the onset of respiratory infection in lung cancer patients

Tests	Survival group	Deceased group	Statistical analysis
leucocyte counts (/μl)	9682.9±5202.5	13658.8±9159.8	P<0.05
neutrophil counts (/μl)	7600.8±4759.9	10719.7±8574.9	P<0.05
lymphocyte counts (/μl)	1523.9±1103.7	1145.6±1167.6	N.S.
cholinesterase (IU/l)	318.0±117.3	206.5±91.4	P<0.01
total protein (g/dl)	6.5±0.8	6.2±0.8	N.S.
albumin (g/dl)	3.4±0.5	3.2±0.5	P<0.05
total cholesterol (mg/dl)	155.0±39.0	129.9±32.7	P<0.05
IgA (mg/dl)	328.2±345.3	389.8±117.3	N.S.
IgM (mg/dl)	140.5±159.9	129.7±61.6	N.S.
IgG (mg/dl)	1375.4±497.6	1618.9±347.1	N.S.
PPD positive ratio (%)	75.0	57.2	N.S.
DNCB positive ratio (%)	38.8	21.4	N.S.

N.S.: not significant

多かった。また死亡例では *E. coli* 分離例と複数菌分離例とが多い傾向であった (Table 8)。

③発症誘因

発症誘因は呼吸器感染症 14 例 (51.9%)、尿路感染症 5 例 (18.5%) などであったが、両群間の発症誘因に大差は

なかった (Table 9)。

④臨床検査成績

敗血症発症時の検査所見は、死亡群では生存群と比べて好中球数が有意に高値で ($p < 0.05$)、血清アルブミン値が有意に低値であった ($p < 0.05$) (Table 10)。

Table 7. Background of lung cancer patients with sepsis included in this study

Background	Total (n=27)	Survival group (n=16)	Dead group (n=11)	Statistical analysis
Age (mean±SD, years)	70.7±6.6	69.4±6.6	72.5±1.9	N.S.*
Sex				
male	23	14	9	
female	4	2	2	N.S.
Histology				
adenocarcinoma	10	5	5	
squamous cell carcinoma	8	8	0	
small cell carcinoma	8	2	6	
large cell carcinoma	1	1	0	P<0.05
stage				
II	1	1	0	
III	15	11	4	
IV	11	4	7	N.S.
PS before infection				
0	1	0	1	
1	8	7	1	
2	10	4	6	
3	4	4	0	
4	4	1	3	N.S.

N.S. : not significant

Table 8. Organisms isolated from the blood of sepsis in lung cancer patients

Organisms	Total (n=27)	Survival group (n=16)	Dead group (n=11)
Single agents	24 (88.9%)	16 (100%)	8 (72.7%)
gram positive	12 (44.4%)	9 (56.2%)	3 (27.3%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	5	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	2	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	1	1
other	1	1	0
gram negative	11 (40.7%)	6 (37.5%)	5 (45.4%)
<i>Escherichia coli</i>	4	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	3	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	1
other	1	0	1
anaerobic	1 (3.8%)	1 (6.3%)	0 (0%)
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	1	0
polymicrobial agents	3 (11.1%)	0 例 (0%)	3 (27.3%)
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Streptococcus anginosus</i>	1	0	1
<i>Morganella morganii</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	1	0	1

Table 9. Focus lesions causing sepsis in lung cancer patients

Focus lesions	Total (n=27)	Survival group (n=16)	Dead group (n=11)
respiratory infection	14 (51.9%)	10	4
urinary tract infection	5 (18.5%)	2	3
colitis	3 (11.1%)	1	2
intravenous catheter	1 (3.7%)	1	0
muscular abscess	1 (3.7%)	1	0
unknown	3 (11.1%)	1	2

敗血症発症時の好中球数が1000/ μ l未満の例では3例、好中球数が1000/ μ l以上の例では8例が死亡したが、好中球数1000/ μ l未満の好中球減少と敗血症の予後とは有意な関連はなかった。一方敗血症発症時の血清アルブミン値が3.0 g/dl未満の例では7例、血清アルブミン値が3.0 g/dl以上の例では4例が死亡し、血清アルブミン値が3.0 g/dl未満の例の予後は有意に不良であった(p<0.05)(Table 11)。

抗癌化学療法等による好中球減少は感染防御に重要な問題であるので、好中球数が1000/ μ l未満の好中球減少群と好中球数が1000/ μ l以上の好中球非減少群とに分け、各群で生存、死亡例の臨床所見を比較検討した。好中球減少群では死亡例は生存例と比べて有意に高齢で

Table 10. Laboratory findings at the onset of sepsis in lung cancer patients included in this study

Tests	Total (n=27)	Survival group (n=16)	Dead group (n=11)	Statistical analysis
leukocyte counts (/ μ l)	6067.9±5987.2	4368.8±5085.5	8539.4±6562.8	N.S.*
neutrophil counts (/ μ l)	3894.5±5426.0	2814.4±3568.4	7731.0±6539.0	P<0.05
lymphocyte counts (/ μ l)	553.1±451.0	524.9±408.9	984.5±1368.7	N.S.
total protein (g/dl)	5.6±0.8	5.7±0.6	5.4±1.0	N.S.
albumin (g/dl)	3.0±0.8	3.2±0.4	2.7±0.6	P<0.05
cholinesterase (IU/l)	205.9±124.1	237.9±1129.7	145.9±91.9	N.S.
total cholesterol (mg/dl)	161.9±56.1	153.5±55.2	174.0±58.5	N.S.

*N.S. : not significant

Table 11. Relationship between prognosis and neutrophil counts or serum albumin level

Tests	Survival group (n=16)	Dead group (n=11)
neutrophil counts<1000/ μ l	9	3
neutrophil counts \geq 1000/ μ l	7	8 (N.S.)
albumin<3.0 g/dl	4	7
albumin \geq 3.0 g/dl	12	4 (P<0.005)

*N.S. : not significant

Table 12. Age and laboratory findings at the onset of sepsis in lung cancer patients with neutropenia (<1000/ μ l)

Tests	Total (n=12)	Survival group (n=9)	Dead group (n=3)	Statistical analysis
age (mean±SD, years)	69.7±7.3	66.6±6.7	76.3±2.1	P<0.05
leuckocyte counts (/ μ l)	794.4±610.3	977.8±567.4	244.3±394.7	N.S.*
neutrophil counts (/ μ l)	213.1±478.8	280.7±542.8	10.7±6.7	N.S.
lymphocyte counts (/ μ l)	824.1±1314.5	564.0±393.1	160.0±158.0	N.S.
total protein (g/dl)	5.7±0.8	5.8±0.7	5.3±1.3	N.S.
albumin (g/dl)	3.2±0.4	3.3±0.3	2.8±0.5	P<0.05
cholinesterase (IU/l)	251.6±145.0	264.4±151.5	194.0±135.8	N.S.
total cholesterol (mg/dl)	147.9±38.5	144.9±38.5	160.0±50.9	N.S.

*N.S. : not significant

($p < 0.05$), 好中球数減少が高度, 血清アルブミン値が有意に低値であった。($p < 0.05$) (Table 12). 好中球非減少群では死亡例は生存例と比べて白血球数, 好中球数が高値, 血清総蛋白値, 血清アルブミン値および血清コリンエステラーゼ値は低値傾向にあった (Table 13).

(II) 肺癌患者の末梢血単核球のサイトカイン mRNA 発現の解析

正常アルブミン血症群では, IL-1 β が 87.3 %, IL-2 が 31.3 %, IL-3 が 62.5 %, IL-4 が 50.0 %, IL-5 が 31.3 %, IL-6 が 43.8 %, IL-8 が 93.7 %, IFN- γ が 93.7 %, TNF- α が 47.2 %, G-CSF が 0 %, GM-CSF が 43.7 % の例で mRNA が発現し, 低アルブミン血症群では IL-1 β が 0 %, IL-2 が 10 %, IL-3 が 60 %, IL-4

が 30 %, IL-5 が 30 %, IL-6 が 60 %, IL-8 が 40 %, IFN- γ が 40 %, TNF- α が 10 %, G-CSF が 0 %, GM-CSF が 30 % の例で mRNA が発現した. 低アルブミン血症群では正常アルブミン血症群と比べて, IL-1 β ($p < 0.01$), IL-8 ($p < 0.05$), IFN- γ ($p < 0.05$), TNF- α ($p < 0.01$) で mRNA の発現率が有意に低値であった (Fig. 3).

(III) 末梢血単核球培養系でのサイトカイン・MBP mRNA の動態の解析

分離単核球を PHA 非添加 24 時間培養後の平均 mRNA の発現量は正常アルブミン血症群では IL-1 β が 86.9 %, IL-2 が 63.6 %, IL-8 が 54.8 %, IFN- γ が 11.0 %, TNF- α が 47.2 %, MBP が 72.7 % であった. 低アルブミン血症群では IL-1 β が 3.5 %, IL-2 が 5.0

Table 13. Age and laboratory findings at the onset of sepsis in lung cancer patients without neutropenia

Tests	Total (n=15)	Survival group (n=7)	Dead group (n=8)	Statistical analysis
age (mean \pm SD, years)	72.0 \pm 5.8	73.1 \pm 4.6	71.0 \pm 6.9	N.S.*
leucocyte counts (/ μ l)	10286.6 \pm 4834.7	8728.5 \pm 4980.1	11650.0 \pm 4575.7	N.S.
neutrophil counts (/ μ l)	8907.0 \pm 4342.4	6615.0 \pm 2508.4	10626.1 \pm 4756.5	N.S.
lymphocyte counts (/ μ l)	629.5 \pm 493.2	466.2 \pm 462.2	752.0 \pm 509.1	N.S.
total protein (g/dl)	5.5 \pm 0.8	5.4 \pm 0.9	4.6 \pm 0.6	N.S.
albumin (g/dl)	2.8 \pm 0.5	2.9 \pm 0.6	2.7 \pm 0.6	N.S.
cholinesterase (IU/l)	164.0 \pm 87.7	198.2 \pm 85.0	129.8 \pm 83.1	N.S.
total cholesterol (mg/dl)	173.6 \pm 66.9	167.4 \pm 78.3	178.0 \pm 63.6	N.S.

*N.S. : not significant

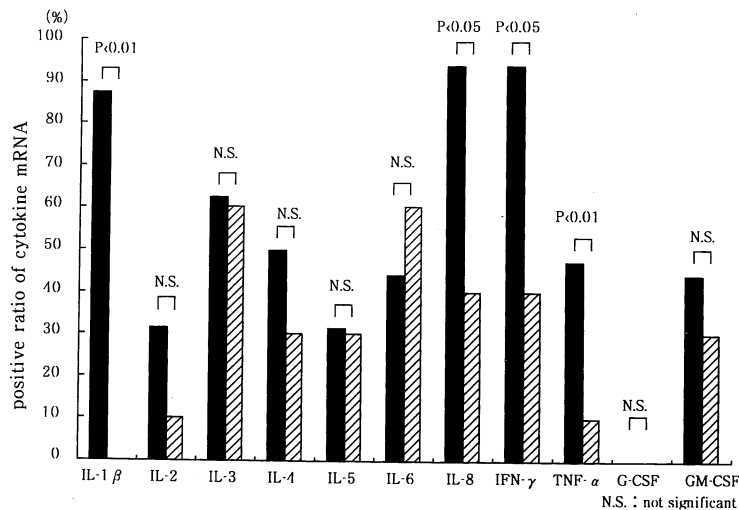


Fig. 3. Frequency of the positive expression of mRNAs for cytokines in RNA from peripheral blood mononuclear cells

■ Normoalbuminemia group
▨ Hypoalbuminemia group

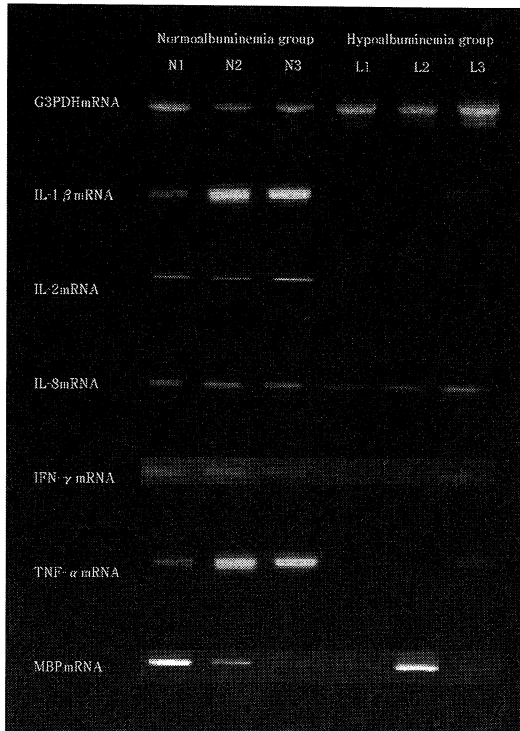


Fig. 4. Expression of mRNAs for cytokines and MBP in RNA extracted from cultured peripheral blood mononuclear cells without PHA stimulation

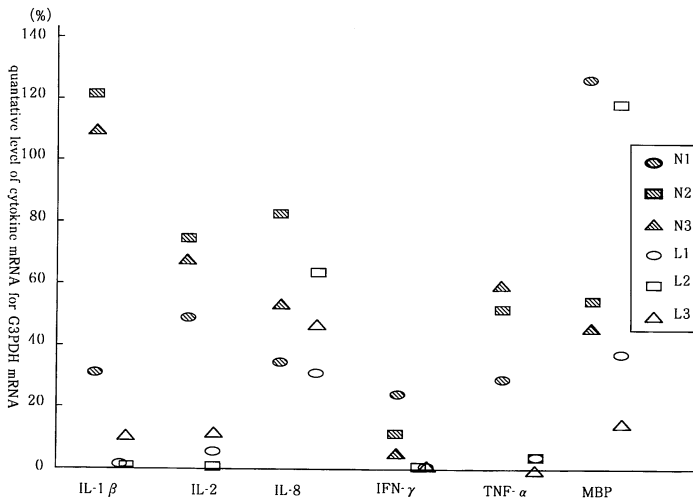


Fig. 5. Semiquantitation of expression levels of mRNAs for cytokines and MBP. RNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells without PHA stimulation. The expression level of mRNA for each cytokine and MBP was expressed by the density ratio of cytokine and MBP mRNA to G3PDH mRNA.

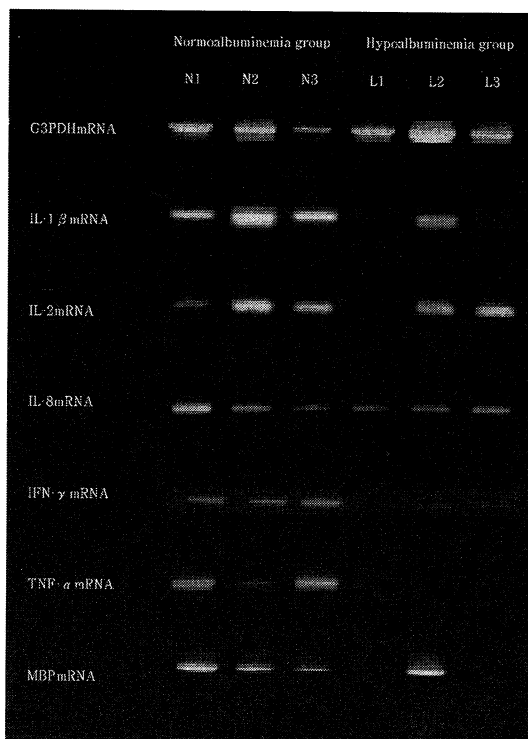


Fig. 6. Expression of mRNAs for cytokines and MBP in RNA extracted from cultured peripheral blood mononuclear cells with PHA stimulation

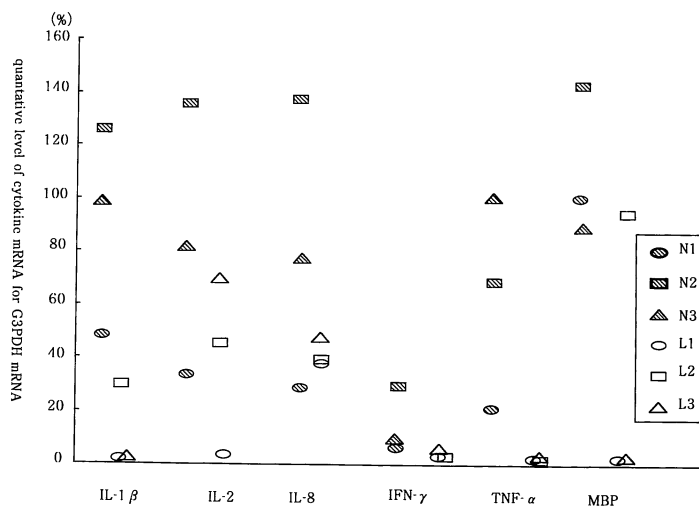


Fig. 7. Semiquantitation of expression levels of mRNAs for cytokines and MBP. RNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells with PHA stimulation. The expression level of mRNA for each cytokine and MBP was expressed by the density ratio of cytokine and MBP mRNA to G3PDH mRNA.

%, IL-8が49.2%, IFN- γ が0.4%, TNF- α が0%, MBPが57.3%であった。いずれの平均 mRNA 発現量も低アルブミン血症群では正常アルブミン血症群と比べて低値であった(Fig. 4, 5)。

分離単核球を PHA 添加 24 時間培養後の平均 mRNA 発現量は正常アルブミン血症群では IL-1 β が 89.9%, IL-2 が 84.2%, IL-8 が 80.1%, IFN- γ が 13.3%, TNF- α が 61.3%, MBP が 110.5% であった。低アルブミン血症群では IL-1 β が 9.6%, IL-2 が 41.0%, IL-8 が 42.3%, IFN- γ が 4.7%, TNF- α が 0%, MBP が 32.3% であった。いずれの平均 mRNA 発現量も低アルブミン血症群では正常アルブミン血症群と比べて低値であった(Fig. 6, 7)。

考 察

肺癌患者は癌に伴う免疫能の低下や抗癌治療の影響などで、感染症を合併しやすく、重篤化することも多い。肺癌患者では呼吸器感染症の合併率が 22.4~47.4%, 呼吸器感染症が直接死因となることが 20~40% とされ^{10,11)}, 肺癌患者に合併する感染症の対策は重要な課題である。

対策を考えるには肺癌に合併する感染症の病態を把握する必要があり、本研究では肺癌患者に合併した呼吸器感染症と敗血症とを正確に診断し、その予後を中心に各々の病態を解析した。その結果低アルブミン血症が肺癌患者に合併する感染症の予後予測因子の一つであることが明らかになり、低アルブミン血症と感染免疫に関与するサイトカイン・MBP の動態との関連を検討した。

(I) 肺癌に合併した感染症の予後別病態解析

呼吸器感染症を合併する肺癌の組織型は扁平上皮癌が多く、それは扁平上皮癌が上皮内進展をとり、気道の中核側発生が多いなどの特徴を有するためとされている¹²⁾。本研究でも呼吸器感染症を合併した肺癌の組織型は扁平上皮癌が最も多く、ついで小細胞癌が多かったので、中核型肺癌は呼吸器感染症の発症に注意する必要がある。しかしその予後は肺癌組織型とは無関係に肺炎を発症した場合の予後が不良であることを明らかにした。

一般に敗血症は原発感染巣が不明な原発性敗血症と原発感染巣が明らかな続発性敗血症とに分類され¹³⁾, 前者の頻度は 20~30% とされている¹⁾。本研究では呼吸器感染症からの続発性敗血症が多く、肺癌患者に合併している呼吸器感染症に注意が必要であることを明らかにした。

従来肺癌患者に合併する呼吸器感染症では *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *S. aureus*, *P. aeruginosa* 等が重要な細菌とされていたが、本研究での TTA 分離

菌は *S. pneumoniae*, α -*Streptococcus* 属, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* 等が多く、正確な起炎菌決定方法で検討した結果と考える。しかし α -*Streptococcus* 属, *Neisseria* 属等の上気道・口腔内常在細菌の分離頻度も高いので、肺癌患者では下気道への病原微生物進入防御機構や下気道の粘液線毛輸送機構障害などの局所防御能が低下している¹⁴⁾ことを下気道内の分離細菌で初めて証明したと考える。一方敗血症分離菌は血液悪性腫瘍患者ではグラム陽性球菌の分離率が増加し、敗血症全体では、グラム陽性球菌がグラム陰性桿菌の検出数を上回り、菌種別では *S. aureus* が最も多く、グラム陰性桿菌では *E. coli*, *K. pneumoniae* が多くとされる^{14,15)}。本研究では肺癌に合併した敗血症でもグラム陽性菌が多く分離され、菌種別では *S. aureus*, *E. coli* が多く、他の敗血症の分離菌と類似の傾向を示していることを初めて明らかにした。

血液悪性腫瘍患者に合併する敗血症は抗癌化学療法後の好中球数減少症例に多い¹⁶⁾が、G-CSF 製剤が投与され、敗血症発症の頻度は低下してきている¹⁶⁾。近年肺癌患者にも強力抗癌化学療法を行い、好中球数が著明に減少する症例もあるが、当科では好中球減少例には G-CSF 製剤を投与しているため、呼吸器感染症では抗癌療法中の死亡例が少なく、敗血症でも好中球減少例での死亡例が少なかったと考える。しかし好中球減少例での敗血症による死亡例は高齢であり、高齢者では G-CSF 製剤を使用しても重篤な好中球減少が起こる可能性があり注意すべきであることを本研究で指摘している。

肺癌患者では末梢血リンパ球数の減少、血清アルブミン値の低下、ツベルクリン反応の陰性化、PS の悪化などの宿主要因の悪化で感染症が悪化すると従来報告されている¹⁷⁾。また岸本ら¹⁸⁾も進行癌患者の感染症は栄養障害とリンパ球減少による液性免疫・細胞性免疫の低下とに起因すると指摘している。本研究では呼吸器感染症、敗血症とも生存・死亡群間にはリンパ球数に差はなかったが、死亡群では血清アルブミン値が有意に低値であり、低アルブミン血症が肺癌患者に合併する感染症の重要な予後予測因子の一つと考える。

(II) 肺癌患者の末梢血単核球のサイトカイン・MBP mRNA 発現・動態の解析

近年多くのサイトカインが発見され、その作用は複雑であるが、免疫に関連するサイトカインは大きく免疫調節性サイトカインと炎症性サイトカインとに分けられる。さらに免疫調節性サイトカインは T 細胞調節性サイトカイン、B 細胞活性化サイトカインに分類される。T 細胞調節性サイトカインには IL-1, IL-2, IFN- γ など、B 細胞活性化サイトカインには IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 な

どがある¹⁹⁾。また好中球の増殖分化に関与するサイトカインにはIL-3, G-CSF, GM-CSFなど、好中球機能に関与するサイトカインにはIL-1 β , IL-8, TNF- α などがある²⁰⁾。

一方肺癌に合併した感染症の予後別病態解析成績から、低アルブミン血症が肺癌患者に合併する感染症の重要な予後予測因子の一つであることを明らかにした。そこで低アルブミン血症を伴う肺癌患者の感染防御機構の障害を検討する必要がある、本研究では感染防御機構に関連するサイトカインとMBPとの発現・動態を中心に解析した。

合併症のない肺癌患者の末梢血単核球を分離直後にサイトカインmRNAの発現を検討した結果、低アルブミン血症群では正常アルブミン血症群に比べてIL-1 β , IL-8, IFN- γ , TNF- α のmRNAの発現率が有意に低く、IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, G-CSF, GM-CSFのmRNA発現率には有意差はなかった。したがって低アルブミン血症を伴う肺癌患者ではT細胞調節性サイトカインや好中球機能に関与するサイトカインの発現が低下しているが、B細胞活性化サイトカインや好中球増殖分化に関与するサイトカインの発現に差がないことをサイトカインmRNAレベルで初めて証明した。しかし感染などの生体刺激が加わるとサイトカイン発現状態が変化することは容易に理解できるので、肺癌患者の末梢血単核球を培養し、マイトジュンであるPHA刺激を加え、IL-1 β , IL-2, IL-8, IFN- γ , TNF- α のmRNA発現量を検討した結果、低アルブミン血症群では正常アルブミン血症群と比べていずれのサイトカインmRNA量も低値で、感染などの生体刺激が加わった状態でもT細胞調節性サイトカインや好中球機能に関与するサイトカインのmRNA発現が低いことを単核球培養モデルで併せて明らかにした。

従来から坦癌生体や低栄養状態では細胞性免疫能が低下するとされる。低蛋白血症ではIL-1の産生が減少、細胞性免疫能や貪食作用が低下すると指摘されている。肺癌患者では栄養障害が存在し、栄養障害を伴う肺癌患者ではIL-2産生能、NK活性の低下を認め、肺癌患者の栄養障害が細胞性免疫能と密接に関連するとされている^{21,22)}。一方IL-1はT細胞の活性化に働き、T細胞からIL-2の産生、IL-2Rの発現を増強し、T細胞の増殖を誘導するとともに、T細胞からIFN- γ の産生を促進する²³⁾。またヘルパーT細胞(Th)にはサイトカイン産生様式からTh1とTh2とがあると想定され、Th1はIL-2やIFN- γ を産生して細胞性免疫を活性化する²⁴⁾。感染や炎症が起こるとその局所でTh1が活性化され、速や

かにIL-2, IFN- γ を産生するため、ある種の感染症の治療にはTh1優位な免疫賦活を考える必要があるとされている²⁵⁾。低アルブミン血症を伴う肺癌患者ではIL-1 β を中心としたT細胞調節性サイトカイン産生低下で、細胞性免疫の障害が生じ、合併する感染症の予後が悪化する可能性を推察できる。

液性免疫能は一般に栄養障害があっても軽度で、リンパ球でのB細胞比率は正常、血清IgA, IgG, IgM, IgE値は正常ないし高値になるとされている²⁶⁾。本研究でもB細胞活性化サイトカインであるIL-3, IL-4, IL-5, IL-6のmRNA発現は正常・低アルブミン血症群間に差がなく、低アルブミン血症を伴う肺癌患者でも液性免疫能の障害は少ないと考える。

一方好中球は感染防御機構の中心的な役割をはたし、好中球は感染などの侵襲が起こると、局所のマクロファージから産生されるIL-1, IL-8, TNFの作用で炎症局所に集まり、血管内皮細胞に接着、ローリングし、組織内に侵入し、微生物の処理が行われる²⁷⁾。栄養状態と好中球機能とに関して、栄養状態が悪化したヒトや低蛋白マウスでは好中球機能が低下するとされている^{28,29)}。肺癌患者に合併する感染症の臨床病態解析で低アルブミン血症を伴う死亡例も好中球数の増加があり、低アルブミン血症群でも好中球の増殖分化に関与するサイトカインのmRNA発現に低下がなかったため、低アルブミン血症を伴う肺癌患者でも好中球の増殖分化は保たれていると考える。しかし低アルブミン血症を伴う肺癌患者では好中球機能に関与するサイトカイン産生が低下し、好中球機能の障害が生じ、合併する感染症を悪化させる可能性が示唆される。

オプソニン化は初期感染防御の主要な現象で、補体の活性化が必要とされる³⁰⁾。これまで肺癌で補体は検討されていない。しかし栄養障害のある患者ではC4の低下を伴わない低補体血症の存在を指摘され、補体値がアルブミン値と相関することから、この低補体血症は肝臓での補体産生低下のためとされている³¹⁾。本研究では低アルブミン血症でC3, C4, CH50は正常アルブミン血症群より低値傾向ではあったが、低補体血症は認めず、低アルブミン血症を伴う肺癌患者でも補体産生は保たれ、補体低下によるオプソニン化障害の可能性は少ないと考える。一方MBPはオプソニン化に関与する蛋白で、MBP変異、欠損による反復感染の報告がされている^{6,7)}。そこで本研究では低アルブミン血症を伴う肺癌患者でのMBPmRNA発現量を単核球培養モデルで検討した結果、低アルブミン血症群では正常アルブミン血症群に比べ、PHA非刺激状態でMBPmRNA発現量は低く、さら

に PHA 刺激では MBPmRNA 発現量がより低下している。これは低アルブミン血症を伴う肺癌患者では感染刺激などが MBP 誘導蛋白遺伝子の転写活性の低下と関連する可能性を示唆し、補体の影響ではなく MBP 産生低下が、オプソニン化を障害し合併する感染症を悪化させる可能性があるかと推察される。

以上から本研究では低アルブミン血症を伴う肺癌患者で T 細胞性免疫・好中球機能に関するサイトカインや MBP 産生の低下が合併する感染症の予後悪化に関連していると考えられ、肺癌患者に合併する感染症の予後予測には低アルブミン血症が臨床意義があることを明確にした。

結 語

肺癌患者に合併した呼吸器感染症と敗血症とを正確に診断し、その予後を中心に各々の病態を解析し、肺癌患者に合併する感染症の予後因子を見だし、その因子とサイトカイン・MBP の発現・動態との関連を RT-PCR 法で解析、検討した。

(I) 肺癌に合併した感染症の予後別病態解析

呼吸器感染症は中枢型肺癌に合併しやすいが、肺癌組織型と予後とは無関係で、肺炎例の予後が不良であることを明らかにした。

肺癌患者に合併する敗血症は呼吸器感染症からの続発性敗血症が多く、注意が必要であることを明らかにした。

肺癌患者に合併する呼吸器感染症も、TTA 分離菌は他の呼吸器感染症と同様に *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* 等が多いことを明らかにし、 α -*Streptococcus* 属などの上気道・口腔内常在細菌の分離頻度も高いことから、肺癌患者では下気道の局所防御能の低下が存在することを、下気道内分離細菌の動態から初めて証明した。

肺癌に合併する敗血症の分離菌は *S. aureus*, *E. coli* が多く、他の敗血症分離菌と類似していることを明らかにした。

高齢者では G-CSF 製剤を使用しても抗癌治療後に重篤な好中球減少が起こる可能性を指摘した。

低アルブミン血症が肺癌患者に合併する感染症の重要な予後予測因子の一つであることを TTA 及び血液培養で細菌を分離した感染症症例の検討から明確にした。

(II) 肺癌患者の末梢血単核球からのサイトカイン・MBPmRNA 発現・動態の検討

低アルブミン血症を伴う肺癌患者では T 細胞調節性サイトカインと好中球機能に関するサイトカインとの mRNA 発現が低下するが、B 細胞活性化サイトカイン

や好中球増殖分化に関するサイトカインの mRNA 発現は低下しないことを分離単核球で初めて明らかにした。さらに PHA 刺激状態下でも T 細胞調節性サイトカインや好中球機能に関するサイトカインの mRNA 発現量が低いことを単核球培養モデルで初めて証明した。

したがって低アルブミン血症を伴う肺癌患者では液性免疫や好中球の増殖分化の障害ではなく、T 細胞調節性サイトカインと好中球機能に関するサイトカインとの産生低下で、細胞性免疫・好中球機能の障害が生じ、合併する感染症の予後が悪化すると考えた。

また低アルブミン血症を伴う肺癌患者で単核球培養モデルを用いて MBPmRNA 発現量の低下を初めて確認し、補体の低下ではなく MBP 産生低下でオプソニン化障害が合併する感染症を悪化させると推察した。

本論文の要旨は第 69 回日本感染症学会総会(1995 年, 福岡), 第 37 回日本胸部疾患学会総会(1995 年, 名古屋), 第 70 回日本感染症学会総会(1996 年, 東京), 7th international congress of infectious disease(1996 年, Hong-Kong), 第 37 回日本肺癌学会総会(1996 年, 神戸), 第 71 回日本感染症学会総会(1997 年, 札幌)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内科学第 2 講座成田亘啓教授、細菌学講座喜多英二教授に心から感謝致しますとともに、御校閲、御助言を賜りました病態検査学講座中野 博教授に深謝します。また日々の研究にあたり終始懇切なる御指導頂いた古西 満助手をはじめ、澤木政好助教授、三笠桂一助手、濱田 薫助手、前田光一助手に感謝の意を捧げます。さらに本研究に御協力いただいた内科学第 2 講座、細菌学講座ならび中央臨床検査部の諸兄姉に感謝致します。

文 献

- 1) 舟田 久: 臨床検査 38 : 1371, 1994.
- 2) Inagaki, J., Rodriguez, V. and Bodey, G. P. : Cancer 33 : 568, 1974.
- 3) 古西 満, 澤木政好, 三笠桂一, 前田光一, 森 啓, 寺本正治, 坂本正洋, 辻本正之, 竹内章治, 濱田 薫, 国松幹和, 成田亘啓: 感染症誌 68 : 1264, 1994.
- 4) Joachim, R., Werner, L., Hansruedi, L., Hansruedi, L., Yolande, L., Pascale, K., Frank, K., Alana, A., Rolf, Z., Micheal, S. and Horst, B. : Nature 364 : 798, 1993.

- 5) **Tripp, C. S., Gately, M. K., Hikami, J., Ling, P. and Unanue, E. R.** : *Infect. Immun.* **152** : 1883, 1994.
- 6) **Super, M. and Ezekowitz, R. A.** : *Infect-Agents-Dis.* **1** : 194, 1992.
- 7) **Madsen, H. O., Garred, P., Thiel, S., Kurtzhals, J. A. L., Lamm, L. U., Ryder, L. P. and Svajgaard, A.** : *J. Immunol.* **155** : 3013, 1995.
- 8) **Bone, R. C.** : *Ann. Intern. Med.* **114** : 332, 1991.
- 9) **Piotr, C. and Nicoletta, S.** : *Anal. Bioche* **162** : 56, 1987.
- 10) 志摩 清, 徳永勝正, 六反田学 : *肺癌* **16** : 173, 1976.
- 11) 大泉耕太郎, 佐々木昌子, 渡辺 彰, 青沼清一, 大沼菊雄, 大谷紀子, 佐々木玲子, 今野 淳 : *癌の臨床* **31** : 1203, 1985.
- 12) **Straus, S. E., Pizzo, P. A. and Lutwick, L. I.** : *Clinical Diagnosis and Treatment*, 2nd. ed., Grune and Stratton Inc, New York, p. 293, 1983.
- 13) 舟田 久 : *敗血症とその周辺疾患*, 新興医学出版社, 東京, p. 1, 1986.
- 14) 永田忍彦, 高山浩一, 石橋凡雄, 重松信昭, 居石克夫 : *日胸疾会誌* **28** : 1059, 1990.
- 15) 小林芳夫 : *臨床検査* **38** : 1375, 1994.
- 16) **Funada, H., Machi, T. and Matsuda T.** : *Jap. J. Clin. Oncol.* **18** : 239, 1988.
- 17) 石引久弥, 相川直樹, 熊井浩一郎, 奥沢星二郎, 鈴木啓一郎 : *日本臨床* **42** : 998, 1984.
- 18) 岸本 進, 川瀬一郎 : *医学とあゆみ* **126** : 578, 1983.
- 19) 上出利光 : *医科免疫学*, 南江堂, 東京, p. 147, 1995.
- 20) **Abul, K. B., Andrew, H. L. and Jordan, S. P.** : *Effector Mechanisms of Immune Responses ; cellular and molecular immunology*, W. B. Saunders Company, Philadelphia, p. 237, 1996.
- 21) **Bhaskaram, P. and Sivakumar, B.** : *Arch Dis Childh.* **61** : 182, 1986.
- 22) 米田尚弘, 福岡和也, 吉川雅則, 夫 彰啓, 徳山猛, 塚口勝彦, 友田恒一, 福岡篤彦, 仲谷宗裕, 寺本正治, 山本智生, 濱田 薫, 長 澄人, 田村猛夏, 北村 曠, 成田亘啓 : *日胸* **53** : 111, 1994.
- 23) **Kaya, J., Gillis, S., Mizel, S. B., Shevach, E. M., Malek, T. R., Dinarello, C. A., Lachman, L. B. and Janeway, C. A. J. R.** : *J. Immunol.* **133** : 1339, 1984.
- 24) **Mosman, T. R. and Coffman, R. L.** : *Ann. Rev. Immunol.* **7** : 145, 1989.
- 25) **Schlesinger, L., Ohlbaum, A. and Grez, L.** : *Malnutrition and the Immune Response*. Raven Press, New York, p. 91, 1997.
- 26) 森 啓子, 村口 篤 : *栄養免疫学*. 医歯薬出版 : 東京. p. 51, 1996.
- 27) 吉田祥吾, 白水勇一郎, 野明俊裕, 石橋生哉, 白水 和雄, 掛川輝夫 : *栄養免疫学*. 医歯薬出版 : 東京. p. 106, 1996.
- 28) **Chandra, R. K.** : *Lancet* **321** : 688, 1983.
- 29) **Hamm, M. W.** : *J. Nutr.* **114** : 511, 1984.
- 30) 今村正克 : *医科免疫学*, 南江堂, 東京, p. 351, 1995.
- 31) **Haller, L., Zubler, L. H. and Lambert, P. H.** : *Clin Exp Immunol.* **34** : 248, 1978.