

胃癌および大腸癌における所属リンパ節の リンパ球サブセット分析および比較検討

安 達 互

信州大学医学部第2外科学教室
(主任: 飯田 太教授)

Flow Cytometric Analyses of Lymphocyte Subsets of Regional Lymph Nodes in Gastric and Colorectal Cancer Patients

Wataru ADACHI

Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Futoshi IIDA)

Lymphocyte subsets of regional lymph nodes were analyzed in 29 gastric and 20 colorectal cancer patients, using monoclonal antibodies and flow cytometry to clarify the antitumor behavior of the nodes. Lymph nodes dissected at the time of operation on the patients were subjected to this study, and metastatic nodes were omitted. The nodes were subgrouped into 34 paragastric nodes, 24 intermediate nodes of the stomach, 26 paracolic nodes and 18 intermediate nodes of the colon. As control, lymph nodes taken at the time of operation on 19 patients with cholelithiasis were used; 11 paragastric nodes from 8 patients and 9 paracolic and 8 intermediate nodes from 11 patients.

In comparison with control, the rate of Leu3a⁺8⁻ (helper T) cells was significantly decreased in the gastric cancer patients, and those of Leu3a⁺8⁻ cells and Leu12⁺ (B) cells were significantly increased in the colorectal cancer patients. Comparative studies between proximal and distal groups of the regional nodes revealed an increase of Leu12⁺ (B) cells in the paragastric nodes compared with the intermediate nodes in gastric cancer patients. In colorectal cancer patients, Leu3a⁺8⁻ (helper T) cells were more increased in the paracolic nodes than in the intermediate nodes. No significant differences were observed on the rates of Leu2a⁺15⁻ (cytotoxic T), Leu7⁺ (NK) and Leu11a⁺ (NK) cells in all lymph node groups between gastric and colorectal cancer patients.

These results suggest that antitumor immunity of the nodes may not be enhanced in gastric and colorectal cancer patients, but antibody production may be increased by the increased rates of Leu3a⁺8⁻ (helper T) cells and Leu12⁺ (B) cells in the nodes of colorectal cancer patients.
Shinshu Med. J., 38: 381-390, 1990

(Received for publication March 15, 1990)

Key words: regional lymph node of gastric cancer, regional lymph node of colorectal cancer, lymphocyte subset, flow cytometry

胃癌所属リンパ節, 大腸癌所属リンパ節, リンパ球サブセット

I 緒 言

腫瘍の発育に対するリンパ節の防御的役割を示唆する実験的研究としては Mitchison¹⁾, Fisher, B. と Fisher, E. R.²⁾, Goldfarb と Hardy³⁾ の報告をはじめとして多数の業績がみられる。一方、ヒトの自然発生腫瘍における所属リンパ節については、病理組織学的立場からの⁴⁾⁵⁾,あるいは免疫組織化学的⁶⁾⁷⁾,または免疫学的⁸⁾⁹⁾手法によるリンパ球の機能分析などにより、その抗腫瘍能が検討されてきた。しかし、これらの研究には、リンパ節の抗腫瘍能を支持する報告⁴⁾⁶⁾⁸⁾と、逆に抗腫瘍能の低下を主張する報告⁵⁾⁹⁾がみられ、いまだ一定の見解は得られていない。また、従来のヒトの癌における研究では、ある特定の癌についてのリンパ節の免疫能を検索したものが多く、種類の異なった癌の所属リンパ節の免疫能を比較検討した成績はほとんどみられない。胃癌と大腸癌は消化器癌の中で最も頻度の高い癌であるが、大腸癌は胃癌に比較して手術成績が良好であることが知られており¹⁰⁾¹¹⁾,この原因についてはそれぞれの癌が有する特殊性として理解されるにとどまり、明確な説明はなされていない。

近年、モノクローナル抗体の作製手技の確立により種々のリンパ球表面抗原に対する抗体が精製され、これらを用いてリンパ球の機能を反映したリンパ球サブセットを同定することが可能になった。リンパ球は循環系からリンパ組織内へ比較的自由に出入りする細胞であるが、リンパ組織は単なるリンパ球の貯留組織ではなく、リンパ球はここで種々の抗原刺激をうけ、サブセットに分かれて増殖し、成熟して effector 細胞へと機能分化を遂げると考えられている¹²⁾¹³⁾。したがって、リンパ節におけるリンパ球サブセットの変動はリンパ節における免疫反応を反映していると考えられる。著者は、リンパ球表面抗原に対するモノクローナル抗体を用いて、胃癌および大腸癌の所属リンパ節のリンパ球サブセットを分析し、それぞれの癌に対するリンパ節の反応性の相違を検討した。

II 対 象

1987年1月より1988年12月までの2年間に、信州大学第2外科および関連病院で、術前に免疫化学療法や放射線療法を行うことなく手術を施行した胃癌症例29例、大腸癌症例20例を研究対象とした。

胃癌症例のうちわけは、男性18例、女性11例であり、年齢は35歳から75歳、平均60.9歳であった。胃癌取扱

い規約¹⁴⁾により分類すると、癌の組織型は、乳頭腺癌4例、高分化型管状腺癌6例、中分化型管状腺癌5例、低分化腺癌9例、膠様腺癌1例、印環細胞癌4例であった。組織学的進行程度は、stage I 16例、stage II 5例、stage III 6例、stage IV 2例であった。

大腸癌症例のうちわけは、男性15例、女性5例であり、年齢は45歳から86歳、平均65.7歳であった。大腸癌取扱規約¹⁵⁾により分類すると、癌の組織型は、高分化型腺癌9例、中分化型腺癌9例、粘液癌2例であった。組織学的進行程度は、stage I 5例、stage II 7例、stage III 4例、stage IV 4例であった。

これらの症例について手術時に摘出した所属リンパ節のうち、病理組織学的に転移を認めないリンパ節を使用した。リンパ節の群別分類は胃癌および大腸癌取扱規約に従った。胃癌29例の1群リンパ節として腫瘍近傍のリンパ節34個を、2群リンパ節として総肝動脈幹前上部リンパ節24個を用いた。また大腸癌20例の1群リンパ節として腫瘍縁より口側ならびに肛門側へそれぞれ5cm以内の傍結腸または傍直腸リンパ節26個を、2群リンパ節として辺縁動静脈から幹動静脈までの間の中間リンパ節18個を使用した。

また、胆石症8例の手術時に摘出した胃大弯リンパ節11個を胃癌の1群リンパ節に対応する対照として用いた。別の胆石症11例の手術時に摘出した横行結腸間膜の傍結腸リンパ節9個および中間リンパ節8個をそれぞれ大腸癌の1群ならびに2群リンパ節に対応する対照として用いた。

III 方 法

手術時に摘出したリンパ節を速やかに半切し、一方を病理組織学的検索に供した。他方を0.02M磷酸緩衝液(pH7.4)内で眼科用はさみを用いて細切後、10mlのプラスチック遠沈管に移して攪拌し、リンパ球を浮遊せしめ、10分間静置し、中間層を採取し、以下の蛍光抗体20 μ lと反応させた。Single-color flow cytometryには fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識の抗 Leu4, Leu2a, Leu3a, Leu7, Leu11a, Leu12 抗体 (Becton Dickinson Co, U. S. A.) を用いた。また、two-color flow cytometry として FITC 標識の抗 Leu2a 抗体, 抗 Leu3a 抗体とともに、phycoerythrin (PE) 標識の抗 Leu15, 抗 Leu8 抗体 (Becton Dickinson Co.) をそれぞれ使用した。1 \times 10⁶個のリンパ球を各抗体と冷暗所(4 $^{\circ}$ C)にて30分間反応させ、ISOTON III (Coulter Co, U. S. A.) にて

洗浄し, これを測定用検体とした。なお, 赤血球の混入のみられる検体に対しては, 0.83%トリス緩衝塩化アンモニウム溶液1.0mlを1分間反応させ, 赤血球を溶血させた後に ISOTONIII にて洗浄し測定に供した。

Epics V flow cytometer (Coulter Co, U. S. A.) にて, 488nm の argon レーザーを使用し, forward scatter および90° scatter によりリンパ球の集団に gate を設定し, single-color および two-color flow cytometry 法¹⁶⁾により, この gate 内の細胞3,000 個中に含まれる各種の抗原陽性細胞の百分率を求めた。これらのうち, 抗 Leu2a および Leu3a 抗体に対応する抗原陽性細胞は two-color flow cytometry でさらに2分されるので, 煩雑を避けるために two-color flow cytometry の成績のみについて検討を加えた。結果はすべて mean ± SD で表し, 統計処理には

Table 1 Phenotypes recognized with monoclonal antibodies and functional subsets of lymphocytes

Phenotypes	Functional subsets
Leu4 ⁺	pan T-cell
Leu2a ⁺ 15 ⁻	cytotoxic T
Leu2a ⁺ 15 ⁺	suppressor T
Leu3a ⁺ 8 ⁻	helper T
Leu3a ⁺ 8 ⁺	suppressor inducer T
Leu7 ⁺	NK cell
Leu11a ⁺	NK cell
Leu12 ⁺	B cell

Table 2 Comparison of lymphocyte subsets of lymph nodes in control

Lymphocyte subset	Stomach		Colon
	paragastric (%)	paracolic (%)	intermediate (%)
Leu4 ⁺	68.4 ± 9.5	73.2 ± 15.0	64.5 ± 18.4
Leu2a ⁺ 15 ⁻	11.2 ± 2.1	18.4 ± 8.2	16.8 ± 10.7
Leu2a ⁺ 15 ⁺	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.3	0.4 ± 0.5
Leu3a ⁺ 8 ⁻	58.4 ± 11.7 ^a	34.9 ± 9.3	38.4 ± 23.9
Leu3a ⁺ 8 ⁺	13.2 ± 12.6 ^b	33.9 ± 9.4 ^c	16.4 ± 12.8
Leu7 ⁺	0.8 ± 0.6	0.8 ± 0.4	0.6 ± 0.1
Leu11a ⁺	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.3	0.8
Leu12 ⁺	7.3 ± 7.1	3.0 ± 2.3	5.3 ± 2.8

Cells expressing each marker are presented as mean ± SD

a : p < 0.01 vs paracolic nodes

b : p < 0.05 vs paracolic nodes

c : p < 0.05 vs intermediate nodes of colon

Student's t-test を用い, p < 0.05 を有意とした。

なお, 本研究で使用したモノクローナル抗体により認識されるリンパ球の phenotype と機能との関係は Table 1 に示した。

IV 成績

A 対照リンパ節群間の比較検討

1 傍胃リンパ節と傍結腸リンパ節の比較

対照群の傍胃リンパ節と傍結腸リンパ節のリンパ球サブセットの比率を比較した。その成績は Table 2 に示すごとく, 各リンパ球サブセットのうち, Leu3a⁺8⁻細胞は傍胃リンパ節で有意 (p < 0.01) に高率であり, Leu3a⁺8⁺細胞は傍胃リンパ節で有意 (p < 0.05) に低率であった。その他のサブセットは, 両群間に有意差はみられなかった。

2 傍結腸リンパ節と結腸中間リンパ節の比較

対照群の傍結腸リンパ節と結腸中間リンパ節のリンパ球サブセットを比較すると, Table 2 に示すごとく, 各リンパ球サブセットのうち Leu3a⁺8⁺細胞のみが傍結腸リンパ節で有意 (p < 0.05) に高率であった。その他のサブセットは両群間に有意差はみられなかった。

3 全体像の比較

対照の各リンパ節群に共通する特徴的な所見は Leu3a⁺系細胞の分布である。傍胃リンパ節では Leu3a⁺8⁺細胞に比較して Leu3a⁺8⁻細胞が優位であるのに対し, 傍結腸リンパ節では両細胞がほぼ同率であった。一方, 結腸中間リンパ節では傍胃リンパ節に類似して Leu3a⁺8⁻細胞が優位の傾向が認められた。

B 胃癌ならびに大腸癌の所属リンパ節と対照リンパ節との比較

1 胃癌1群リンパ節について

Table 3 に示すごとく、胃癌の1群リンパ節では Leu4⁺ 細胞の各サブセットのうち Leu3a⁺8⁻ 細胞のみが対照に比較して有意 (p<0.05) に低率であった。Leu2a⁺15⁻, Leu2a⁺15⁺, Leu7⁺, Leu11a⁺ および Leu12⁺ 細胞は対照に比較して有意差はみられなかった。

2 大腸癌1群リンパ節について

Table 4 に示すごとく、大腸癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ 細胞および Leu12⁺ 細胞が対照に比較して有意 (p<0.01) に高率であり、Leu3a⁺8⁺ 細胞は有意 (p<0.01) に低率であった。Leu2a⁺15⁻, Leu2a⁺15⁺, Leu7⁺ および Leu11a⁺ 細胞は対照に比較して有意差

はみられなかった。

3 大腸癌2群リンパ節について

Table 4 ごとく大腸癌の2群リンパ節では Leu12⁺ 細胞が対照に比較して有意 (p<0.01) に高率であったが、他のサブセットは対照との間に有意差はみられなかった。

4 全体像の比較

対照との比較において胃癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ 細胞が低率であるが、Leu3a⁺8⁺細胞に対する優位性は保たれていた。大腸癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ 細胞と Leu3a⁺8⁺ 細胞の均衡が破れ、Leu3a⁺8⁻ 細胞が優位であった。また、全リンパ節群を通して Leu12⁺ 細胞がそれぞれの対照に比較して高率であったが、有意差がみられたのは大腸癌の1, 2群リンパ

Table 3 Lymphocyte subsets in paragastric nodes of gastric cancer patients

Lymphocyte subset	Gastric cancer (%)	Control (%)
Leu4 ⁺	64.1±14.2	68.4± 9.5
Leu2a ⁺ 15 ⁻	12.8± 3.7	11.2± 2.1
Leu2a ⁺ 15 ⁺	0.2± 0.2	0.1± 0.1
Leu3a ⁺ 8 ⁻	41.3±14.8*	58.4±11.7
Leu3a ⁺ 8 ⁺	14.0±10.6	13.2±12.6
Leu7 ⁺	0.6± 0.3	0.8± 0.6
Leu11a ⁺	0.7± 0.3	0.9± 0.2
Leu12 ⁺	13.2±10.1	7.3± 7.1

Cells expressing each marker are presented as mean±SD

*: p<0.05 vs control

Table 4 Lymphocyte subsets of paracolic and intermediate nodes in colorectal cancer patients

Lymphocyte subset	Colorectal cancer		Control	
	paracolic (%)	intermediate (%)	paracolic (%)	intermediate (%)
Leu4 ⁺	73.5± 9.5	60.2±14.9	73.2±15.0	64.5±18.4
Leu2a ⁺ 15 ⁻	10.8± 2.8	12.2± 6.0	18.4± 8.2	16.8±10.7
Leu2a ⁺ 15 ⁺	0.1± 0.2	0.1± 0.1	0.2± 0.3	0.4± 0.5
Leu3a ⁺ 8 ⁻	53.0±14.5*	39.3±14.4	34.9± 9.3	38.4±23.9
Leu3a ⁺ 8 ⁺	13.0± 8.6*	12.8±11.1	33.9± 9.4	16.4±12.8
Leu7 ⁺	0.9± 0.5	0.9± 0.8	0.8± 0.4	0.6± 0.1
Leu11a ⁺	0.4± 0.2	1.2± 1.2	0.7± 0.3	0.8
Leu12 ⁺	14.7± 7.7*	16.7±13.3*	3.0± 2.3	5.3± 2.8

Cells expressing each marker are presented as mean±SD

*: p<0.01 vs control

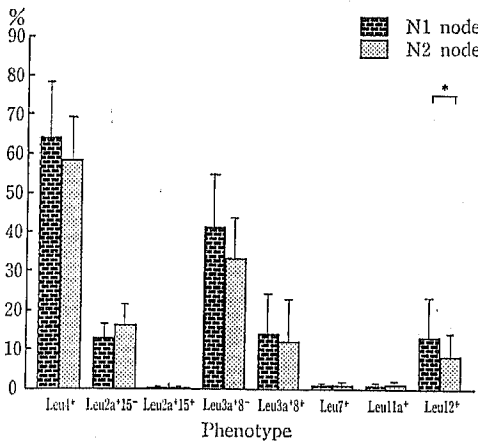


Fig. 1 Comparison of lymphocyte subsets between N1 and N2 nodes in gastric cancer patients

N1 node: paragastric node
 N2 node: node along common hepatic artery
 *: $p < 0.05$

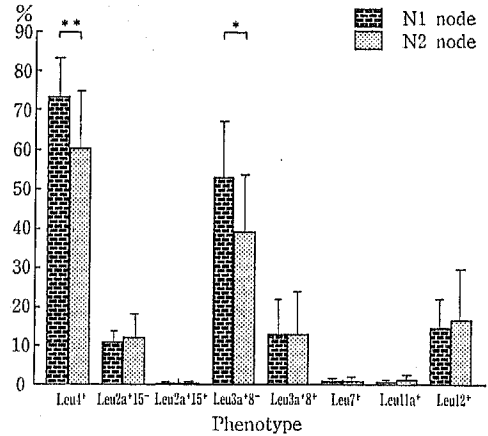


Fig. 2 Comparison of lymphocyte subsets between N1 and N2 nodes in colorectal cancer patients

N1 node: paracolic node
 N2 node: intermediate node
 *: $p < 0.05$
 **: $p < 0.01$

節のみであった。

C 胃癌および大腸癌における1群, 2群リンパ節間の比較

1 胃癌における比較

Fig. 1 に示すごとく, 胃癌においては1群リンパ節は2群リンパ節に比較して Leu12⁺ 細胞が有意 ($p < 0.05$) に高率であった。他のサブセットは1, 2群リンパ節間に有意差は認められなかった。

2 大腸癌における比較

Fig. 2 に示すごとく, 大腸癌では1群リンパ節は2群リンパ節に比較して, Leu4⁺ 細胞が有意 ($p < 0.01$) に高率であった。Two-color 分析を行って検討すると, Leu3a⁺8⁻ 細胞が1群リンパ節で有意 ($p < 0.05$) に高率であった。

3 全体像の比較

Fig. 1 に示す胃癌の1, 2群リンパ節の成績を, Fig. 2 に示す大腸癌の1, 2群リンパ節の成績と対比すると, 1, 2群リンパ節間の各リンパ球サブセットの比率は Leu12⁺ 細胞以外は両癌ともにほぼ同じ傾向を示した。その中で, Leu12⁺ 細胞は胃癌の1群リンパ節に有意に高率であり, Leu3a⁺8⁻ 細胞は大腸癌の1群リンパ節に有意に高率であった。

D 胃癌と大腸癌の同群所属リンパ節の比較

1 胃癌と大腸癌の1群リンパ節間の比較

胃癌と大腸癌の1群リンパ節のリンパ球サブセットを比較した成績を Table 5 に示した。大腸癌では胃癌に比べて Leu4⁺ 細胞が有意 ($p < 0.01$) に高率であった。Two-color 分析を行うと, 大腸癌では Leu3a⁺8⁻ 細胞が胃癌に比べて有意 ($p < 0.05$) に高率であった。Leu2a⁺15⁻, Leu2a⁺15⁺, Leu7⁺, Leu11a⁺ および Leu12⁺ 細胞については両群間に有意差はみられなかった。

2 胃癌と大腸癌の2群リンパ節間の比較

1群リンパ節と同様に2群リンパ節について検討すると, Table 5 に示すごとく, 胃癌に比べて大腸癌では Leu12⁺ 細胞が有意 ($p < 0.05$) に高率であったが, その他のサブセットでは両群間に有意差はみられなかった。

3 全体像の比較

胃癌と大腸癌の1群リンパ節におけるリンパ球サブセットの全体像を比較すると, 両癌ともに Leu3a⁺8⁻ 細胞優位であるが, 胃癌に比較して大腸癌にその傾向は著明であった。また, 両癌ともに Leu12⁺ 細胞が高率であった。2群リンパ節では Leu12⁺ 細胞が大腸癌に高率であった以外はほぼ同様の分布を示した。

Table 5 Comparison of lymphocyte subsets in regional lymph nodes between gastric and colorectal cancer patients

Lymphocyte subset	Gastric cancer		Colorectal cancer	
	paragastric (%)	N2 node (%)	paracolic (%)	intermediate (%)
Leu4 ⁺	64.1±14.2**	58.4±11.2	73.5± 9.5	60.2±14.9
Leu2a ⁺ 15 ⁻	12.8± 3.7	16.4± 5.6	10.8± 2.8	12.2± 6.0
Leu2a ⁺ 15 ⁺	0.2± 0.2	0.1± 0.1	0.1± 0.2	0.1± 0.1
Leu3a ⁺ 8 ⁻	41.3±14.8*	33.3±10.8	53.0±14.5	39.3±14.4
Leu3a ⁺ 8 ⁺	14.0±10.6	12.0±11.0	13.0± 8.6	12.8±11.1
Leu7 ⁺	0.6± 0.3	0.7± 0.5	0.9± 0.5	0.9± 0.8
Leu11a ⁺	0.7± 0.3	0.9± 0.7	0.4± 0.2	1.2± 1.2
Leu12 ⁺	13.2±10.1	8.5± 5.7*	14.7± 7.7	16.7±13.3

Cells expressing each marker are presented as mean±SD

* : p<0.05 vs colorectal cancer

** : p<0.01 vs colorectal cancer

N2 node : node along common hepatic artery

V 考 察

近年、リンパ球の表面抗原に対するモノクローナル抗体が多数精製され、これらの抗体により認識されるリンパ球の phenotype とリンパ球の機能的サブセットとの関連が明らかにされつつある。T細胞系では Landay ら¹⁷⁾, Clement ら¹⁸⁾により、Leu2a⁺15⁻細胞は cytotoxic T 細胞またはその前駆細胞であることが明らかにされた。また、Leu3a⁺8⁻細胞は, Ga-tenby ら¹⁹⁾, Kansas ら²⁰⁾により、B細胞の分化の促進作用と cytotoxic T 細胞の増強作用を持つことが明らかにされ、抗体産生系および抗腫瘍免疫の両者に対して helper 機能を有す細胞と考えられる。一方、Leu3a⁺8⁺細胞は、Damle ら²¹⁾により suppressor 細胞の inducer 機能を持つ細胞と報告されており、suppressor inducer T 細胞として知られている。しかし、最近、Kansas ら²⁰⁾は、Leu3a⁺8⁺細胞は cytotoxic T 細胞に対する増強作用も有していると報告しており、Leu3a⁺8⁺細胞の機能に関しては多少の問題点が残されている。T細胞系以外のリンパ球については Leu12⁺細胞はB細胞に²²⁾, Leu7⁺ および Leu11a⁺細胞はNK細胞²³⁾に相当することではほぼ意見の一致がみられている。

以上の知見を基礎にして、今回得られた成績を考察すると、まず対照とした正常リンパ節においては、

Leu 3a⁺系細胞の差異が目立ち、傍胃リンパ節では Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞が高率であったのに対し、傍結腸リンパ節では Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞と Leu3a⁺8⁺ (suppressor inducer T) 細胞とはほぼ同率であり、前者は傍胃リンパ節に比較すると低率であり、後者は傍胃リンパ節に比較して高率であった。また、結腸中間リンパ節は Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞がやや優位であった。すなわち、腹腔内リンパ節でも部位によりリンパ球サブセットの比率に差があることが明らかにされた。非癌患者の腹腔内リンパ節の部位によるリンパ球サブセットの相違について検索した報告は著者が検索した限りではみられない。今回の実験では、その原因や意義についてまで解明できなかったが、正常の胃と大腸を比較すると、胃は外来刺激に曝されやすく、また内視鏡的にはびらんや発赤が高率に認められることが知られている²⁴⁾。一方、正常大腸ではびらんや発赤を認めることは比較的少なく、常時大量の大腸菌に接触している。このような両臓器の環境の相違がそれぞれの所属リンパ節のリンパ球サブセットに何等かの影響を与えていることが推測される。

つぎに胃および大腸癌の所属リンパ節とそれぞれの対照リンパ節との比較では、胃癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ (helper T)細胞が減少したのに対し、大腸癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ (helper T)細胞および Leu12⁺ (B)細胞の増加と、Leu3a⁺8⁺ (sup-

pressor inducer T) 細胞の減少がみられ、 $\text{Leu3a}^+\text{8}^-$ (helper T) 細胞優位の分布を示した。以上の成績のうち、その機能に不明な点のある $\text{Leu3a}^+\text{8}^+$ 細胞を除外して考察すると、まず大腸癌の1群リンパ節では胃癌とは逆に helper T細胞が増加し、またB細胞の増加がみられた。Helper T細胞は前述したごとく、抗体産生と抗腫瘍免疫の両者を賦活する作用を有することが知られているが、今回の検討では大腸癌のリンパ節には cytotoxic T細胞に変動はみられなかった。すなわち、大腸癌では helper T細胞の増加は抗腫瘍免疫よりも抗体産生に対して強い helper 機能を発揮している可能性が考えられた。また、大腸癌の2群リンパ節ではB細胞のみの増加がみられたが、これは1群リンパ節における helper T細胞の増加が関与している可能性が推測される。一方、胃癌では helper T細胞の減少がみられたが、これと連動するリンパ球サブセットの明らかな変化はみられなかった。また、胃癌の2群リンパ節に相当する対照リンパ節は胆石症患者から採取することはできなかったため、対照リンパ節との比較による胃癌の2群リンパ節の評価はできなかった。

以上の成績から明らかなごとく、抗体産生系細胞の変動に比較すると、殺腫瘍細胞作用を有し、抗腫瘍免疫の effector 細胞であるとされる cytotoxic T細胞および NK 細胞²⁵⁾ は、胃癌、大腸癌のいずれにおいても明らかな変動を示さなかった。すなわち、胃癌と大腸癌の所属リンパ節では対照リンパ節に比較して抗腫瘍能の増強を示唆する所見は認められず、リンパ節における cytotoxic T細胞および NK 細胞の役割はさほど大きくないことが想像される。

胃癌および大腸癌のそれぞれにおける1、2群リンパ節の比較では、両癌ともにリンパ球サブセットはほぼ類似した分布を示した。その中でも胃癌では1群リンパ節にB細胞が高率であり、大腸癌では1群リンパ節に helper T細胞が高率であった。1群リンパ節は2群リンパ節に比較して腫瘍の近傍に存在し、より強い抗原刺激にさらされていると考えられる。胃癌および大腸癌の1群リンパ節におけるB細胞および helper T細胞の増加は1群リンパ節の抗体産生能への関与の増強を示唆する成績と考えられる。

消化管の所属リンパ節の免疫を論ずる場合、感染は重要な要素の1つである。感染をほぼ除外して考えることができる乳癌に関する Morton ら²⁶⁾ の報告では所属リンパ節の位置によるリンパ球サブセットの相違

はみられていない。Morton らのこの成績を参考にして著者の成績を考察すると、胃癌、大腸癌での1、2群リンパ節のリンパ球サブセットの相違には感染刺激が関与している可能性が考えられ、このことは消化管腫瘍の特徴の1つとすることができる。

つぎに、胃癌と大腸癌の同群リンパ節のリンパ球サブセットを比較した成績では、1群リンパ節では大腸癌に $\text{Leu3a}^+\text{8}^-$ (helper T) 細胞が高率であり、2群リンパ節では大腸癌に Leu12^+ (B) 細胞が高率であるという成績が得られた。前述のごとく、対照においては傍結腸リンパ節の $\text{Leu3a}^+\text{8}^-$ 細胞と $\text{Leu3a}^+\text{8}^+$ 細胞とはほぼ同率であったことを考えると、大腸癌の1群リンパ節で $\text{Leu3a}^+\text{8}^-$ 細胞が胃癌のそれより高率であるということは大きな変化といわざるを得ない。以上、対照リンパ節におけるリンパ球サブセットの百分率を基本にして、胃癌と大腸癌の1、2群リンパ節のリンパ球サブセットを種々の角度から比較、分析したが、全検討を通じて言い得ることは大腸癌では胃癌に比較して1群、2群リンパ節における helper T細胞およびこれと関連のあるB細胞が高率であるということである。一方、抗腫瘍免疫の effector 細胞である cytotoxic T細胞および NK 細胞については胃癌、大腸癌のいずれにおいても明らかな変動はみられず、リンパ節の抗腫瘍性に関しては両癌はほぼ同じ状態にあることが想像された。

胃癌の所属リンパ節のリンパ球サブセットを two-color flow cytometry を用いて検索し、その成績よりリンパ節の抗腫瘍能を推測する試みは、黒井ら²⁷⁾ の報告にみられる。黒井ら²⁷⁾ は、転移陰性リンパ節と転移陽性リンパ節のリンパ球サブセットを比較して転移陽性リンパ節での suppressor T細胞の増加を認め、リンパ節の抗腫瘍能が転移によって減弱することを報告している。本研究では転移成立前のリンパ節の状態を検索することが目的であり、また転移リンパ節からリンパ球のみを取り出すことは手技上の難点があり、その成績の信頼性に問題があるため、転移リンパ節の検索は行わなかった。

大腸癌の所属リンパ節について、松本²⁸⁾ は著者と同様、フローサイトメトリーを用いた検索により、大腸癌の所属リンパ節の抗腫瘍能が減弱する成績を報告した。しかし、松本の報告にはB細胞に関する記載がみられず、また対照として胃の所属リンパ節を用いているなど、著者の検索方法とは異なっている。本研究のごとく非癌状態における腹腔内リンパ節の部位による

リンパ球サブセットの相違を明らかにした上で、大腸癌の所属リンパ節の特徴を明らかにした報告はみられない。

本研究の結果より、両癌における所属リンパ節の相違は、抗腫瘍能よりも、むしろ抗体産生能の相違を反映しているものと解釈される。この原因としては、両癌の癌細胞自身の相違もさることながら、消化管内容の相違が大きな影響をおよぼしていると考えられる。消化管粘膜には、食餌性抗原、細菌、ウイルスなどの外来性抗原の侵入に対する防御機構として、粘液分泌、蛋白分解酵素、分泌型 IgA などの存在が認められている²⁹⁾。しかし、異常状態においては、浅井ら³⁰⁾は大腸癌における dimeric IgA の分泌機能の低下を、また菊池³¹⁾は非癌部に比べて癌周辺部の IgA 含有細胞の低下を観察しており、癌表面および癌近接の腸管粘膜では、これらの防御機能の低下が予想される。さらに癌表面には通常びらんや潰瘍が存在し、消化管内容中の抗原が生体内へ侵入しやすい状態にあるといえる。一方、胃と大腸ではそれぞれの内容に含まれている細菌叢に著しい差が認められる。したがって、大腸癌では胃癌に比較してより強い細菌抗原の刺激にさらされているものと考えられる。また、大腸癌では病理組織学的に著明な好中球浸潤を認め、時には小膿瘍を形成することが知られている³²⁾。これらの所見は大腸内容に対する炎症反応と理解され、細菌による抗原刺激を反映しているものと推測される。

大腸癌は胃癌に比べて予後が良好であることが知られているが、本研究においては両癌の所属リンパ節の抗腫瘍能からこれを裏付ける成績は得られなかった。今後、抗体産生系の分析によるより詳細な検索が必要である。

VI 結 語

胃癌および大腸癌の所属リンパ節のリンパ球サブセットを flow cytometry で分析し、以下の結論を得た。

- 1) 対照としたリンパ節では、傍胃リンパ節は Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞が、傍結腸リンパ節は Leu3a⁺8⁺ (suppressor inducer T) 細胞が高率であった。
- 2) 対照リンパ節に比較して、胃癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞が低率であった。大腸癌の1群リンパ節では Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞および Leu12⁺ (B) 細胞が高率であり、Leu3a⁺8⁺ (suppressor inducer T) 細胞は低率であった。大腸癌の2群リンパ節では Leu12⁺ (B) 細胞が高率であった。
- 3) 胃癌では2群リンパ節に比較して1群リンパ節に Leu12⁺ (B) 細胞が高率であり、大腸癌では2群リンパ節に比較して1群リンパ節に Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞が高率であった。
- 4) 大腸癌では胃癌に比較して、1群リンパ節で Leu3a⁺8⁻ (helper T) 細胞が、2群リンパ節で Leu12⁺ (B) 細胞が高率であった。

以上の成績より、胃癌と大腸癌の所属リンパ節ではともに抗腫瘍能の増強を示唆する所見は認められず、大腸癌の所属リンパ節では抗体産生に関与する helper T 細胞および B 細胞の増加が著明であり、大腸癌所属リンパ節の特徴の1つと考えられた。

本論文の要旨は、第25回日本癌治療学会総会(1987年10月、札幌市)、第34回日本消化器外科学会総会(1989年7月、久留米市)および33rd World Congress of Surgery (1989年9月、Toronto)において発表した。

文 献

- 1) Mitchison, N. A. : Studies on the immunological response to foreign tumor transplants in the mouse. I. The role of lymph node cells conferring immunity by adoptive transfer. *J Exp Med*, 102 : 157-177, 1955
- 2) Fisher, B. and Fisher, E. R. : Studies concerning the regional lymph node in cancer. I. Initiation of immunity. *Cancer*, 27 : 1001-1004, 1971
- 3) Goldfarb, P. M. and Hardy, M. A. : The immunologic responsiveness of regional lymphocytes in experimental cancer. *Cancer*, 35 : 778-783, 1975
- 4) 山岸久一 : ヒト胃癌におけるリンパ節防御機構に関する研究—リンパ節内細胞反応と細胞性免疫—. *京都府医大誌*, 86 : 161-179, 1977
- 5) 小川健治 : 胃癌所属リンパ節の機能的、形態的抗腫瘍性に関する研究. *日臨外医会誌*, 42 : 101-113, 1981
- 6) 稲垣貴史, 森瀬友友, 森島泰雄, 原 一夫 : 胃癌所属リンパ節の免疫組織化学的検討. *日消誌*, 84 : 840-850, 1987

- 7) 岡林孝弘, 堀見忠司, 平松 聡, 二宮基樹, 吉田栄一, 長江聡一, 合地 明, 香川茂雄, 折田薫三, 小林省二: 胃癌所属リンパ節の免疫組織学的検討—モノクローナル抗体による解析—. 臨免疫, 17: 660-668, 1985
- 8) Fisher, B., Saffer, E. A. and Fisher, E. R.: Studies concerning the regional lymph node in cancer. III. Response of regional lymph node cells from breast and colon cancer patients to PHA stimulation. Cancer, 30: 1202-1215, 1972
- 9) Koba, F., Akiyoshi, T., Arinaga, S., Wada, T. and Tsuji, H.: Cell-mediated cytotoxic activity of regional lymph node cells from patients with gastric carcinoma. Jpn J Surg, 17: 83-90, 1987
- 10) 三輪 潔: 全国登録にみる手術成績. 西 満正 (編), The Latest Therapy 3 胃癌の外科, 第1版, pp. 179-190, 医学教育出版社, 東京, 1986
- 11) 高橋 孝: 予後を左右する因子. 北条慶一, 高橋 孝 (編), 大腸癌診断治療の最新の進歩, 第1版, pp. 109-128, へるす出版, 東京, 1982
- 12) 花岡正男: 胸腺, リンパ節, 脾の構造とT細胞, B細胞の局在. 岸本忠三, 渡邊 武, 平野俊夫 (編), 免疫学1, 第1版, pp. 37-53, 中山書店, 東京, 1981
- 13) 花岡正男: 生体内リンパ球の往来. 岸本忠三, 渡邊 武, 平野俊夫 (編), 免疫学1, 第1版, pp. 54-62, 中山書店, 東京, 1981
- 14) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 改訂第11版, 金原出版, 東京, 1985
- 15) 大腸癌研究会編: 臨床・病理 大腸癌取扱い規約. 改訂第3版, 金原出版, 東京, 1983
- 16) 久下 栄: Two-Color Flow-Cytometry の現状とその問題点. 最新医学, 39: 302-307, 1984
- 17) Landay, A., Gartland, G. L. and Clement, L. T.: Characterization of a phenotypically distinct subpopulation of Leu-2⁺ cells that suppresses T cell proliferative responses. J Immunol, 131: 2757-2761, 1983
- 18) Clement, L. T., Dagg, M. K. and Landay, A.: Characterization of human lymphocyte subpopulations: Alloreactive cytotoxic T-lymphocyte precursor and effector cells are phenotypically distinct from Leu-2⁺ suppressor cells. J Clin Immunol, 4: 395-402, 1984
- 19) Gatenby, P. A., Kansas, G. S., Xian, C. Y., Evans, R. L. and Engleman, E. G.: Dissection of immunoregulatory subpopulations of T lymphocytes within the helper and suppressor sublineages in man. J Immunol, 129: 1997-2000, 1982
- 20) Kansas, G. S., Wood, G. S., Fishwild, D. M. and Engleman, E. G.: Functional characterization of human T lymphocyte subsets distinguished by monoclonal anti-Leu-8. J Immunol, 134: 2995-3002, 1985
- 21) Damle, N. K., Mohaghehpour, N. and Engleman, E. G.: Soluble antigen-primed inducer T cells activate antigen-specific suppressor T cells in the absence of antigen-pulsed accessory cells: phenotypic definition of suppressor-inducer and suppressor-effector cells. J Immunol, 132: 644-650, 1984
- 22) Lanier, L. L., Le, A. M., Phillips, J. H., Warner, N. L. and Babcock, G. F.: Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu7 (HNK-1) and Leu11 (NK-15) antigens. J Immunol, 131: 1789-1796, 1983
- 23) Meeker, T. C., Miller, R. A., Link, M. P., Bindl, J., Warnke, R. and Levy, R.: A unique human B lymphocyte antigen defined by a monoclonal antibody. Hybridoma, 3: 305-320, 1984
- 24) 崎田隆夫, 小黒八七郎, 多賀須幸男, 大森結次, 福富久之, 三輪 剛: 正常胃. 消化管内視鏡研修の実際, 第6版, pp. 349-358, 中外医学社, 東京, 1980
- 25) Otter, W. D.: Evaluation of knowledge of *in vivo* tumoricidal effector mechanisms. In: Otter, W. D. and Ruitenberg, E. J. (eds.), Tumor immunology. Mechanisms, Diagnosis, Therapy, pp. 109-123, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 1987
- 26) Morton, B. A., Ramey, W. G., Paderon, H. and Miller, R. E.: Monoclonal antibody-defined phenotypes of regional lymph node and peripheral blood lymphocyte subpopulations in early breast cancer. Cancer Res, 46: 2121-2126, 1986

- 27) 黒井克昌, 峠 哲哉, 山口佳之, 沢村明広, 世戸芳博, 服部孝雄: Two color 解析による胃がん所属リンパ節におけるT細胞亜群の同定. オンコロジー, 20:100-106, 1987
- 28) 松本紀夫: 大腸癌所属リンパ節の免疫動態に関する研究. 大腸肛門誌, 41:335-343, 1988
- 29) 谷内 昭: 消化管の免疫機構. 消化器内科, 4:1433-1444, 1989
- 30) 浅井俊夫, 名倉 宏, 渡辺慶一: 大腸腫瘍の免疫組織化学的研究 -secretory component, IgA を中心に-. 日消誌, 78:1388-1397, 1981
- 31) 菊池信太郎: 大腸癌の局所免疫に関する免疫組織学的研究. 日外会誌, 90:1213-1225, 1989
- 32) 渡辺英伸: 消化管 (小腸・虫垂・大腸・肛門). 石川栄世, 牛島 宥, 遠城寺宗知 (編), 外科病理学, 第1版, pp.407-483, 文光堂, 東京, 1987

(2. 3. 15 受稿)