日消外会誌　10（6）：625～633，1977年

胃癌患者および担癌動物の領域リンパ節の細胞性免疫に関する研究

京都府立医科大学第2外科学教室（主任：橋本　勇教授）
稲　葉　征　四　郎

STUDIES CONCERNING THE CELLULAR IMMUNITY OF REGIONAL LYMPH NODE CELLS IN GASTRIC CANCER PATIENTS AND TUMOR BEARING MICE

Seishiro INABA
The 2nd Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

胃癌患者の領域リンパ節の癌に対する免疫学的役割の解明を目的として，ヒトでは Macrophage Migration Inhibition Test (M.I.T.) を指標とし，動物実験では Cytotoxicity Test (C.T.) を指標として，領域リンパ節の細胞性免疫について研究した．胃癌患者においては，遠隔リンパ節に比較し，領域リンパ節の Macrophage Migration Inhibition Factor (M.I.F.) 活性はつよく，癌の進行とともに低下する．とくにリンパ節転移陽性症例で低値である．ヒト M.I.T. 陽性リンパ節細胞および担癌動物のリンパ節細胞から吸着細胞を除去し，それぞれ，M.I.T., C T. を施行して，リンパ球とマクロファージの相互作用につき検索した結果，リンパ節では，リンパ球とマクロファージの相互作用により，細胞性免疫は発現する．

索引用語：胃癌，リンパ節反応形態，細胞性免疫，マクロファージ遊走阻止試験，Cytotoxicity Test

I　緒　言

免疫学の進歩とともに，担癌生体におけるリンパ球を中心とする細胞性免疫の成立と発現に関し，多くの事実が解析され明らかになりつつある．癌患者の所属リンパ節の免疫学的役割の解明は，癌の進展，とりわけリンパ節転移に関する研究，さらに癌治療における外科手術療法，補助療法の面からも重要である．こうした観点より，リンパ節の免疫学的役割に関し，臨床的，病理学的および免疫学的検討が多く報告されている．Mc-Carty[1]ら，Black[2)~8)]ら，橋本[9)10)11)]らは癌患者の領域リンパ節反応形態が，予後や転移と密接な関係をもつことを報告している．また一方，所属リンパ節は，腫瘍の増殖，進展に対する宿主の抵抗の場として注目されつつある[12)13)14)15)]．

著者は，胃癌患者の領域および遠隔リンパ節の細胞性免疫能を，Macrophage Migration Inhibition Test (M.I.T.) により検索し，リンパ節細胞の細胞性免疫とリンパ節反応形態との関係，細胞性免疫と癌の進行度との関係につき検討した．さらに，リンパ節内細胞を吸着細胞と非吸着細胞に分離し，ヒトでは MIT を指標とし，実験動物では Cytotoxicity Test により，リンパ節の細胞性免疫発現に関し，両者の相互作用につき研究した．

II　実験方法

II—1．胃癌領域リンパ節細胞の M.I.F. 活性

II—1—1 実験材料

手術時，無菌的に摘出した胃癌の領域リンパ節と，腸間膜リンパ節を中央で切半し，一つはリンパ節反応形態をみるため，10%ホルマリン固定したのち，型の如くパラフィン切片に Hematoxylin-Eosin 染色を施し鏡検した．残り半分は，ケフリン加 EAGLE MEM 液に入れたのち single cell suspension 液を作製し，M.I.T., Phytohemagglutinin (PHA) 幼若化率，TおよびBリン

パ球の算定に用いた．

Ⅱ—1—2 リンパ節反応様式の設定

リンパ節反応様式としては，橋本ら（1974）[9] の分類に準じて 1. Sinus Histiocytosis 2. Follicular Hyperplasia 3. Lymphoid Reaction の3者に分け，その程度に応じて4段階の Grade を設けた．

Ⅱ—1—3 M.I.T. の方法

M.I.T. は Fan Vaage (1972)[16]，Bloom & Bennet (1966)[17] を参考に吉田（1975）[18]，大藤（1972）[19] の方法に準じて，自家胃癌と P.P.D. を抗原として，間接法で行った．手術時にできるだけ無菌的に採取した胃癌組織1～2g を，ケフリン（1mg/ml）含有 Hanks 液で十分に洗浄し，細切後，Hanks 液中でホモヂェナイズした．このホモヂェネートを3,000rpm で30分遠沈し，その上清を腫瘍抗原液とした．一方，1×10^6個のリンパ節細胞を，1ml の10%仔牛血清加 EAGLE MEM に浮遊させ，前述した腫瘍抗原液を，タンパク量にて約100 μg/ml の割に加え，また精製ツベルクリン（P.P.D.）を抗原とする場合は，P.P.D. 2.5mg を加え，37℃，5%炭酸ガス培養器中で24時間培養した．培養終了後，1,500rpm, 30分間遠沈し，その上清を M.I.F. 液とした．他方，殺菌流動パラフィン30ml を成熟モルモットの腹腔内に注入し，5日後に採取した腹腔滲出細胞を，ヘマトクリット管に充たし，それを培養器底にシリコングリースにて固定したのち，培養液（EAGLE MEM＋10%仔牛血清）と M.I.F. 液を10：1の割合で加え，カバーグラスで密封の上，37℃，5%炭酸ガス培養器中で24時間培養し，マクロファージの遊走面積を測定した．

$$\frac{\text{M.I.F. 液添加時の遊走面積}}{\text{Control 群の走面積}}\times100\text{を遊走指数}$$

（Migration Index, M.I.）として表わした．

Control 群は，ⓐEAGLE MEM＋10%仔牛血清のみで培養したときの遊走面積，ⓑ抗原を添加せず，リンパ節細胞のみで作製した M.I.F. 液を加えた時の面積，ⓒリンパ節細胞なしに抗原のみ添加した時の面積とし，これら3者の遊走面積の平均値をもって Control とした．

Ⅱ—1—4 吸着細胞と非吸着細胞の採取

リンパ節細胞を single cell suspension とし，あらかじめ10%胎児血清加 EAGLE MEM を通したテルモフアイバーカラム（仁丹テルモ社製）に流し，さらに20ml の同培養液を通し，滴下する液を，Falcon 社製 tissue culture dish を用い，5%炭酸ガス培養器内で，60分培養し，その上清を採取して非吸着細胞とする．

ヒト吸着細胞は，ヘパリン加末梢血 20ml を Ficoll-Conray 法で赤血球を分離し，細胞液を Hanks 液で3回洗浄後，10%胎児仔牛血清加 EAGLE MEM を培養液とし，Falcon tissue culture dish を使用し，5%炭酸ガス培養器内で60分培養する．附着細胞をゴム片で採取し，さらに同様の方法によって Tissue culture dish に培養し附着細胞を採取する．このようにして得られた附着細胞は，墨汁による喰食能試験でみると，ほとんど全て喰食能を有していた．

Ⅱ—2. 実験腫瘍動物のリンパ節細胞の細胞性免疫

Ⅱ—2—1 実験材料

a) Sarcoma 180腫瘍[20]

Sarcoma 180（以下 Sa 180）（塩野義研究所より提供）を，d-d 系マウスから初代培養し，著者らの研究室で培養株化したものを使用し，実験に先立ちクローニングを施行した．培養液は EAGLE MEM（阪大微研）に10%の割に仔牛血清（阪大微研）を加えたものを使用した．Sa 180腫瘍の10^6個を試験管から d-d マウスの下肢筋肉内に注射すると，マウスは約4～5週で腫瘍死する．

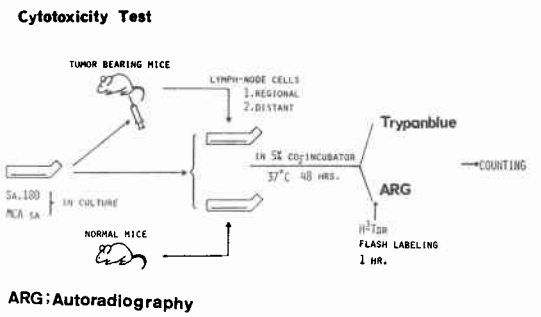
b) Methylcholanthrene (MCA) 肉腫[21]

C3H/He マウス（船橋農場）を用いて，MCA により誘発された肉腫から，本学放射線科学教室において培養株化されたものを好意により提供を受けた．培養 MCA 肉腫細胞10^6個を C3H/He マウスに注射すると，組織学的に線維肉腫を形成し，移植マウスは6～7週間で腫瘍死する．培養液は10%仔牛血清加 EAGLE MEM を用いた．

Ⅱ—2—2 Cytotoxicity Test（図1）

本実験の cytotoxicity test は，DNA 合成を細胞の Viability の指標とし，3H-Thymidine の Autoradiogra-

図　1



phy で target cell の labeling index の低下を算定する方法と，同時に0.5% trypanblue 超生体染色後，target cell の生死の判別をし，死細胞率を算定する方法を用いて，リンパ節細胞による毒性効果を判定した．その方法は，培養 Sa 180細胞10^6個を d-d 系マウスの下肢に注射し，また MCA 肉腫細胞10^6個を C3H/He マウスの下肢に注射した後，経時的にマウスの所属および遠隔リンパ節を無菌的に摘出し，リンパ節細胞浮遊液を作製したが，この場合，患側のソケイリンパ節を所属リンパとし，対側のソケイリンパ節を遠隔リンパ節とした．標的細胞としては，別に単層培養した Sa 180，または MCA 肉腫細胞にリンパ節細胞を1：100の割合に加え，48時間，37℃，5%炭酸ガス培養器で培養し，固定1時間前に1 μCi/ml の 3H-Thymidine で flash labeling を施行した．培養株化腫瘍細胞を，chamber 1個あたり1,000個まくと，plating 2日後の実験日には約2,000個/chamber となり，exponential growth の時期に一致する．SAKURA-NRM 2で dipping し，7日間露出後，現像し Giemsa 染色をする．

Ⅱ—2—3 吸着細胞と非吸着細胞の採取

リンパ節細胞よりの非吸着細胞の採取は，ヒトリンパ節細胞からの採取とほぼ同様であるが，附着細胞は，滅菌流動パラフィン 1ml をマウス腹腔内に注入し，3日後，腹腔細胞を採取し，Hanks 液で洗浄後，tissue culture dish に附着する細胞を集めた．

細胞性免疫における両者の相互作用を cytotoxicitytest を指標として検討した．腫瘍細胞数対リンパ節細胞の比は1：20とし，吸着細胞単独の cytotoxicic effect を少なくした．

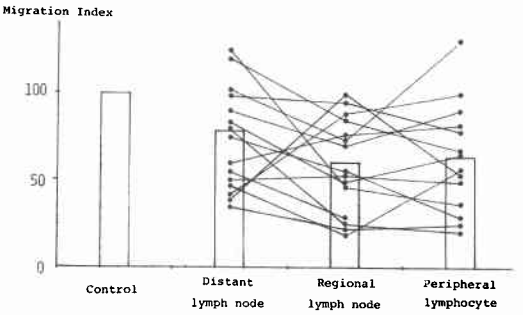
III 成　績

III—1. 胃癌領域リンパ節細胞の M.I.F. 活性

Ⅲ—1—1 胃癌進行度と領域リンパ節細胞の M.I.F. 活性

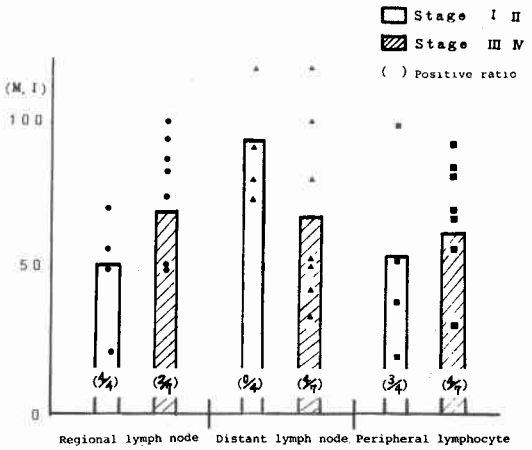
胃癌手術時に採取した転移陰性リンパ節1個と，腸間膜リンパ節1個につき，自家胃癌を抗原として，M.I.T. を施行した結果（図2），領域リンパ節の M.I.F. 陽性率は15例中9例（60%），遠隔リンパ節では15例中7例（46%）で，領域リンパ節の方が遠隔リンパ節より高率に感作されていると思われる．しかし領域リンパ節の中にも感作，非感作のリンパ節が混在することが考えられるので，同一症例の領域リンパ節を数個摘出し，P.P.D. と，自家胃癌を抗原として，これらの M.I.F. 活性を検討した．その結果，P.P.D. を抗原とする場合には，皮内反応に応じて全てのリンパ節は均一な M.I.F. 活性をみるが，自家胃癌を抗原とする場合には，リンパ節ごとにそれぞれの M.I.F. 活性が異なることが判明した．そこで領域リンパ節の M.I.F. 活性は数個のリンパ節の平均でもって示した．胃癌進行度と M.I.F. 活性の関係につき検討したところ，図3のごとく，Stage Ⅰ，Ⅱ胃癌の領域リンパ節では4例中4例が，M.I.F. 陽性であるのに対し，Stage Ⅲ，Ⅳの領域リンパ節では7例中4例が陽性である．逆に遠隔リンパ節をみると，Stage Ⅰ，Ⅱ胃癌では7例中2例が陽性であるのに対し，Stage Ⅲ，Ⅳ胃癌では7例中4例が陽性であった．

図2　M.I.F. activity of regional and distant lymph node cells and peripheral lymphocytes in gastric patients.



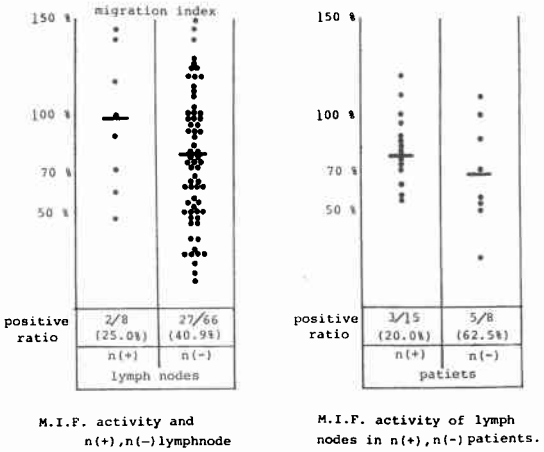
□ ; average degree of M.I.F. activity

図3　Relationship between the progress of gastric cancer and M.I.F. activity of lymph node cells.



Ⅲ—1—2 胃癌領域リンパ節における転移と M.I.F. 活性の関係

図4　M.I.F. activity and positive ratio of regional lymph node cells in gastric cancer patients.



転移陽性リンパ節 n（＋）8個と転移陰性リンパ節 n（－）66個につき，自家胃癌を抗原として M.I.T. を施行した結果，図4のごとく，n（＋）リンパ節では陽性率は2/8（25.0%），n（－）リンパ節では27/66（40.9%）であった．次に，n（＋）症例15例と n（－）症例8例についてみると，n（＋）症例では陽性率20.0%，n（－）症例では62.5%である．

Ⅲ—1—3 リンパ節細胞の M.I.F. 産生における吸着細胞と非吸着細胞の相互作用

3例のツベルクリン皮膚反応陽性者 A, B, C, の胃癌患者の領域リンパ節より，吸着細胞と非吸着細胞を分離し，M.I.F. 産生における両者の相互作用を検討した結果（図5），症例 A, B, C における全リンパ節細胞に，抗原として P.P.D. を添加すると M.I.T. は全例陽性である．非吸着細胞のみに抗原を添加した群は，全例 M.I.T. 陰性である．症例Cにおいては，リンパ節非吸着細胞に，末梢血より採取した吸着細胞を添加し，抗原を作用させると M.I.T. は陽性である．

症例Dは，抗原として自家胃癌抗原を作用させたものであり，非吸着細胞に抗原を添加しても M.I.F. 産生はみられなかった．

図5　Adherent cells requirement for production of M.I.F. from regional lymph node cells in gastric cancer patients.

	A	B	C	D*
Unpurified lymphnode cells (10^6/ml)+Ag	positive (38%)	positive (42%)	positive (54%)	positive (34%)
Non-adherent cells (10^6/ml)+Ag	negative (100%)	negative (114%)	negative (88%)	negative (110%)
Adherent cells (10^5/ml)+Ag	negative (90%)		negative (82%)	
Non-adherent cells (10^6/0.5ml)+ Adherent cells (10^5/0.5ml)+Ag			positive (53%)	

（　）; migration index

A, B, C ; PPD skin test is positive, PPD used for antigen

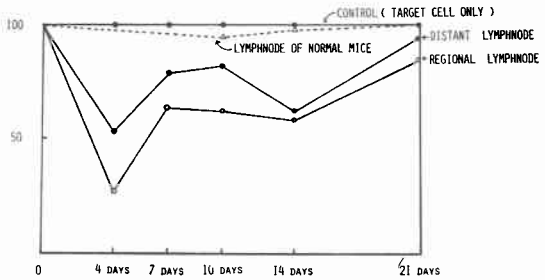
D* ; PPD skin test is negative, homogenised cancer tissue 100 is used for antigen.

Ⅲ—2.　実験腫瘍動物のリンパ節細胞の細胞性免疫

Ⅲ—2—1 細胞性免疫の経時的変化

培養 Sa 180細胞10^6個を d-d 系マウスの下肢に注射し，4，7，10　14　21日目に3匹ずつ屠殺し，所属および遠隔リンパ節の cytotoxicity を測定した結果（図6），移植4日目よりすでにリンパ節に cytotoxicity が

図6　Specific inhibition of tumor cells DNA synthesis in vitro by lymph node cells.



(d-d mouse, ^{3}H-TdR autoradiography)

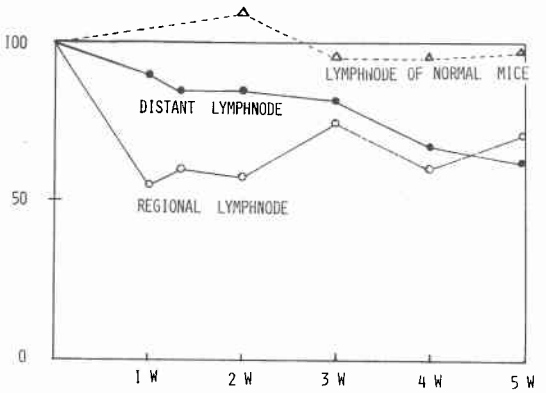
$$\frac{\text{labeling index (tumor cells+lymphocytes)}}{\text{labeling index (tumor cells only)}} \times 100$$

みとめられ，所属リンパ節では31%，遠隔リンパ節では56%となったが，正常マウスのリンパ節では細胞毒性効果を認めなかった．動物が腫瘍死に近づく21日目になると，両リンパ節とも cytotoxicity が低下した．MCA 細胞を10^6個，C3H/He マウス下肢に注射し，移植後5週間まで1週ごとにマウスを屠殺し，所属および遠隔リンパ節の cytotoxic effect を測定した．注射後1週では，まだ tumor を触知できなかったが，すでに所属リンパ節での cytotoxicity は54%と上昇しており，一方，遠隔リンパ節では89%であり，腫瘍が増大するにつれ遠隔リンパ節にも所属リンパ節と同程度の cytotoxicity をもつようになったが，Sa 180腫瘍の場合のように末期になると免疫能が低下することは認めなかった（図7）．

Ⅲ—2—2　担癌動物のリンパ節細胞の抗腫瘍性における附着細胞の影響

図8は，リンパ節細胞による培養細胞の殺細胞効果を，trypan-blue による超生体染色による生死の判別を指標としてみたものである．正常マウスリンパ節細胞添

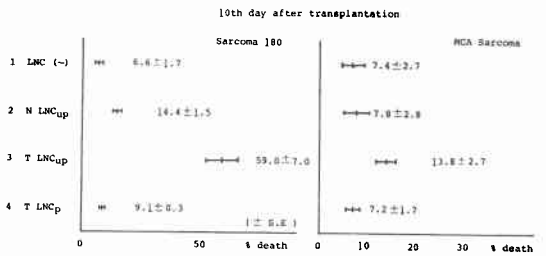
図7　Specific inhibition of tumor cells DNA synthesis in-vitro by lymph node cells.



(C3H/He mouse, 3H-TdR autoradiography)

$$\frac{\text{labeling index (tumor cells+lymphocytes)}}{\text{labeling index (tumor cells only)}} \times 100$$

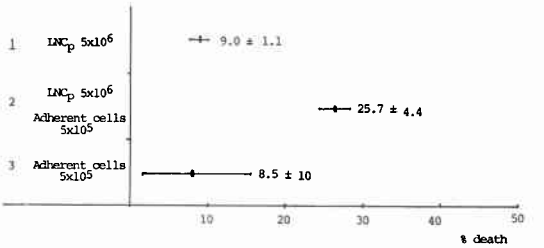
図8　Adherent cells requirement for lymph node cells cytotoxicity against tumor.



INC ; lymph node cells
N ; normal mouse
INCup ; unpurified lymph node cells
INCp ; purified lymph node cells
T ; tumor bearer

加群を control として，Sa 180を d-d 系マウスに移植し，10日目のマウスリンパ節細胞による腫瘍の死細胞率をみると，59.0±7.0%であるが，同じ10日目のマウスリンパ節細胞から，吸着細胞を除いたリンパ節細胞を添加すると9.1±0.3%となり，死細胞率は control 群に変わらない値まで低下した．同様の実験法で，近交系 C3 H/He マウスに MCA 肉腫を移植し，リンパ節細胞の抗腫瘍性を検索すると，全リンパ節細胞添加群では13.8±2.7%，非吸着細胞単独添加群は7.2±1.7%であった．以上から担癌マウスのリンパ節細胞の殺細胞効果には，吸着細胞が必須であることが判明したため，つぎにリンパ節内非吸着細胞の殺細胞効果発現におよぼす腹腔吸着

図9　Adherent cells requirement for lymph node cells cytotoxicity agaist tumor.



細胞の影響について検討した．その結果は**図9**に示す通りで，Sa 180腫瘍実験系を用い検索すると，非吸着細胞のみでは，死細胞率9.0±1.1%であるのに対し，同じマウスの腹腔吸着細胞を10%の割に添加すると，25.7±4.4%と殺細胞性は上昇することを示した．

IV　考　察

ヒト腫瘍に対する細胞性免疫能の検索方法として，1．中和試験，2．遅延型皮膚反応，3．Macrophage Migration Inhibition Test (M.I.T.)，4．リンパ球幼若化反応，5．cell-mediated cytotoxicity などがあげられる．なかでも M.I.T. に関しては，George & Vaughan[22] や David[23] が，ツベルクリンやジフテリア毒素に対し，感作されたモルモットの腹腔細胞は，In vitro で毛細管よりの遊出が特異抗原の添加により抑制されること，またこれは In vitro でも delayed hypersensitivity と相関することを発表して以来，特異抗原に対する細胞性免疫の研究に広く応用されてきた．そこで著者は，M.I.F. 活性を指標として，胃癌領域リンパ節細胞の細胞性免疫を検討した．一方，リンパ節細胞の PHA 幼若化率の研究で，所属リンパ節といえども個々のリンパ節で異なった反応を示すという報告[24]がある．著者の成績では M.I.T. で検索した結果は，P.P.D. を抗原とする場合[25)26)27]には，P.P.D. 皮内テストに応じて全ての転移陰性リンパ節は均一に反応したが，自家胃癌を抗原とする場合には，均一の反応がみられず感作リンパ節と非感作リンパ節が混在した．このことは抗原性の差により生体の反応に相違があることを示すとともに，癌の場合には，さらにリンパ節ごとに抗原刺激が，時間的にも量的にも場所的にも異なった状態にあることを示すものであろう．

したがって，癌患者の領域リパ節の M.I.F. 活性は，数個のリンパ節の M.I.F. 活性の平均でもってあらわすのが妥当であろう．癌の進行度と，領域リンパ節細胞

の細胞性免疫能の関係について Fisher[28] は，乳癌と大腸癌患者における PHA 反応による報告で，リンパ節転移陰性癌患者の領域リンパ節細胞の PHA 反応は高く，リンパ節転移陽性患者では，リンパ節転移のあるなしにかかわらず，^{3}H-Thymidine の取り込みに大差はないと述べている．また菅沼ら[29]は，PHA 反応，PWM 反応によるリンパ節の研究で，Stage Ⅰ胃癌の領域リンパ節の PHA 反応の値は，Stage Ⅱ～Ⅳ胃癌に比較し，明らかに高値を示し，主病巣に近位のリンパ節程，PHA 反応はたかいと報告している．著者が M.I.T. により検索した結果，比較的早期の胃癌では，末梢血リンパ球，領域および遠隔リンパ節に M.I.F. 活性がみられるが，領域リンパ節の方が，遠隔リンパ節に比較してつよく，癌が進行すれば，遠隔リンパ節にも，領域リンパ節と同程度に M.I.F. 活性がみとめられ，さらに癌が進行すると，領域リンパ節，遠隔リンパ節ともに M.I.F. 活性は低下した．M.I.T. よりみて，胃癌においても，領域リンパ節は細胞性免疫の活性がつよいといえる．しかし，転移陽性リンパ節群と陰性リンパ節群の差よりも，転移陽性症例と陰性症例との差の方が大きいことより，転移が成立した個体では，すでに全身のリンパ球の機能に低下をきたしていることが示唆され，領域リンパ節細胞の M.I.T. の低下は，腫瘍抗原量の変化が，T, B 細胞の免疫機能に関係する結果であり，またこれは，全身の免疫能の低下と同時に考えなければならない．

つぎに，担癌動物の領域リンパ節の免疫学的役割は，Mitchinson (1955)[30]の実験以来，腫瘍免疫において重要であることが判り，腫瘍の進展とリンパ節の細胞性免疫の関係について多くの報告が見られる[12)31)32)33)]．

Sa 180は同腫移植腫瘍 (allogenic tumor-host system) であり，腫瘍特異抗原の点から問題があるので，syngenic system として，C3H/He マウスに MCA 肉腫を移植し，同様の実験を試み，人癌と対比した．著者の用いた cytotoxicity test は，細胞毒性を DNA precursor の取り込みの低下を Autoradiography で判定する方法と，trypanblue による Dye-exclusion method により判定したものであるが，Sa 180，MCA 肉腫とも，移植早期から領域リンパ節細胞に免疫能力がみられ，腫瘍が増大するにつれ，遠隔リンパ節も，領域リンパ節と同程度の免疫能をもつことが認められ，これはヒト胃癌リンパ節を M.I.T. で検索した結果と類似した．このように，ヒト癌患者のリンパ節の細胞性免疫の研究には，実験腫瘍を用いることによっても，より詳細に解析が進むものと期待できる．

以上担癌生体の領域リンパ節の免疫能について考察してきたが，さらにリンパ節の病理学的研究と，前述した免疫能の関係について考察を加えてみたい．著者のこれまでのリンパ節反応形態の研究結果によると，リンパ節中に見られる Lymphoid Reaction の grade が上昇するに伴ってTリンパ球率も上昇し，Follicular Hyperplasia の grade の上昇する場合には，Bリンパ球率が上昇した．

また Silveir (1972)[34]は，胃潰瘍やソケイヘルニア手術時に摘出した非癌患者のリンパ節切片で，T, B リンパ球の局在を検討しているが，ヒツジ赤血球が附着するリンパ節の旁皮質領域にTリンパ球が局在しており，Bリンパ球は主として濾胞に局在すると報告している．E. Tsakraklides[35] はリンパ節反応形態と PHA 幼若化率の関係を検討し，Lymphocyte-predominance を示すリンパ節から細胞の PHA 幼若化率は高いと報告している．

一方，リンパ節の sinus にみられる細胞は，細網内皮系由来のもののほかには，主として小リンパ球であり，時に赤血球，顆粒球，マクロファージがみられ，形質細胞はほとんどみられないといわれている．(Yaffy & Courtice[36], 1970) さらに，橋本，小玉[37]らは，Human-anti-macrophage serum を使用したリンパ節のマクロファージの局在の研究から，リンパ節内 Sinus Histiocytosis は，マクロファージの増生であると報告した．以上のことから，リンパ節の旁皮質領域はT細胞の増生部分であり，B細胞はリンパ濾胞に局在し，マクロファージは sinus 内に局在すると考えられる．そしてこれらの細胞が相互に作用し合って，リンパ節の細胞性免疫が成立し，発現すると考えられ，リンパ節を病理形態学的に検討すると同時に，リンパ節の免疫能を細胞レベルで検索することにより，生体の免疫機構を探究することができるであろう．

Nelson, R.D.[38] らは，モルモットを用いる実験系で，感作リンパ球の M.I.F. 産生にはマクロファージの関与が必要であり，マクロファージの関与なくしては，抗原に反応してリンパ球が増殖することもないと報告している[39)40)41)42)43)44)]．

さらに，リンホトキシン[45]，インターフェロン[46]，抗体[47]の産生にマクロファージは必要であるという報告があるが，実験腫瘍に対するリンパ節細胞の抗腫瘍性に関

するマクロファージの関与の実験報告は見ない．

著者は，C3H/He 系マウスにおける MCA 肉腫，d-d 系マウスにおける Sa 180肉腫を用いて，リンパ節細胞のうち吸着細胞は，リンパ節細胞の抗腫瘍性発現に必須である結果を得た．ただ，マウスにおいては，特異的，非特異的を問わず腹腔細胞の腫瘍に対する殺細胞効果がつよい[48)49)50)51)]ため，添加マクロファージの source が問題となる．この点，ヒトリンパ節細胞の M.I.F. 産生実験におけるがごとく，末梢血よりのマクロファージ採取の方が妥当であったろうと考えられる．いずれにせよ，マクロファージ単独の影響，さらにリンパ球のマクロファージに対する影響も充分に考慮されるべきであり，このことについてはさらに検討されなければならない．

これまで，リンパ節の組織細胞学的変化が細胞性免疫と関連する成績が報告されてきたが，リンパ節内には，T, B 細胞，マクロファージが同時に存在し，かつ今回の実験結果でも明らかなように，これら免疫担当細胞が相互に作用している事実が判明したことで，担癌生体における免疫現象の研究には，癌の進展，増殖の研究，さらに免疫学的立場から考慮した癌の外科的治療の研究が行われるべきであり，ことにその面ではリンパ節の研究が大きな指針を与えるであろうと確信する．

V 結　論

癌の手術療法上，リンパ節は癌のとりのこしを憂慮し，主病巣の剔出とともに二次リンパ節の廓清を行うことからして，また近年癌の免疫療法が行われるようになってきたことからも領域リンパ節の癌に対する宿主の免疫学的役割の解明は重要課題である．

ヒト胃癌患者においては，M.I.T. を指標とし，動物実験では，cytotoxicity test を施行し，領域リンパ節の細胞性免疫について研究した．

1. 自家胃癌を抗原とすると，領域リンパ節といえども，リンパ節ごとに M.I.F. 活性は異なる．

2. 比較的早期の胃癌患者では，遠隔リンパ節に比較し，領域リンパ節細胞の M.I.T. 陽性率は高く，癌の進行とともに遠隔リンパ節細胞の M.I.T. 陽性率が高くなる．

3. n (−) リンパ節は，n (+) リンパ節に比較し M.I.F. 活性はたかく，n (−) 症例のリンパ節細胞は，n (+) 症例のリンパ節細胞に比較し，M.I.F. 活性は高い．

4. d-d マウス，C3H/He マウスにそれぞれ Sa 180 肉腫，MCA 肉腫を移植し，経日的にリンパ節細胞の腫瘍に対する cytotoxicity を見ると，4～7日に所属リンパ節細胞に cytotoxicity がみられ，遠隔リンパ節ではおくれて cytotoxicity がみられた．

5. リンパ節細胞の M.I.F. 産生にはマクロファージは必須であり，また一方，移植腫瘍に対するリンパ節細胞の殺細胞効果発現にマクロファージは重要な役割をもっている．

本論文の要旨は，第6回日本消化器外科学会大会，第76，77回日本外科学会総会にて発表した．

稿を終るに臨み，ご指導，ご校閲を頂いた恩師橋本勇教授，ならびに小玉正智講師，田中承男講師に深甚なる謝意を表する．

参考文献

1) Mc-Carty, W.C.: Factors which influence longevity in cancer. Ann. Surg., **76**: 9−12, 1922.
2) Black, M.M. et al.: Lymph node structure in patients with cancer of breast. Amer. J. Path. **29**: 505−521, 1953.
3) Black, M.M. et al.: Survival in breast cancer cases in relation to the structure of the primary tumor and regional lymph nodes. Surg. Gynec. Obstet. **100**: 543−551, 1955.
4) Bleack, M.M. et al.: Structural representations of tumor-host relationships in gastric carcinoma. Surg. Gynec. Obstet., **102**:599−603, 1956.
5) Black, M.M. et al.: Sinus histiocytosis of lymph nodes in cancer. ***Surg. Gynec. Obstet., **106**: 163−175, 1958.
6) Black, M.M. et al.: Lymph nodes reactivity in cancer patients. Surg. Gynec. Obstet., **110**:447−487, 1960.
7) Black, M.M. et al.: Structural representations of tumor-host relationships in mammary carcinoma. Biologic and prognostic significance. Amer. J. Clin. Path., **26**: 250−265, 1956.
8) Black, M.M. et al.: Prognostic significance of microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymph nodes. Cancer., **27**: 703−711, 1970.
9) 橋本　勇ほか：担癌生体のリンパ節の抗腫瘍性に関する研究．第1報．胃癌患者の所属リンパ節反応様式と転移ならびに予後との関係．京府医大誌，**83**： 553～560，1974.
10) 橋本　勇ほか：担癌生体のリンパ節の抗腫瘍性に関する研究．第2報．胃癌患者および担癌動物の所属リンパ節の細胞性免疫について．京府医大誌，**83**： 657～664，1974.
11) 橋本　勇ほか：担癌生体リンパ節の抗腫瘍性に関する研究．第3報，胃癌の領域リンパ節の抗腫瘍性に関する研究．第3報．胃癌の領域リンパ節反応形態と細胞性免疫の関係．京府医大

誌, **84**: 457～464, 1975.

12) Futrell, J.W. et al.: Role of the regional lymphatics in tumor allograft rejection. Transplantation., **13**: 551－557, 1972.

13) Hammond, W.G. et al.: Retained regional lymph nodes. Effect on metastasis and recurrence after tumor removal. Cancer (Philda.), **25**: 368－372, 1972.

14) Crile, G., Jr.: Rationale of simple mastectomy without radiation for clinical Stage 1 cancer of breast. Surg. Gynec. Obstet., **120**: 957－982, 1965.

15) Fisher, B. et al.: Studies concerning the regional lymph node in cancer. IV. Tumor inhibition by regional lymph node cells.: Cancer (Philad.), **33**: 551－557, 1972.

16) Jan Vaage et al.: Tumor specific resistance in mice detected by inhibition of macrophage migration. Cancer Research., **32**: 680－687, 1972.

17) Bloom, B.R. et al.: Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. Science., **193**: 80－82, 1966.

18) 吉田　彪：マクロファージ遊走阻止現象並びにMIF の測定法．免疫実験操作法 A．日本免疫学会，金沢，1975.

19) 大藤　真ほか：MIF 検査の臨床的意義．内科，**30**：669，1972.

20) Dunham. L.J. et al.: A survey of transplantable and transmissible animal tumors. J. Nat. Cancer. Inst., **13**: 1299－1307, 1953.

21) Prehn, R.T. et al.: Immunity to methylcholanthrene-induced sarcomas. J. Nat Cancer Inst., **18** 769－778, 1957.

22) George, M. et al.: In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), **111**:514, 1964.

23) David, J.R. et al.: Delayed hypersensitivity in vitro. II. effect of sensitive cells on normal cells in the presence of antigen. J. Immuno., **93**: 264, 1964.

24) Fisher, B. et al.: 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.

25) Rocklin, R.E. et al.: An in vitro assay for cellular hypersensitivity in man. J. Immuno., **104**: 95－102, 1970.

26) Terrence Steiner et al.: Delayed hypersensitivity and neoplasma; in vitro studies with macrophage migration. Cancer Research., **30**: 2265－2270, 1970.

27) Clausen, J.E.: Tuberculin-induced migration inhibition of human peripheral leucocytes in agarose medium.: Acta Allergologica., **26**: 56－80, 1971.

28) Fisher, B. et al.: Studies cancerning the regional lymph node in cancer. VII. Thymidine uptake by cells from nodes of breast cancer patients relative to axillary location and nistopathologic discriminants. Cancer., **33**: 271－279, 1974.

29) 菅沼　靖ほか：胃癌患者所属リンパ節リンパ球の PHA 刺激試験，PWM 刺激試験および RLB 試験による免疫学的検討．J. Jap. Soc. Cancer Ther. **11**：193～202，1976.

30) Mitchinson, N.A.: Studies on the immunological response to foregn tumors transplants in mouse. I. The role of lymph node cells in conferring immunity by adaptive transfer. J. Exp. Med., **120**: 157－177, 1955.

31) Fisher, B. et al.: Studies concerning the regional lymph node in caner. I Maintenance of immunity. Cancer., **29**: 1496－1501, 1972.

32) Fisher, B. et al.: Studies concerning the regional lymph node in cancer. V. Lab. Invest. **28**: 126－133, 1973.

33) Bard, D.S. et al.: The role of the regional lymph nodes in the immunity to a chemically induced sarcoma in C3H mice. Cancer Res., **29**: 1379－1384, 1969.

34) Nelson P.A. Silveira et al.: Tissue localization of two populations of human lymphocytes distinguished by nembrane receptors. J. Immuno., **108**: 1456－1460, 1972.

35) E. Tsakraklides et al.: In vitro studies of Axillary lymph node cells in patients with breast cancer. J. nat Cancer Inst., **54**: 549－556, 1975.

36) J.M. Yoffey, et al.: Lymphatics, Lymph and The lymphmyeloid complex. Academic press. London. New York. 540, 1967.

37) 小玉正智ほか：胃癌の宿主側における予後因子の検討．癌の臨床，**22**：826—833，1976.

38) Nelson R.D. et al.: Macrophage requirement for production of guinea pig migration inhibition factors (MIF) in vitro. J. Immuno., **114**: 606－609, 1975.

39) Seeger R.C. et al.: Synergistic interaction of macrophage and lymphocytes in antigen-induced transformation of lymphocytes. J. Exp. Med., **132**: 44－64, 1970.

40) Hersh E.M. et al.: Macrophage-lymphocyte interaction in the antigen-induced blastogenic response of human peripheral blood leucocytes. J. Immuno., **100**: 1184－1194, 1968.

41) Oppenheim J.J. et al.: The transformation of column-purfied lymphocytes with nonspecific and specific antigenic stimuli. J. Immuno., **101**: 262－270, 1968.

42) Levis W.R. et al.: Antigen-induced blastogenesis; The human cell determing the specificity of response in vitro. J. Immuno. **104**: 1295－1299, 1970.

43) Cline M.J. et al.: The interaction of human monocytes and lymphocytes. J. Exp. Med., **128**:

1309－1325, 1968.

44) Blaese R.M. et al.: Lymphocyte-macrophage interation in antigen induced in vitro lymphocyte transformation in patients with the Wiskott-Aldrich syndrome and other diseases with anergy. Cell. Immunol., **4**: 228－242, 1972.

45) Yoshinaga, M. et al.: Regulation of lymphocyte responses in vitro. Ann. Immuno. **124C**: 97－120, 1973.

46) Epstein L.B. et al.: PPD－stimulated interferon: In vitro macrophage-lymphocyte interaction in the production of a mediator of cellular immunity. Cell Immunol., **2**: 602－613, 19710.

47) Mosier, D.E.: A requirement fro two cell types for antibody formation in vitro. Science, **158**: 1573－1575, 1967.

48) 菊地浩吉：腫瘍特異細胞性抗体の定量的研究. 最新医学, **25**：1186～1192, 1970.

49) R.Evans et al.: Cooperation of immune lymphoid cells with macrophage in tumor immunity. Nature., **228**: 620－622, 1970.

50) R.Evance. et al.: Mechanism of immunologically specific killing of tumor cells by macrophage. Nature., **236**:168－170, 1972.

51) Oppenheim J.J. et al.: Specific inhibition of tumor cells DNA synthesis in vitro by lymphocytes from peritoneal exudate of immunized syngenic guinea pig. Proceedings of the National Academy of Science., **66**: 1119－1126, 1970.