

胃癌患者のリンパ球 subsets の検討

愛媛大学第2外科

佐藤 元通 酒井 堅 青野 幸治
得居 和義 藤原 志郎 木村 茂

STUDIES ON LYMPHOCYTE SUBSETS OF THE PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Motomichi SATO, Ken SAKAI, Koji AONO, Kazuyoshi TOKUI,
Shiro FUJIWARA and Shigeru KIMURA

The Second Department of Surgery, Ehime University School of Medicine

胃癌患者54例を Disease free group (II群) 21例, Localized group (III群) 11例, Regional group (IV群) 7例, Metastatic group (V群) 14例に分け, 良性疾患22例(I群)とともにリンパ球 subsets (OKT3, OKT4, OKT8, OKIa1, Leu7) を検討した。1) 比率では II, IV群で OKT4⁺細胞が42.7±9.67%, 40.9±7.37%と低く, OKIa1⁺細胞がV群で23.1±12.3%と高い以外, 差が認められなかった。2) 絶対数ではリンパ球減少に伴ない, Leu7⁺細胞以外の各分画がIV, V群で減少していた。特に OKT3⁺, OKT4⁺, OKT8⁺細胞数減少が著明であった。以上より, 進行胃癌患者ではリンパ球 subsets の比率の異常よりむしろ絶対数減少(特にT細胞系)が著明で, これが細胞性免疫能低下に関与していることが示唆された。

索引用語: 胃癌のリンパ球 subsets, 胃癌の細胞性免疫, リンパ球表面抗原のモノクローン抗体

I. はじめに

担癌患者では細胞性免疫, 液性免疫, 単球機能などの生体防御機構に異常をきたすことが知られている¹⁾²⁾。特にTリンパ球を主体とする細胞性免疫能の低下は各種悪性腫瘍につき明らかにされている³⁾。近年, 細胞融合法の開発により単クローン抗体作製技術が開発され⁴⁾, リンパ球表面抗原に対する単クローン抗体が得られ, リンパ球 subsets の解析が可能となってきた⁵⁾。リンパ球 subsets の解析は造血器腫瘍についての検討は多いが⁶⁾, 固形癌に関する報告は比較的少ない。そこで著者らはOKシリーズ単クローン抗体⁷⁾を用い, 胃癌患者を解析し, 癌進展度, 良性疾患と対比させ, 比較検討した。

II. 対象および方法

対象は愛媛大学附属病院第2外科に入院通院し, リンパ球 subsets を検索しえた良性疾患22例, 胃癌患者

54例である。合併症なく全身状態・栄養状態の良好な良性疾患患者を Benign group (I群) とした。その内訳は, 胆石症11例, 大腸疾患3例, 乳腺疾患2例, 胃疾患2例, その他4例である。胃癌患者は, 手術後再発の認められない Disease free group (II群) 21例, 手術時局所リンパ節転移, 局所浸潤なく, 癌が胃に限局していた Localized group (III群) 11例, 局所リンパ節転移, 局所浸潤を伴ったが, 遠隔転移の認められなかった Regional group (IV群) 7例, 肝転移・腹膜播種など遠隔転移を伴った Metastatic group (V群) 14例に分類した。

単クローン抗体は Ortho Diagnostic Systems の OK シリーズ (OKT3, OKT4, OKT8, OKIa1) および, Becton Dickinson の Leu7を用い, 全血法にて細胞解析は Flow cytometry (Spectrum III, Ortho 社) で行なった⁵⁾⁷⁾。また, 同時採血の一般血液像にて白血球数 (WBC) (/mm³), リンパ球数 (Lymph) (/mm³) を求め, 各リンパ球 subsets の絶対数を算出した。

なお, OKT3は末梢血Tリンパ球, OKT4は Inducer/

Helper T リンパ球, OKT8は Suppressor/Cytotoxic T リンパ球, OKIa1は B cell/activated T cell/monocyte, Leu 7は Natural Killer/Killer cell を標識するとされている⁵⁾⁷⁾.

以上により, WBC, Lymph, OKT4/T8比および OKT3⁺, OKT4⁺, OKT8⁺, OKIa1⁺, Leu7⁺細胞比率・絶対数を求めI~V群で比較検討した. また検定は

Student's t-test により $p < 0.05$ で有意差ありと判定した.

III. 結 果 (表1)

- i) WBC : 有意差なし.
- ii) Lymph (図1) : I, II, III群と比べ, IV, V群で有意に低値を示した.
- iii) OKT4/T8 (図2) : 各群で差は認められなかったが, IV, V群でやや低値を示した.
- iv) OKT3% (図3) : 有意差なし.

表1 胃癌患者の末梢血リンパ球 subsets

	I (n=22)	II (n=21)	III (n=11)	IV (n=7)	V (n=14)
WBC (/mm ³)	5750 ± 2120*	5710 ± 1184	5520 ± 1310	7030 ± 2130	6340 ± 2800
Lymph (/mm ³)	2180 ± 644	2140 ± 750	1870 ± 644	1240 ± 253	1310 ± 641
OK T4/T8	2.24 ± 0.895	1.83 ± 0.875	1.96 ± 0.770	1.78 ± 0.616	1.76 ± 0.720
OK T3 (%)	71.6 ± 10.1	66.9 ± 11.1	72.0 ± 8.38	66.8 ± 12.6	71.8 ± 7.85
OK T4 (%)	50.0 ± 9.14	42.7 ± 9.67	45.6 ± 9.27	40.9 ± 7.37	44.3 ± 12.9
OK T8 (%)	24.1 ± 6.70	26.9 ± 9.43	26.2 ± 8.55	25.6 ± 7.92	27.6 ± 7.16
OK Ial (%)	17.0 ± 9.32	17.2 ± 8.34	14.0 ± 7.26	16.4 ± 6.34	23.1 ± 12.3
Leu 7 (%)	18.3 ± 8.98	17.6 ± 7.90	19.6 ± 8.50	22.0 ± 7.80	18.5 ± 12.4
OK T3 (/mm ³)	1560 ± 542	1450 ± 634	1350 ± 498	826 ± 228	951 ± 482
OK T4 (/mm ³)	1070 ± 345	914 ± 375	876 ± 395	516 ± 163	605 ± 361
OK T8 (/mm ³)	530 ± 230	606 ± 384	413 ± 188	307 ± 85.5	335 ± 116
OK Ial (/mm ³)	366 ± 217	399 ± 367	271 ± 147	199 ± 76.8	231 ± 145
Leu 7 (/mm ³)	404 ± 249	365 ± 169	339 ± 150	275 ± 116	248 ± 212

* mean ± SD

図1 リンパ球数の比較

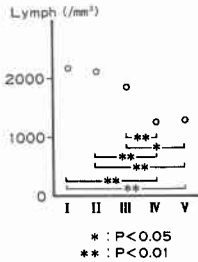


図4 OKT4⁺細胞比率の比較

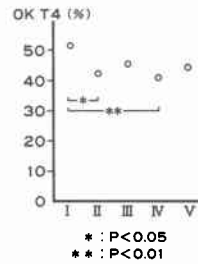


図5 OKT8⁺細胞比率の比較

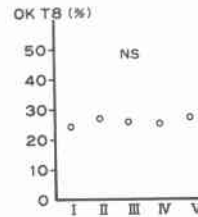


図2 OKT4/T8比の比較

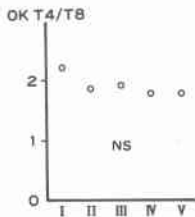


図6 OKIa1⁺細胞比率の比較

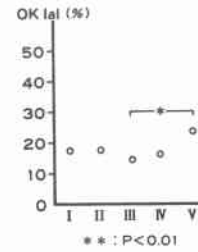


図3 OKT3⁺細胞比率の比較

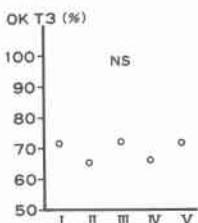
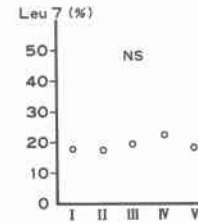


図7 Leu7⁺細胞比率の比較



v) OKT4% (図4) : I群に比べ, II, IV群で有意に低値をとった.

vi) OKT8% (図5) : 有意差はなかったが, V群でやや高値を示す傾向にあった.

vii) OKIa1% (図6) : V群で有意に高値を示した.

viii) Leu7% (図7) : 有意差なし.

ix) OKT3 (/mm³) (図8) : IV, V群で他と比べ有意な減少傾向が認められた.

図8 OKT3⁺細胞数の比較

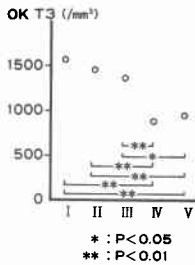


図9 OKT4⁺細胞数の比較

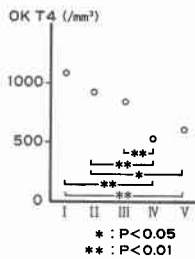


図10 OKT8⁺細胞数の比較

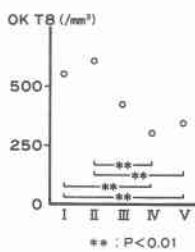


図11 OKIa1⁺細胞数の比較

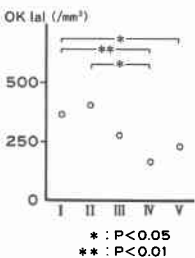
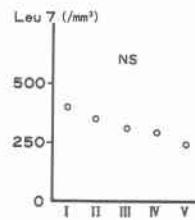


図12 Leu7⁺細胞数の比較



x) OKT4 (/mm³) (図9) : IV, V群で I, II群と比べ有意に減少していた.

xi) OKT8 (/mm³) (図10) : IV, V群では, I, II群と比べ有意な減少が認められた. またIII群は有意差は認められなかったが, I, II群より少ない傾向を示した.

xii) OKIa1 (/mm³) (図11) : IV, V群は I, II群より有意に減少していた.

xiii) Leu7 (/mm³) (図12) : 有意差なし.

IV. 考 察

近年, 免疫学の進歩により, 癌細胞障害を示す細胞関与の生体防御機構として, Tリンパ球による機構, 抗体との協同作用による機構, マクロファージによる機構, Natural Killer細胞による機構などが解明されてきた¹⁰⁾. なかでもTリンパ球による機構は注目されており, In Vitroで癌細胞を破壊することが知られているほか¹⁰⁾, 多くの報告がある^{10)~12)}. 一方では, Tリンパ球が機能的に細分類されており, 個々の分画の機能, 相互作用, 他の免疫系との関わり合いなどの基礎的關係が明らかになってきた. すなわちT細胞はHelper T cell (T_H), Suppressor T cell (T_S), Cytotoxic T cell (T_C), Amplifier T cellなどに分けられている⁷⁾⁸⁾. さらに最近では単クローン抗体の導入により, T細胞の分化・成熟過程も識別可能となった. これらの単クローン抗体が作製されたことにより, 容易にリンパ球 subsetsが検索可能となり, 臨床研究に應用されている. 特に白血病⁶⁾, 悪性リンパ腫¹⁴⁾, ウイルス疾患¹⁵⁾などの造血器疾患, 免疫疾患, 感染症などの方面ではすでに臨床的意義が明らかにされている. しかし, 固形癌ではその免疫原性が低いこととあいまって, 臨床報告は比較的少なく^{16)~18)}, いまだ臨床的意義は明らかでない. そこで本稿では, 胃癌患者を対象に, 特に癌進展度と照らし合わせ検討した.

従来Tリンパ球は羊赤血球とのロゼット形成反応を用い検索され, T細胞 subsetsも同様に double rosette法により測定されてきた¹⁹⁾. 固形癌患者での血

液中リンパ球分画については、種々の報告がある。すなわち、リンパ球数減少は周知の事実である。T・B細胞比率に関してはT細胞比率小、B細胞比率大との報告もあるが⁹⁾¹⁸⁾²⁰⁾、あまり差がないとの報告もあり¹¹⁾、少なくともT・B細胞のみでは固形癌患者の免疫能を言及するには不十分である。さらにT細胞 subsets に関しては、T γ 比率が大きく、T μ 比率が小さくなるとされている⁹⁾¹⁸⁾²⁰⁾。その他のリンパ球分画ではIa⁺細胞比率が増大するとの成績がある⁷⁾¹⁸⁾。また最近の単クローン抗体を用いた検索によると、OKT4⁺細胞比率小、OKT8⁺細胞比率大、OKT3⁺・OKT4⁺細胞減少、OKIa1⁺細胞比率大、OKT4/T8比小などと報告されている⁷⁾¹⁶⁾¹⁸⁾。

本成績ではリンパ球比率は全体的に差が少なかったが、良性疾患に比べ、胃癌患者ではOKT4⁺細胞比率が小さく、OKIa1⁺細胞比率は転移を有するV群で高値をとった。また免疫能の指標とされるOKT4/T8比がIV、V群で若干低下したが、著しい差は見出しえなかった。OKT4⁺細胞比率低下はHelper/Inducer T cell比率の低下を意味しているため、他の報告と同じく⁹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾、免疫能の低下を示すものと考えられる。OKT8⁺細胞比率に関しては増大するとの報告¹⁷⁾と、変化しないとの報告¹¹⁾⁶⁾があるが、著者らの成績では大差は認められなかった。これは、OKT8⁺細胞がSuppressor T cell, Cytotoxic T cellと相反する性格を有する細胞を同時に含むことによるものと考えられ、今後はこれら2種を識別する他の表面抗体の開発が望まれる。またOKIa1⁺細胞比率は他の報告と同じく¹¹⁾⁶⁾¹⁷⁾高率となっていたが、これは末期のV群についてのみであった。以上より胃癌患者でのT細胞比率の変化は、OKT4⁺細胞比率低下が最も優位で、次いで末期にOKIa1⁺細胞比率が高まり、他の subsets の比率はあまり変わらないものと考えられた。

また絶対数では、リンパ球が癌進展とともに減少し、これに伴ないOKT3⁺・OKT4⁺・OKT8⁺・OKIa1⁺細胞数(特にOKT3⁺・OKT4⁺・OKT8⁺細胞)が減少していた。しかもこれらの傾向がIV、V群とかなり癌の進行した病期で著明であった。OKT3⁺・OKT4⁺細胞数が減少するという結果は他の報告と一致するが¹¹⁾⁶⁾¹⁷⁾、OKT8⁺・OKIa1⁺細胞数が減少するという結果は他と異なる⁷⁾。いずれにせよ、絶対数においては、II、III群は良性疾患と大差ないのに対し、IV、V群では顕著な差を示したことより、胃癌患者での各分画の減少は癌が進展してから出現するものと考えられた。また、これ

らの変化はT細胞系のOKT3⁺・OKT4⁺・OKT8⁺細胞の方が、OKIa1⁺細胞よりやや強かった。一方、Leu7⁺細胞数は癌の進展度にあまり影響されなかった。

以上より胃癌患者のリンパ球 subsets は比率よりもむしろ絶対数の低下が、癌が進行した状態で優位に出現し、これが胃癌患者の細胞性免疫能の低下により関与していることが示唆された。

V. 結 論

胃癌患者54例を癌進展度により、Disease free group (II群)、Localized group (III群)、Regional group (IV群)、Metastatic group (V群)に分け、良性疾患群22例(I群)と対比させ、リンパ球 subsets を検討し、以下の結果が得られた。

- 1) I, II, III群はほぼ同様であるのに対し、IV, V群では種々の項目で異常を呈した。
- 2) リンパ球 subsets の比率は、OKT4⁺細胞比率が胃癌患者全般でやや低値を示し、V群でのみOKIa1⁺細胞比率が高値をとる以外は差が認められなかった。
- 3) 絶対数では、リンパ球が癌進展とともに減少するのに伴ない、IV, V群ではLeu7⁺細胞以外の分画は減少傾向を示した。特にOKT3⁺・OKT4⁺・OKT8⁺細胞の減少が顕著であった。

以上より、胃癌患者でのリンパ球 subsets の比率の変化より、主に数の変化が優位であることより、癌の進展に伴ない細胞性免疫能の低下には、各 subsets (特にT細胞系統)の絶対数の減少がより深く関与していることが示唆された。

文 献

- 1) Robinson JC: Assays of immunocompetence in the staging and prognosis of cancer. Surg Gynecol Obstet 153: 909-921, 1981
- 2) Unger SW, Bernhard MI, Pace RC et al: Monocyte dysfunction in human cancer. Cancer 51: 669-674, 1983
- 3) Uchida A, Hoshino T: Clinical studies in cell-mediated immunity in patients with malignant disease. Cancer 45: 476-483, 1980
- 4) Köhler G, Milstein C: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256: 495-497, 1975
- 5) Kung P, Goldstein G, Reinherz EL et al: Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens. Science 206: 347-349, 1979
- 6) Robert WS, Kenneth AF, Ronald J et al: Immunologic classification of lymphocytic leu-

- kemia based on monoclonal antibody-defined cell surface antigens. *Blood* 59 : 207—215, 1982
- 7) Reinherz EL, Schlossman SF: Current concepts in immunology. Regulation of the immune response-Inducer and Suppressor T-lymphocyte subsets in human beings. *N Engl J Med* 303 : 370—373, 1980
 - 8) Rothenberg E: What is the role of T-Lymphocyte surveillance in neoplastic disease? *Am J Surg* 143 : 664—669, 1982
 - 9) Yao EH, Li D, Gu H: T cell subpopulation in Hepatoma. *Am J Gastroenterol* 79 : 227—228, 1984
 - 10) Wybran J, Hellstrom I, Hellstrom KE et al: Cytotoxicity of human rosette-forming blood lymphocytes on cultivated human tumor cells. *Int J Cancer* 13 : 515—521, 1974
 - 11) 西山 潔: 各種免疫機能検査からみた胃癌, 大腸癌の immune status に関する研究. *日外会誌* 80 : 512—520, 1979
 - 12) Wybran J, Fudenberg H: Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease states: Cancer, Lymphomas, Bacterial and viral infections and other disease. *J Clin Invest* 52 : 1026—1032, 1973
 - 13) Dillman RO, Koziol JA, Zavanelli MI et al: Immunoincompetence in cancer patients. Assessment by in vitro stimulation tests and quantification of lymphocyte subpopulations. *Cancer* 53 : 1484—1491, 1984
 - 14) Lauria F, Foa R, Gobbi M et al: Increased proportion of suppressor/cytotoxic (OKT8⁺) cells in patients with Hodgkin's disease in long-lasting remission. *Cancer* 52 : 1385—1388, 1983
 - 15) Carney WP, Rubin RH, Hoffman RA et al: Analysis of T lymphocyte subsets in Cytomegalovirus mononucleosis. *J Immunol* 126 : 2114—2116, 1981
 - 16) 林 良夫, 佐藤光信, 古本奈奈代ほか: 頭頸部癌患者末梢リンパ球サブセットの異常—単クローン抗体による解析. *医のあゆみ* 128 : 507—508, 1984
 - 17) Ginns LC, Miller LG, Goldenheim PD et al: Alterations in immunoregulatory cells in Lung cancer and smoking. *J Clin Immunol* 2 : 90—94, 1982
 - 18) Kaszubowski PA, HusbyG, Tung KSK et al: T-lymphocyte subpopulations in peripheral blood and tissues of cancer patients. *Cancer Res* 40 : 4648—4657, 1980
 - 19) 矢田純一, 橋 武彦: ヒトリンパ球 subpopulation の分別, 免疫実験操作法 A. 日本免疫学会編, 1975, p451—454
 - 20) 平良朝秀: 胃癌患者における各種非特異的免疫学的パラメータの総合的検討. *日臨外医会誌* 45 : 687—705, 1984
-