

胃癌患者局所リンパ節の免疫学的検討

金沢大学第1外科

山田 哲司 橋爪 泰夫 山下 良平
山脇 優 川浦 幸光 岩 喬

IMMUNOLOGICAL STUDIES ON REGIONAL LYMPHNODES OF GASTRIC CANCER

Tetsuji YAMADA, Yasuo HASHIZUME, Ryohei YAMASHITA
Suguru YAMAWAKI, Yukimitsu KAWAURA and Takashi IWA
Department of Surgery 1, Kanazawa University School of Medicine

索引用語 : Natural killer 活性, Lymphokine activated killer 活性, 胃癌局所リンパ節

はじめに

免疫学の進歩により、担癌生体においても癌防衛機構が働いていることが明らかになってきた¹⁾。そのため癌近傍の局所リンパ節は、従来外科医が認識してきたごとく癌転移の単なる一経路であるのみではなく、癌の全身転移に対する局所的防衛機構を有しているとも考えられるようになってきた。これは癌の外科治療、とりわけリンパ節の予防的郭清をどの範囲まで行えば良いのかというきわめて重要な問題を含んでいると考えられる。

われわれは胃癌患者の局所リンパ節の抗腫瘍性の有無に検討を加えるため、Natural killer 活性(以下NK活性と略す)²⁾と、interleukin 2 (以下IL-2と略す)により誘導されるLymphokine activated killer 活性(以下LAKと略す)³⁾を調べ若干の知見を得たので報告する。

対象および方法

対象は当科および石川県立中央病院消化器外科において手術が行われた胃癌患者24例である。正常対照として、胃潰瘍及び胆石症にて手術が行われた8例の胃局所リンパ節を採取し実験に用いた。

局所リンパ節リンパ球は、手術時採取局所リンパ節の半分を組織学的検索に、残りをハサミで細切、比重遠心法によりリンパ球を分離後(1) OKT3, OKT4,

OKT8 (Ortho Ind. U.S.A.), B₁ (Coulter Ind. U.S.A.), Leu7, Leu11 (Becton-Deckinson Ind. U.S.A.)モノクローナル抗体を使用し、レーザーフローサイトメトリ (Spectrum III) によるリンパ球サブセットの測定, (2) K-562細胞を標的細胞としCr⁵¹ release assayによるNK活性の測定, (3) 人胃癌培養細胞株(KATO-III, MKN-28, MKM-45)を標的細胞とするCr⁵¹ release assayによるNK活性の測定, (3) 人胃癌培養細胞株(KATO-III, MKN-28, MKN-45)を標的細胞とするCr⁵¹ release assayによる細胞傷害能の測定, (4) NK抵抗性Daudi細胞を標的細胞とし、Cr⁵¹ release assayによるLAK活性の測定, (5) IL-2依存細胞CTLL-2を用いて、リンパ球のIL-2産生能の測定, (6) 人羊膜由来のFL細胞に対するcyndras virusの50% cyto per effectによるリンパ球のγ-interferon (以下JNF-γと略す)産生能の測定を行った。

結 果

NK活性: リンパ球サブセット測定の結果は、局所リンパ節を胃癌取り扱い規約にある1次, 2次, 3次に区別してみたが、サブセットの分布に変化はなく、転移の有無で区別してはじめてOKT3, OKT4陽性細胞に有意差を認めた。しかしNK細胞分画を示すとされるLeu7, Leu11などは良性疾患でも胃癌患者でも有意差はなく、ともにきわめて少数しか存在しなかった(図1, 2)。

一方Cr⁵¹ release assayによりその機能面より検討を加えたところ、良性疾患においても胃癌患者におい

※第26回日消外総会シンポジウムII: 消化器癌リンパ節応答とその郭清

<1985年11月12日受理>別刷請求先: 山田 哲司

〒920 金沢市宝町13-1 金沢大学医学部第1外科

図1 胃癌患者局所リンパ節リンパ球のリンパ球サブセット

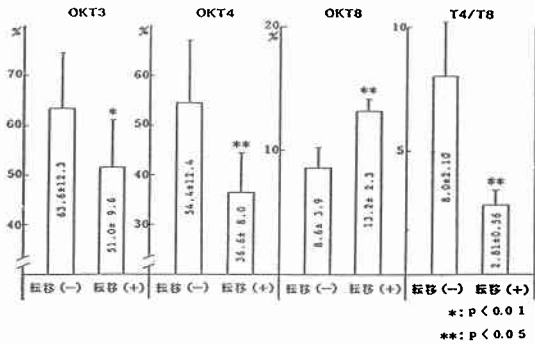


図2 胃癌患者局所リンパ節リンパ球のリンパ球サブセット

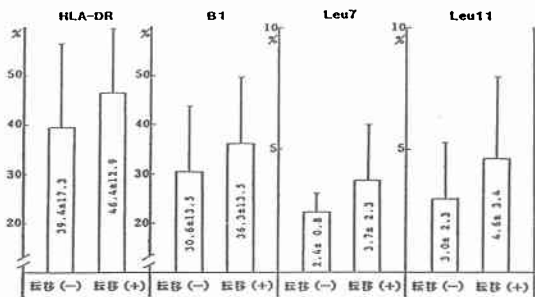
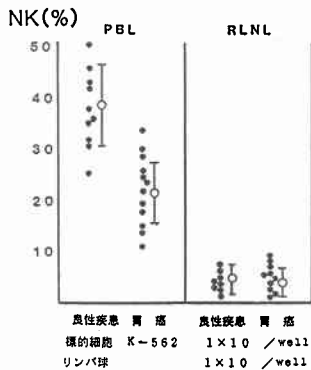


図3 末梢血及び局所リンパ節リンパ球のNK活性



てもNK活性はきわめて低かった。胃癌培養細胞との細胞傷害性試験にても、反応性は低かった(図3, 4)。

以上の実験結果から胃癌局所リンパ節においてNK細胞は数も少なく、活性も弱いと思われた。

LAK活性：リンパ節リンパ球のLAK活性はIL-2 20U/mlの時に最も強く、NK活性も増強されることが判明した(図5, 6)。また胃癌培養細胞株に対する

図4 局所リンパ節リンパ球の細胞傷害性試験

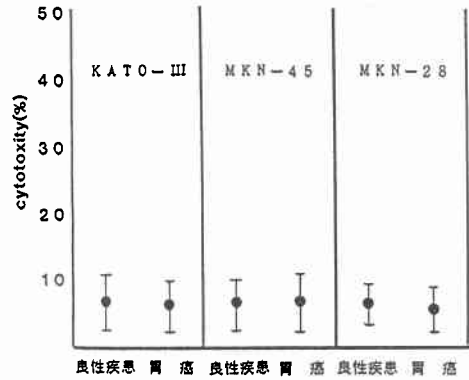


図5 IL-2による細胞傷害性試験の変動

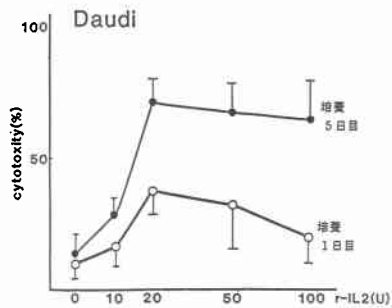
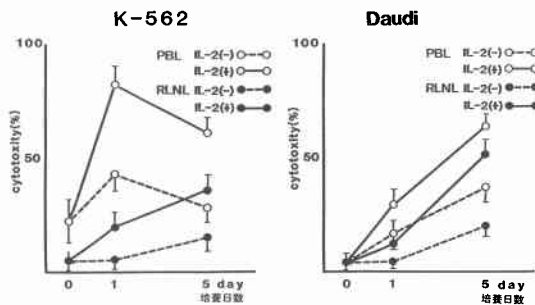


図6 IL-2添加末梢血及び局所リンパ節リンパ球の細胞傷害性試験の変動



細胞傷害性試験にても同様な増強を認めた(図7)。

LAK活性を上昇させる細胞の表面マーカーに検討を加えたところ、OKT3, OKT4陽性細胞数が上昇していた(図8)。

またLAK活性測定の際の培養上清中のINF-γの測定を行ったところ、産生されたINF-γ量は細胞傷害能の上昇と平行していた(図9)。

さらにIL-2産生能は、局所リンパ節リンパ球の方が

図7 IL-2添加末梢血及び局所リンパ節リンパ球の細胞傷害性試験の変動

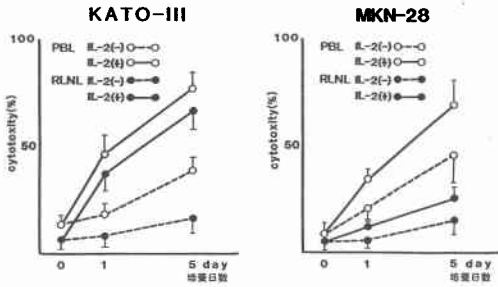


図8 IL-2添加末梢血及び局所リンパ節の lymphocyte Subset の変動

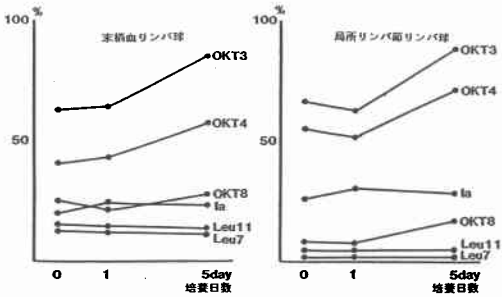
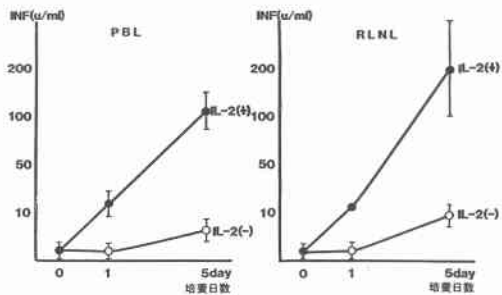


図9 IL-2添加末梢血及び局所リンパ節リンパ球の INF

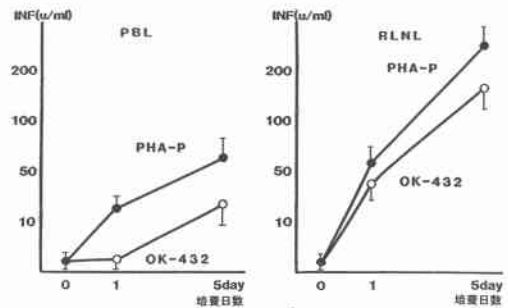


末梢血より高く、免疫療法剤である OK-432 においても PHA-P と同程度であることが判明した (図10)。

考 察

癌治療における予防的リンパ節郭清を適切に行うことは、癌の外科治療において最も重要なことである。しかし絶対的な補助療法がなく、すべてのリンパ節転移の有無を術中組織学的に確認することが不可能な現状では、転移リンパ節のとり残しをおそれるあまりできるだけ広範囲な郭清を行おうとするのはむしろ当然と思われる。しかし腹腔内リンパ節をすべて切除する

図10 末梢形及び局所リンパ節リンパ球における IL-2 の産生能



ことが不可能であり、しかもすべての癌患者に広範囲な郭清の必要のないことは R2手術施行の早期胃癌の治療成績において十分示されていると思われる。予防的リンパ節郭清の適切な範囲は、十分な統計学的処理を行った臨床成績で決定されるべきであるが、癌患者における局所リンパ節の役割を知ることもその一助になりうると思われた。そのためわれわれは胃癌患者を対象として、癌局所リンパ節の役割に免疫学的検討を加えた。

その結果、胃癌患者における非特異的な抗腫瘍性は LAK という現象で存在し、この現象の出現には IL-2 と INF- γ の両者が関与していることが判明した。また胃癌患者における局所リンパ節リンパ球の IL-2 に対する反応性はきわめて高かった。また免疫療法剤 OK-432 においても IL-2 と同程度に LAK が誘導されうると思われた。

NK 細胞は、自己に発生した癌細胞に特異的な免疫応答ではなく、いわば生まれながら持っている自然抵抗性ともいべき活性を持つとされている。人においては NK 細胞の選択的欠損症である Chédiak-Higashi 病、種々の先天性免疫不全症患者あるいは腎不全や腎移植などで長期間にわたり免疫療法をうけている患者などでは、NK 活性が低く、正常人よりはるかに高率に悪性腫瘍が発生するといわれている。そのため NK 細胞は癌の増殖抑制や転移抑制に重要な役割をはたしていることは広く認められている。しかしわれわれの実験においては局所リンパ節リンパ球には NK 細胞は少なく、その障害活性もないか、もしくは低い活性しか示さなかった。この原因としては NK 細胞は、癌発育の初期にはある程度の役割を担っているとしても、いったんそのバリアーを超えて発育、増殖をした癌細胞に対してはすでに有効に作用する能力がな

いか、もしくは何らかの液性因子がその機能を阻止しているとも考えられ、今後更に検討を要する点と考えられた。

T細胞増殖因子であるIL-2により局所リンパ節リンパ球を刺激したところ、NK細胞、培養胃癌細胞やNK抵抗性のDaudi細胞に対しても高い障害活性を有するLAK様細胞が誘導された。またこの細胞はGrimmらのいう⁴⁾に、リンパ球表面マーカーでみる限りOKT3、OKT4陽性のTリンパ球系細胞であると考えられ、明らかにNK細胞とは異なっていると思われた。この成績はNK細胞のバリアーを超えて増殖したと考えられる自己腫瘍に対しても、IL-2などの液性因子の十分な応答がおきれば、LAKのような細胞が誘導され、これがさらに癌細胞増殖に対するいま一つのバリアーになりえる可能性を示していた。

さらにLAKは免疫療法剤であるOK-432にてもIL-2と同程度に誘導されうると考えられた。

またLAK出現に平行してINF- γ が増加していることよりNK活性を含めたLAKの出現には熊谷らのいうように⁵⁾、IL-2、INF- γ の両者の関与が必要であると考えられた。

以上の実験結果から再度胃癌の予防的リンパ節郭清を考えてみた。理論的には抗腫瘍性を有する転移のないリンパ節の郭清は好ましくないが、先に述べたように転移リンパ節を肉眼で確認できない現状では早期癌に対してはR2を、進行癌に対してはR3手術は必要であろうと考えられた。

まとめ

胃癌患者24例の転移のない局所リンパ節における抗腫瘍性の有無に検討を加え以下の結果を得た。

1. 所属リンパ節リンパ球のNK活性は、ほとんど検出されなかった。
2. IL-2とともに培養すると局所リンパ節リンパ球のNK活性、細胞傷害能などの上昇が認められた。

文 献

- 1) Burnet FM: Immunological surveillance, Pergamon Sydney Press, 1970
- 2) Kiessling R, Wigzell H: An analysis of the murine NK cell as to structure, function and biological relevance. Immunol Rev 44: 165-208, 1979
- 3) Trinchieri G, Santori D: Anti-viral activity induced by culturing lymphocytes with tumor-derived or virus-transformed cells. Enhancement of human natural killer cell activity by interferon and antagonistic inhibition of susceptibility of target cells to lysis. J Exp Med 147: 1313-1333, 1978
- 4) Grimm EA, Mazumder A, Zhang H et al: Lymphokine-activated killer cell phenomenon. Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin-2 activated autologous human peripheral blood lymphocytes. J Exp Med 155: 1823-1841, 1982
- 5) 熊谷勝男, 伊東恭悟: NK細胞の役割. 臨床免疫 Hand Book, 大阪, 日本臨床社, 1984, p859-868