

胃癌所属リンパ節の抗腫瘍的な免疫応答について

東京女子医科大学第2病院外科

小川 健治 矢川 裕一 勝部 隆男
川田 裕一 大谷 洋一 榊原 宣

A STUDY ON ANTI-TUMOR REACTION OF REGIONAL LYMPH NODES IN GASTRIC CANCER

Kenji OGAWA, Hirokazu YAGAWA, Takao KATSUBE,
Hirokazu KAWATA, Yoichi OHTANI and Noburu SAKAKIBARA
Department of Surgery Tokyo Women's Medical College Daini Hospital

索引用語: 胃癌所属リンパ節, 免疫応答, OK-432

はじめに

腫瘍所属リンパ節は抗腫瘍性免疫反応の発現および維持の場であると認識され^{1)~3)}, 生体の腫瘍に対する防御の最前線をなすといわれている。所属リンパ節には具体的にどういった免疫応答がおり、そのリンパ節はどのような機能を持ち、どのような役割を果たすのであろうか。さらに外科臨床の場において、その郭清はどう考えればよいのであろうか。これら諸点に関して、実験的およびヒト胃癌で臨床的に検討したので報告したい。

検索方法および結果

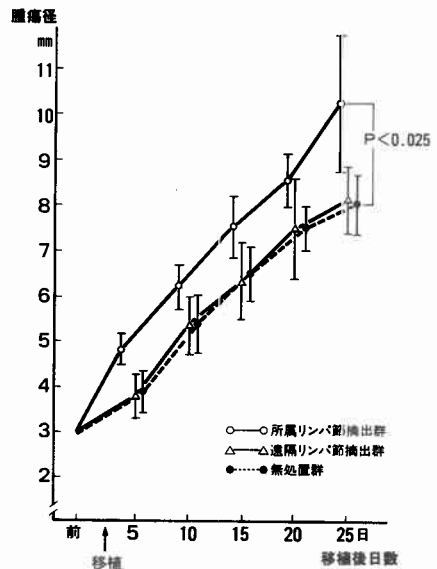
1. 実験的にみた所属リンパ節の免疫応答

C3H/He マウスの右足趾皮下に同系の腹水肝癌 MH134 を移植し以下の検索を行った。

まず、移植7日前に右鼠径および膝窩リンパ節(所属リンパ節)と左の同じリンパ節(遠隔リンパ節)を摘出したマウス、対照の無処置マウスにMH134を移植し、所属リンパ節の有無が腫瘍増殖にどのように影響するかみた。所属リンパ節摘出群の腫瘍径は遠隔リンパ節摘出群や無処置対照群に比べて移植後早期より大きく、25日目まで有意に増大した($p < 0.05$) (図1)。

つぎに、腫瘍を移植して1, 3, 6, 10, 15, 20日目に各リンパ節を無菌的に摘出、リンパ球を分離して

図1 リンパ節摘出担癌マウスの腫瘍増殖曲線



Thy1.2抗原陽性細胞比, PHA 幼若化反応を測定, さらに Winn の中和試験を行った。Thy1.2抗原陽性細胞比の推移は, 所属リンパ節で1日86.5%, 3日83.9% (対照の正常マウス80.8%)と上昇がみられたが, 6日では72.7%となり以後は経過とともに低下した。遠隔リンパ節では1日83.0%, 3日80.1%, その後は軽度に低下するが大きい変動はなかった。PHA 幼若化反応のSI値の推移は, 所属リンパ節で1日27.1, 3日24.5 (対照20.2)とやはり上昇をみたが, 6日では18.0

※第26回日消外総会シンポジウム: 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: 小川 健治
〒116 荒川区西尾久2-1-10 東京女子医科大学第2病院外科

表1 Thy1・2抗原陽性細胞比の推移

	腫瘍移植後		7日	9日	12日	16日	21日	26日
	所属リンパ節	OK-432投与群						
所属リンパ節	OK-432投与群	55.6%	45.9	41.7	35.1	29.5	22.6	
	生食水投与群	36.3%	37.0	32.8	27.3	26.8	18.4	
遠隔リンパ節	OK-432投与群	54.2%	54.9	59.6	63.6	66.4	63.5	
	生食水投与群	50.0%	49.2	51.7	56.1	66.3	55.1	

表2 PHA幼若化反応のSI値の推移

	腫瘍移植後		7日	9日	12日	16日	21日	26日
	所属リンパ節	OK-432投与群						
所属リンパ節	OK-432投与群	86.1	82.7	16.8	3.0	1.6	1.7	
	生食水投与群	50.6	46.9	7.6	1.8	1.3	1.2	
遠隔リンパ節	OK-432投与群	65.4	62.6	57.7	42.5	48.0	45.6	
	生食水投与群	54.7	53.4	50.4	41.1	38.0	37.1	

となり以後は急激に低下した。遠隔リンパ節では1日21.7, 3日21.5, その後も大きい変動はなかった。中和試験でみた特異的な抗腫瘍性の推移は, 所属リンパ節で担癌いずれの時期にも抗腫瘍性が認められ, とくに担癌初期の1日, 3日では有意差を認めた ($p < 0.01$)。遠隔リンパ節では担癌中期以降の20日で抗腫瘍性が発現した ($p < 0.05$)。

さらに, 同じ実験系に溶連菌製剤OK-432を投与し, その所属リンパ節の免疫応答に与える影響について以下の検索を行った。

腫瘍を移植して2, 4, 6日目にOK-432を右大腿皮下に5KEずつ投与した群, 対照として生食水を投与した群について, 7, 9, 12, 16, 21, 26日目に各リンパ節を無菌的に摘出, リンパ球を分離してThy1・2抗原陽性細胞比, PHA幼若化反応, NK細胞活性, ^{51}Cr release testによる細胞障害活性を測定した。Thy1・2抗原陽性細胞比の推移は, 所属リンパ節で経日的に低下したが, 担癌中期の7~12日においては, OK-432投与群の低下は生食水投与群に比べて小さかった。遠隔リンパ節では逆に経日的に上昇した(表1)。PHA幼若化反応のSI値の推移は, 所属リンパ節で9日まで高値を保ち, 以後は急激に低下したが, 全経過ともOK-432投与群は生食水投与群に比べて高値を示した。遠隔リンパ節では経日的にゆるやかに低下した(表2)。NK細胞活性の推移は, 所属リンパ節で経日的に低下したが, OK-432投与群は生食水投与群に比べて高値を示した。遠隔リンパ節もこれと同じ傾向で変化した(表3)。細胞障害活性の推移は, 所属リンパ節で経日的に

表3 NK細胞活性の推移

	腫瘍移植後		7日	9日	12日
	所属リンパ節	OK-432投与群			
所属リンパ節	OK-432投与群	9.8%	4.4	2.1	
	生食水投与群	5.7%	1.5	0.7	
遠隔リンパ節	OK-432投与群	8.4%	4.2	2.3	
	生食水投与群	6.1%	2.8	1.1	

表4 細胞障害活性の推移

	腫瘍移植後		7日	9日	12日
	所属リンパ節	OK-432投与群			
所属リンパ節	OK-432投与群	17.8%	11.0	2.2	
	生食水投与群	6.6%	4.0	0.9	
遠隔リンパ節	OK-432投与群	6.1%	8.6	4.4	
	生食水投与群	2.9%	3.3	2.2	

低下したが, OK-432投与群は生食水投与群に比べて高値を示した。遠隔リンパ節ではあまり変化しなかった(表4)。

2. ヒト胃癌所属リンパ節の免疫応答

胃癌31例(早期15例, 進行16例)を対象に, その術中に肉眼的に転移陰性と判断された胃癌取扱い規約⁴⁾にいう第1群リンパ節と第3群リンパ節を無菌的に採取, リンパ球を分離してモノクローナル抗体OKシリーズでみたリンパ球 subsets, PHA幼若化反応, NK細胞活性を検索した。

T cell subsetsのうちOKT3陽性細胞比(OKT3比)を示せば, 第1群リンパ節51.8%, 第3群リンパ節

図2 早期胃癌所属リンパ節リンパ球の T cell subsets

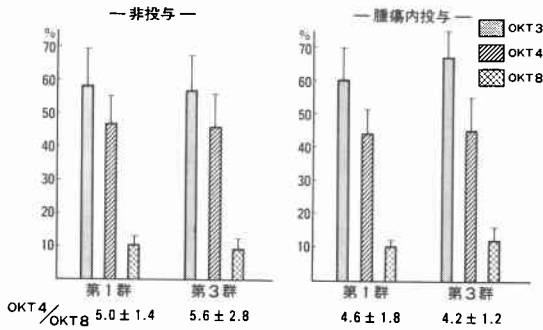


図3 早期胃癌所属リンパ節リンパ球の PHA 幼若化反応

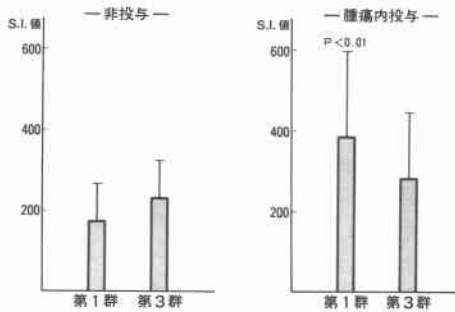
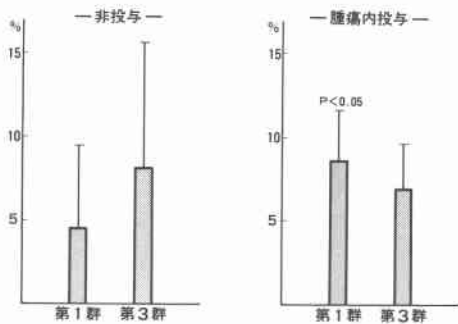


図4 早期胃癌所属リンパ節リンパ球の NK 細胞活性



55.8%と第1群でわずかに低下をみた。PHA 幼若化反応のSI値は、第1群リンパ節175、第3群リンパ節196と第1群で低下をみた。NK細胞活性は、第1群リンパ節5.0%、第3群リンパ節9.0%と第1群で有意の低下をみた (p<0.05)。

つぎに、早期胃癌8例を対象に、術前OK-432を経内視鏡的に腫瘍内および腫瘍周囲粘膜内に10KE投与

し、その所属リンパ節の免疫応答に与える影響について検索した。OK-432非投与の早期胃癌10例を対照とし、前項と同じパラメーターを測定した。

T cell subsetsは、OK-432腫瘍内投与により第3群のOKT3比がやや上昇したが、それ以外は大きな差をみなかった(図2)、PHA幼若化反応のSI値は、OK-432腫瘍内投与により第1群、第3群ともに上昇し、とくに第1群では有意差を認めた(p<0.01)(図3)。NK細胞活性は、OK-432腫瘍内投与により第1群では有意の上昇(p<0.05)をみたが、第3群では差を認めなかった(図4)。

考 察

近年、腫瘍免疫学の進歩に伴って、腫瘍所属リンパ節の機能や意義が明らかにされてきた。すなわち、抗腫瘍性免疫反応の発現および維持の場であると認識され^{1)~3)}、腫瘍の増殖や進展に抵抗するbiological barrierであるといわれている。そこで、その具体的な免疫応答について、実験的、臨床的に検討してみた。

まず、動物実験で所属リンパ節の抗腫瘍性をみた。所属リンパ節摘出群に移植した腫瘍は、遠隔リンパ節摘出群や無処置対照群のそれに比較して明らかに大きく増殖した。咲田ら⁵⁾も指摘するごとく、所属リンパ節に抗腫瘍性が示唆された成績と思われる。

さらに、これらのリンパ節にどのような免疫応答が起っているかみるため、腫瘍移植後のリンパ節のリンパ球動態を経日的に観察した。所属リンパ節ではThy1・2抗原陽性細胞比、PHA幼若化反応のSI値とも移植後1、3日で上昇をみたが、小さい転移が形成されはじめる6日以降では低下した。この担癌初期の上昇は、所属リンパ節に流入してくる腫瘍細胞に対し、ヒトのT cellにあたるThy1・2抗原陽性細胞が増加し、さらにそれが活性化されたための反応と考えられ、抗腫瘍性との関連がうかがわれた。中和試験でもとくに1、3日に抗腫瘍性がみられており、これを裏付ける成績のように思われる。一方、遠隔リンパ節では、Thy1・2抗原陽性細胞比やPHA幼若化反応のSI値に大きい変動はなかったが、中和試験では、所属リンパ節の抗腫瘍性が低下した時期にはじめて抗腫瘍性が出現した。これらの実験成績から、所属リンパ節には免疫応答に裏付けられた抗腫瘍性が認められ、その発現や強さは腫瘍移植後の日数、すなわち腫瘍の進行程度によることが判明した。さらに、所属リンパ節のこの抗腫瘍性は腫瘍の進行や転移形成に伴ない低下し、遠隔リンパ節に移行し、腫瘍とリンパ節との距離にも関

係するように思われる。

つづいて、同じ実験系に溶連菌製剤 OK-432 を投与し、この所属リンパ節の担癌初期にみられる抗腫瘍的な免疫応答に与える影響をみた。所属リンパ節では、Thy1・2抗原陽性細胞比、PHA 幼若化反応の SI 値とも腫瘍の進行や転移形成に伴ない低下したが、OK-432 投与群ではこの低下は抑えられた。竹中⁶⁾も同じ実験動物と腫瘍を用いた実験で、OK-432 投与後の所属リンパ節の反応は T 細胞が主体をなすと同じような成績を報告している。OK-432 の投与により、所属リンパ節では Thy1・2 抗原陽性細胞がまず増加し、さらにその機能も亢進したものと思われる。一方、遠隔リンパ節では、OK-432 投与の影響ははっきりと認められなかった。さらに、このような所属リンパ節の反応が抗腫瘍性に結びついているかをみるため、リンパ節リンパ球の NK 細胞活性、同系腫瘍である MH134 細胞を標的細胞とした細胞障害活性についてみた。所属リンパ節では、両者ともやはり経目的に低下したが、OK-432 投与群ではこの低下は抑えられた。押味ら⁷⁾はマウス腹腔内に OK-432 を投与する実験で、OK-432 は NK 細胞活性を賦活することが考えられるとし、また、清水ら⁸⁾はやはりマウスで、OK-432 投与によりリンパ節リンパ球に抗腫瘍活性を誘導できたと報告している。これらを加味して考えると、所属リンパ節の両活性はかならずしも高くなかったが、OK-432 投与によりその増強がみられており、このことが抗腫瘍性の発現につながっているように思われる。一方、遠隔リンパ節では、OK-432 投与の影響ははっきりと認められなかった。これらの実験成績から、所属リンパ節の免疫応答は遠隔リンパ節に比べ OK-432 投与の影響を強くうけて亢進することが判明した。OK-432 の投与により、所属リンパ節の抗腫瘍性を担癌初期から中期にかけて増強させうるように思われる。

ついで、臨床的にヒト胃癌で所属リンパ節の免疫応答をみた。すべての T cell に対応する OKT3 比、PHA 幼若化反応の SI 値、NK 細胞活性とも、第 3 群リンパ節では保たれているが、第 1 群リンパ節では低下を認めた。著者はすでに、胃癌所属リンパ節の細胞性免疫能を T 細胞比、PHA 幼若化率をパラメーターとして検索し、第 1 群、第 2 群リンパ節では第 3 群リンパ節に比べ転移の有無にかかわらず低下していること、そしてこの傾向は癌腫が進行したものほど明らかであることを報告している⁹⁾。これと一致した成績と考えられ、ヒト胃癌でも、一般に腫瘍に近いリンパ節では細

胞性免疫能は低下して抗腫瘍性は失われているが、腫瘍から少し離れたリンパ節では、これらは比較的保たれているように思われる。リンパ節転移は、このように免疫応答が低下し、抗腫瘍性が失われたのち形成されると考えられよう。

そこで、さきの実験成績を考慮し、この低下した第 1 群リンパ節の免疫応答を OK-432 の投与で増強できないかと考え、低下の少ない早期胃癌症例を対象に検討してみた。腫瘍内投与群の所属リンパ節の免疫応答を非投与群のそれと比較すると、T cell subsets では大きな差はなかったが、PHA 幼若化反応の SI 値、NK 細胞活性はともに、とくに第 1 群リンパ節で有意の上昇を認めた。OK-432 腫瘍内投与が胃癌所属リンパ節の免疫応答に与える影響を三輪ら¹⁰⁾、山根ら¹¹⁾は病理組織学的なリンパ節反応形態から検索し、各 lymphoid reaction の亢進、lymphocyte predominance がみられたとのべている。ともに T cell 活性を表現する形態であり、パラメーターは異なるがこれらに一致する成績と考えられよう。OK-432 の術前腫瘍内投与により、ヒト胃癌でも動物実験と同じように、所属リンパ節の免疫応答を増強させうと思われる。早期胃癌の術前に OK-432 腫瘍内投与を行えば、郭清にもれたリンパ節にはむしろ抗腫瘍性が期待できるとも考えられ、現在、検索を進めている。

おわりに

担癌動物、ヒト胃癌の腫瘍所属リンパ節には抗腫瘍的な免疫応答が発現しており、さらにそれは、溶連菌製剤 OK-432 の腫瘍内投与で増強させうることが判明した。今後はこのような腫瘍所属リンパ節の免疫応答を、外科臨床の場で応用していくことが課題であると考えている。

文 献

- 1) Fisher B, Fisher ER: Studies concerning the regional lymph nodes in cancer. I. Initiation of immunity. *Cancer* 27: 1001-1004, 1971
- 2) Fisher B, Fisher ER: Studies concerning the regional lymph nodes in cancer. II. Maintenance of immunity. *Cancer* 29: 1496-1501, 1972
- 3) 中田一也: 担癌マウスにおける所属リンパ節の抗腫瘍性に関する実験的研究. *東京女医大誌* 53: 260-272, 1983
- 4) 胃癌研究会編: 外科・病理胃癌取扱い規約. 東京, 金原出版, 1979
- 5) 咲田雅一: 所属リンパ節の抗腫瘍性についての実験的研究—外科的操作と所属リンパ節内癌細胞の動態. *京都府医大誌* 86: 37-49, 1977

- 6) 竹中 温：術前腫瘍内 immunopotentiator 投与のリンパ節転移抑制効果とリンパ節内細胞反応についての実験的研究。京都府医大誌 89：351—364, 1981
 - 7) 押味和夫, 隅谷護人, 権田信広ほか：溶連菌製剤 OK-432 の Natural killer 細胞活性増強作用。臨免疫 11：867—870, 1979
 - 8) 清水史郎, 紺田 進, 小中義照：OK-432 処理メチルコラントレン誘発腫瘍マウス各種リンパ組織細胞の殺腫瘍細胞能。日癌会第38回総会記録, 100, 1979
 - 9) 小川健治：胃癌所属リンパ節の機能的, 形態学的抗腫瘍性に関する研究。日臨外医学会誌 42：101—113, 1981
 - 10) 三輪恕昭, 合地 明, 松三 彰ほか：免疫賦活剤胃癌内投与による胃癌組織内リンパ球浸潤とリンパ節反応。臨と研 61：2219—2224, 1984
 - 11) 山根哲郎, 相良幸彦, 鈴木源一ほか：早期胃癌における術前の内視鏡的腫瘍内 OK-432 投与例の検討。癌と化療 11：930—934, 1984
-