

食道癌リンパ節の免疫応答とリンパ節郭清

久留米大学第1外科

白水 玄山 戸次 史敏 坂本 和義
山名 秀明 岩本 元一 掛川 暉夫

IMMUNE RESPONSE OF REGIONAL LYMPH NODES IN ESOPHAGEAL CARCINOMA

Genzan SHIROZU, Fumitoshi BEKKI, Kazuyosi SAKAMOTO,
Hideaki YAMANA, Motoichi IWAMOTO and Teruo KAKEGAWA
First Department of Surgery, Kurume University School of Medicine

索引用語：食道癌，所属リンパ節免疫能，モノクローナル抗体

I. はじめに

癌所属リンパ節や癌組織浸潤リンパ球は，生体防禦機構に深く関与しているといわれている¹⁾²⁾が，その詳細に関しては不明の点も多い。

近年，免疫学の進歩にともないTリンパ球，マクロフィージ，NK細胞，ADCC活性を担うK細胞などの癌細胞破壊機構が解明されてきた。さらにTリンパ球が，ヘルパー，サプレッサー，細胞障害性Tリンパ球などに分類され，癌細胞に対する免疫応答は，これらの細胞の相互作用により行われているといわれている。また最近では細胞融合法により，リンパ球膜抗原に対する特異性の高いモノクローナル抗体が開発され，機能の異なるリンパ球 subset の検出や分類が可能となり，担癌患者の末梢血，リンパ節，脾臓および癌局所リンパ球の免疫学的解析が試みられ，著者らも食道癌患者について検索してきた。

食道癌は，特にリンパ節転移の有無が予後を大きく左右し，所属リンパ節の免疫学的役割を知ることは，現在の子防的リンパ節郭清との関連で重要と思われる。

そこで食道癌を対象に郭清リンパ節の免疫応答を各種リンパ球モノクローナル抗体を用い検索し，あわせて腫瘍局所浸潤リンパ球についても観察を加え，リンパ節郭清の意義について腫瘍免疫学的な面から考察し

た。

II. 研究材料および方法

対象症例は，術前に治療がなされていない食道癌35例で，その原発腫瘍組織および郭清されたリンパ節を使用した。また良性疾患8例，胃癌 stage I・II 13例より採取しえたリンパ節を対照とした。所属リンパ節は，食道癌および胃癌取り扱い規約に準じ第1，第2群を近位，第3群以上を遠位リンパ節とした。郭清されたリンパ節を半切した後，一方を病理組織学的検索に使用し，残りのリンパ節組織を細切後，単離細胞浮遊液としOKシリーズモノクローナル抗体 (OKT4, OKT8) と反応させ，flowcytometry (Spectrum III, Ortho 社) で各抗体に対する蛍光陽性細胞の百分率を求めた。免疫組織化学的検査では，リンパ節および腫瘍組織の凍結切片 (Leu7では一部パラフィン切片) を作製し Leu シリーズモノクローナル抗体 (Leu4, Leu3a+3b, Leu2a, Leu7) を用い ABC 法にて行い DAB 液で発色後，メチルグリーンまたはヘマトキシリンにて核染色し観察した。おのおの陽性細胞数の判定は，光顕下400倍1視野を5~6個所以上検鏡し，その平均値と Leu3a+3b/Leu2a 比を求めた。また郭清されたリンパ節，特に胸部では，炭粉沈着がいろんな程度で認められ炭粉沈着が強く線維化しているようなリンパ節は，検索対象から除外した。なお，リンパ節転移状況については，当教室で過去5年間にR II以上の手術が施行された胸部食道癌症例で検討した。

III. 成 績

食道癌組織学的進行度により stage 0~I と Stage II

※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：白水 玄山

〒830 久留米市旭町67 久留米大学医学部第1外科

~IV 群に大別し、近位と遠位リンパ節群、および転移の有無別群で比較した。

1. Flowcytometry 法によるリンパ節リンパ球 subsets

食道癌 stage 0~I 4例, stage II 1例, Stage III 5例, stage IV 6例, 計16例について検索した。表1に示すようにOKT4 (%)は、食道癌 stage II~IVの近位リンパ節群および転移陽性リンパ節群ではほかの4群に比べ有意に減少していた (p<0.02~p<0.001)。

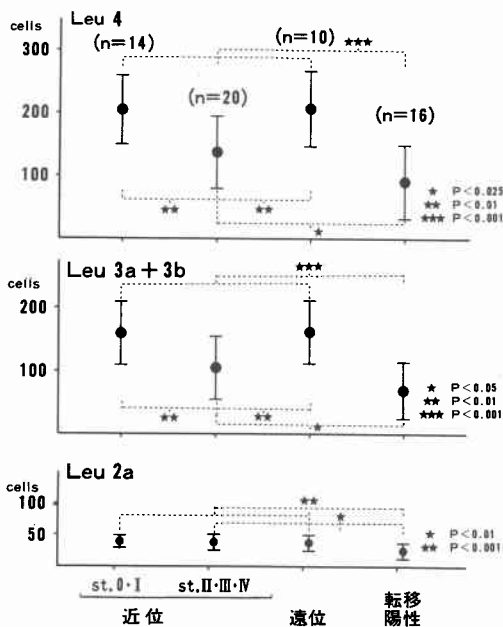
OKT8 (%)は、食道癌の stage 群別、近位および遠位リンパ節群間で差を認めなかった。転移陽性リンパ節群では、増加を示すものも認めたが、他群と比べ有意な差はなかった。

表1 リンパ節リンパ球 subset (flowcytometry 法)

	対照疾患		食道癌			
	良性疾患	胃癌stage I-II	stage 0-I	stage II-IV	stage III-IV	転移陽性
	リンパ節群	近位リンパ節群	近位リンパ節群	近位リンパ節群	遠位リンパ節群	転移陽性リンパ節群
OKT4(%)	44.3±9.5	54.8±11.9	40.6±6.19 ^{a)}	29.5±6.44 ^{b)}	43.7±4.7 ^{c)}	23.6±10.7 ^{d)}
OKT8(%)	12.6±4.09	9.41±2.51	11.0±1.13	10.4±1.97	12.1±2.32	23.3±20.1
OKT4/OKT8	3.80±1.24 (n=8)	6.43±2.11 (n=22)	3.75±0.83 (n=4)	2.85±0.40 (n=10)	3.99±0.83 (n=12)	1.73±1.00 (n=7)

Mean ± SD
 e)-f) P<0.025
 a)-b), a)-d), e)-h) P<0.02
 f)-g) P<0.01
 b)-c), c)-d), g)-h) P<0.001

図1 所属リンパ節 T-cell 陽性細胞数 (免疫組織化学的検査)



OKT4/OKT8比は、食道癌の stage II~IV の近位リンパ節群および転移陽性リンパ節群で他の4群と比べ有意に低下していた (p<0.05~p<0.001)。

2. 免疫組織化学的検査

食道癌 stage 0~I 5例, stage II 1例, stage III 10例, stage IV 3例, 計19例について検索した。

転移陰性リンパ節の濾胞間領域は、Leu4およびLeu3a+3b陽性細胞(以下Leu4+, Leu3a+3b+)が多数認められ、暗殻や胚中心内にも認められた。Leu4+およびLeu3a+3b+細胞数は、(図1上, 中)に示すようにstage II~IVの近位リンパ節群, 136.8±55.7, 104.6±50.5, 転移陽性リンパ節群, 90.3±62.1, 64.9±53.2ではほかの2群に比べ有意に減少していた (p<0.01~p<0.001)。転移陽性リンパ節群では、stage II~IVの近位リンパ節群よりも有意に減少していた (p<0.05~p<0.025)。

転移陰性リンパ節のLeu2a陽性細胞(以下Leu2a+)は、濾胞間領域および暗殻にLeu3a+3b+細胞よりも少なく存在し胚中心内では極めて少数であった。Leu2

図2 所属リンパ節リンパ球 Leu3a+3b/Leu2a 比 (免疫組織化学的検査)

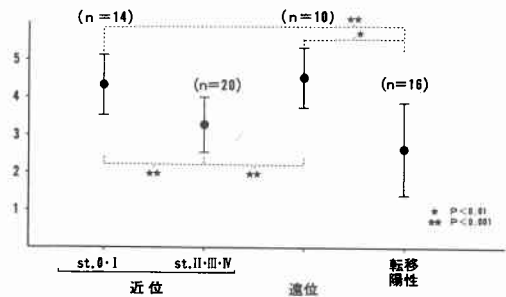
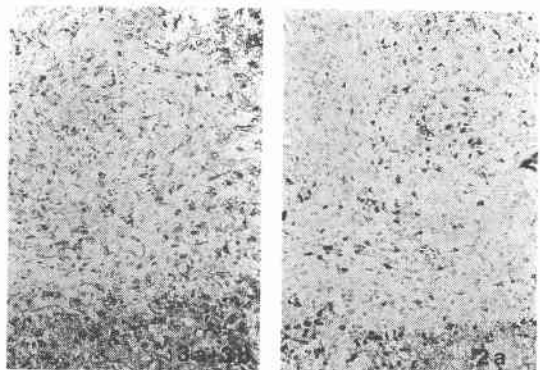


写真1 転移陽性リンパ節の Leu3a+3b と Leu2a 陽性細胞 (ABC法×100)



いることも推測される。進行した食道癌の近位リンパ節の細胞性免疫能の低下には、年齢、リンパ節の部位、癌腫の大きさ、および末梢血との関係などを考慮しなければならないが、胃癌で榊原⁹⁾が指摘するごとく癌転移が一因であると考えられよう。そして転移形成がおこればリンパ節の免疫応答は、ほとんど期待できないものと思われる。

一方、岡林らの第26回日本消化器外科学会総会の報告では、胃癌の転移巣周辺でOKT8⁺細胞が増加し、組織二重染色により suppressor T cell の同定を述べている。

組織型、転移癌腫の大きさ、原発腫瘍局所浸潤リンパ球との比較、用いた抗体の種類等を検討する必要があるが、著者らの Leu2a を用いた結果では、転移腫瘍部で $Leu3a+2b^+=Leu2a^+$ や $Leu3a+3b<Leu2a^+$ となるものも認められたが、転移巣周辺および転移腫瘍部とも Leu2a⁺細胞数の増加を認める所見はほとんど得られなかった。現在 OKT8, Leu2a は suppressor および cytotoxic T cell の両者を意味し判別できず、転移陽性リンパ節での suppressor T cell の同定は、癌の免疫抑制機構を考える上で興味深く、さらに各機能亜群を識別するモノクローナル抗体の開発や特殊染色法により本方面の研究が期待される。

NK 細胞は、腫瘍の発生、増殖および転移に大きく関与していると言われ、ヒト NK 細胞のモノクローナル抗体として抗 Leu7 (HNK-1) 抗体が知られている。リンパ節の免疫組織学的検査では、Leu7⁺細胞は少なく、主に胚中心に局在し濾胞間にはほとんど認められないとの報告⁹⁾がある。著者らの成績では、胚中心を有しないリンパ節でも散在性に認められたが癌腫の進行度や転移のない近位および遠位リンパ節ではほとんど差を認めなかった。また flowcytometry 法でも Leu7⁺細胞比率は、末梢血よりも低値であることを認めている。このことは、リンパ節の NK 活性が末梢血よりも低いとの報告⁹⁾があるように、リンパ節の Leu7⁺細胞が少ないことにも関連していることが考えられる。

転移巣や原発腫瘍局所の Leu7⁺細胞についての報告⁹⁾が散見されているが、森らの腫瘍局所の HNK-1 抗体の検索では早期胃癌と乳癌の2例ずつに多数認められ、大部分の症例にはほとんど認められなかったと第42回日本癌学会総会にて発表している。

今回食道癌のリンパ節転移巣と原発腫瘍局所の Leu7⁺細胞の分布とを比較することで免疫学的意義を検討した。転移陽性リンパ節での Leu7⁺細胞は、腫瘍

周辺部で部分的に認められたのに対し、原発腫瘍局所では、腫瘍部および癌先進部に多く浸潤し、腫瘍の増殖様式や進行度に関与すると思われた。このことは、教室の戸次が癌先進部の Leu7⁺細胞について検討し、進行度や個人差はあるが Leu7⁺細胞の浸潤度が高いものが予後が良い傾向にあると報告(第44回九州癌学会)、原発腫瘍局所の Leu7⁺細胞に注目している。このような観点からみると、リンパ節の Leu7⁺細胞の免疫応答は少ないものと考えられる。

食道癌の予後を左右する重要な因子として転移リンパ節に対する対策の重要性は、常々強調されているところであるが、リンパ節郭清の困難な部位や、郭清により術後合併症の問題となる部位もあり、現在治療成績向上のため術式の改良や合併療法などの配慮が種々払われている。しかし著者らの研究結果のごとく、進行した癌腫、近位の1~2群リンパ節や軽移陽性リンパ節では H/S 比が低く、腫瘍の転移防禦や増殖を抑制する機構が低下していることが示唆され確実に郭清することが予後向上に対し最優先させるものとする。一方早期の癌の症例や転移のない遠位のリンパ節では、進行癌の近位リンパ節よりも比較的免疫能が保たれているものが多かった。これらの検討結果よりみれば早期の癌および転移のない遠位リンパ節に対してはむしろ郭清を広範囲に行わない方が良いのではないかと推論される。しかし深達度が sm でも高い転移率がみられることが多く、術前にリンパ節転移の有無を十分知りえない現時点では、系統的なリンパ節郭清を行わざるをえないのが現状と思う。かかる見地より術前にリンパ節転移の有無を正確に予知することと相俟って本研究が食道癌の手術々式および予後向上に寄与すること大と考える。

V. 結 語

1. 食道癌 stage II~IV の近位リンパ節および転移陽性リンパ節の H/S 比 (OKT4/OKT8, Leu3a+3b/Leu2a) は、stage 0~I リンパ節や遠位リンパ節に比べ低下していた。

2. 転移のないリンパ節の Leu7⁺陽性細胞は、癌腫の進行度に関係せず、近位や遠位リンパ節で差がなく、軽移陽性リンパ節では、腫瘍局所に円形細胞浸潤がみられた症例ほど増加を認めなかった。

文 献

- 1) Fisher B, Fisher ER: Studies concerning the regional lymphnode in cancer. I. Initiation of immunity. Cancer 27: 1001-1004, 1971

- 2) 菊地浩吉：癌組織におけるリンパ球浸潤の臨床的意義。日臨外医学会誌 40：1-6, 1979
- 3) 榊原 宣, 小川健治, 矢川裕一ほか：Surgical immunology とリンパ系。胃癌リンパ節転移と細胞性免疫。外科診療 21：1193-1197, 1979
- 4) 橋本 勇, 小玉正智, 田中承男ほか：担癌生体の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能の関係。京都府医大誌 84：457-464, 1974
- 5) Shirozu G, Nishimura Y, Hashimoto K et al：T cell subsets of peripheral blood and lymphnode in patients with upper GI tract cancer. J Jpn Soc Cancer Ther Vol XX, No 2, 421, 1985
- 6) 世戸芳博, 峠 哲哉, 中根英幸ほか：胃がん所属リンパ節, 脾臓におけるT細胞亜群の同定。On-cologia 12：151-153, 1985
- 7) Greenberg PD, Cheever MA, Feter A：Eradication of disseminated murine leukemia by chemoimmunotherapy with cyclophosphamide and adoptively transferred immune syngeneic Lyt-1⁺2⁻ lymphocytes. J Exp Med 154：952-963, 1981
- 8) Lusheng SI, Whiteside TL：Tissue distribution of human NK cells studied with anti Leu 7 monoclonal anti body. J Immunol 130：2149-2155, 1983
- 9) Moore M, Vose BM：Extravascular natural cytotoxicity in man：Anti-K562 activity of lymphnode and tumor-infiltrating lymphocytes. Int J Cancer 27：265-272, 1981