

## 胸管リンパ球の機能からみたリンパ節郭清に対する一考察

藤田学園保健衛生大学第2病院外科

松本 純夫 永井 研治 杉本 辰雄 杵名 哲治  
竹内 正 野本信之助 吉崎 聰

### A STUDY FOR REMOVAL OF LYMPH NODE IN VIEW OF THE FUNCTION OF THORACIC DUCT LYMPHOCYTES

Sumio MATSUMOTO, Kenji NAGAI, Tatsuo SUGIMOTO,  
Tetsuji KUTSUNA, Tadashi TAKEUCHI, Shinnosuke NOMOTO  
and Satoshi YOSHIZAKI

Department of Surgery, 2nd Teaching Hospital, School of Medicine  
Fujita Gakuen Health University

索引用語：胃癌リンパ節郭清，胸管リンパ球，インターロイキン2 (Interleukin 2: IL-2)

#### 結 言

消化器癌の治療において消化管付属リンパ節は癌の進展形成の面から転移様式およびリンパの流れの面からの研究は数多く行われてきた<sup>1)2)</sup>。その意味で転移リンパ節の徹底的な郭清を行うことの重要性が従来から強調されて来た。しかし消化管付属リンパ節における局所免疫応答機序に関する検討は、抗腫瘍性の検討を含めていまだ十分とは言えない。今回われわれは胸管リンパ球の機能を抗腫瘍性の面から検討し、その結果から消化管付属リンパ節の免疫応答能に関し若干の考察をしたので報告する。

#### 対象および方法

1972年から1984年までの当教室の初発胃癌症例は353例でそのうちリンパ節転移に関し、十分に検索された284例を対象として転移度、転移率などについて検討した。1982年以降、上記症例のうちから再発の疑われた7例および乳癌1例、結核の1例(表1)に胸管外瘻を造設してリンパ球およびリンパ液を採取し、リンパ球亜群、細胞障害性などの面から末梢血リンパ球、血清と比較検討し、一部はリンパ節とも比較検討を加えた。

表1 胸管外瘻造設症例

症 例	年 齢	性	病 名	組織型	手 術	手術所見	ステージ	再発形式
1. K.I.	35	m	胃癌	por	結腸的胃切除	S <sub>2</sub> P <sub>1</sub> H <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	4	腹膜播種
2. A.N.	54	f	胃癌	-	試験例	S <sub>2</sub> P <sub>3</sub> H <sub>0</sub> N <sub>2</sub>	4	-
3. S.M.	65	m	胃癌	tub <sub>2</sub>	胃全摘、R <sub>2</sub>	S <sub>2</sub> P <sub>0</sub> H <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	3	リンパ節
4. S.M.	67	f	胃癌	tub <sub>2</sub>	結腸的胃全摘	S <sub>2</sub> P <sub>1</sub> H <sub>0</sub> N <sub>3</sub>	4	肝
5. H.O.	42	f	胃癌	por	胃全摘、R <sub>2</sub>	S <sub>2</sub> P <sub>0</sub> H <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	2	リンパ節
6. S.T.	74	f	胃癌	tub <sub>2</sub>	胃全摘、R <sub>2</sub>	S <sub>2</sub> P <sub>0</sub> H <sub>0</sub> N <sub>0</sub>	1	-
7. H.S.	71	f	胃癌	tub <sub>1</sub>	胃全摘、R <sub>2</sub>	S <sub>2</sub> P <sub>0</sub> H <sub>0</sub> N <sub>2</sub>	1	肝、骨
8. M.D.	57	f	乳癌	med	定型乳癌切除	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	2	リンパ節?
9. M.S.	78	m	結核	-	-	-	-	-

リンパ球亜群の測定：Ortho社製のモノクローナル抗体OKT3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, IaI, M1およびBecton Dickinson社製のLeu7, 11を用い、フローサイトメトリ法にしたがって分類した。

細胞障害性の判定：<sup>51</sup>Cr release assay法により以下の式から%Lysisを求め比較検討した。

$$\%Lysis = \frac{\text{Exp. cpm} - \text{spont. cpm}}{\text{Max. cpm} - \text{spont. cpm}} \times 100$$

標的細胞として下記の3種の継代培養細胞株を用いた。K562(ヒト急性骨髄性白血病由来培養株, NK感受性), PLC(ヒト肝細胞癌由来培養株, NK非感受性), KATO-3(ヒト胃癌由来培養株, NK非感受性)。

胸管外瘻：左鎖骨上窩に局所麻酔下でリンパ節生検を行うとともに胸管を露出しアトム多用途チューブを挿入し胸管リンパ液を採取した。通常は中心静脈栄養カテーテルとチューブを連結し外シャントを作りリン

※第26回日消外総会シンポ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：松本 純夫  
〒454 名古屋市中区尾頭橋3-6-10 藤田学園  
保健衛生大学第2病院外科

バ液の喪失を防止し、必要な時だけ採取することにして  
いる。

培養液：RPMI1640に0.5mM 可欠アミノ酸，5mM  
ピルビン酸ナトリウム， $5 \times 10^{-5}$ M2-メルカプトエタ  
ノール，2mM L-グルタミン，100 $\mu$ g/ml ストレプトマ  
イシン (M.A. Bioproducts 社製)，100U/ml ペニシ  
リン (Flow 社製)，25mM HEPES，10%FCS (M.A.  
Bioproducts 社製)を添加して37度，5%CO<sub>2</sub> 100%加  
湿下に培養を行った。

リンパ球の分離：末梢血をヘパリン採血した後，比  
重遠沈法によりリンパ球を分離し，リン酸緩衝液にて  
3回洗浄して使用した。胸管リンパ球も同用の方法で  
分離使用した。

IL-2：末梢血リンパ球の10<sup>6</sup>/mlを1%PHA，10%  
FCS加RPMI1640中で48時間培養後，その上清をT細  
胞増殖因子として粗 Interleukin 2 (IL-2) と呼び使用  
した。また一部には塩野義製薬製のリコンビナント  
IL-2も使用した。

胃癌手術においてR2のリンパ節郭清施行するとリン  
パ節の切除とともに胸管への経路である腹腔動脈周  
囲リンパ管経路の遮断されることとなり，本来胸管へ  
流入するはずのリンパ球の道筋も遮断され，一部はド  
レーンを通して体外へ排出されることとなる。その影  
響をみるために手術前，術後1週目，3週目に血液像，  
リンパ球亜群の変化を検討した。

成 績

胸管リンパ球の亜群と胸管リンパ液の性状：胸管リ  
ンパ球はその70から80%がOKT3もしくはOKT11陽  
性細胞であり，B細胞成分は非常に少なかった。末梢  
血リンパ球に比べてOKT4陽性細胞が多く，OKT8陽  
性細胞が少なく (p<0.01)，またOKM1, Leu7, Leu11  
が末梢血リンパ球に比べ極端に少なかった (p<0.05)  
(図1)。胸管リンパ液には赤血球成分はほとんどなく  
血小板も僅少であった。たんぱくも血清値の約2/3で  
あった。電解質ではカリウムが血清値よりも低値であ

り，LDH，コレステロール，IgAも有意の差をもって  
低値であった(表2)。ウイルヒョウリンパ節の亜群を  
みるとB細胞成分と思われるOKIa1陽性細胞が多く  
なり構成細胞の比率は胸管リンパ球と末梢血リンパ球  
の間であった。

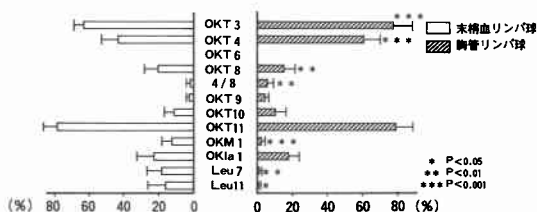
胸管リンパ球の細胞障害性：細胞障害性を末梢血リ  
ンパ球と比較すると，末梢血リンパ球はLeu11が約  
20%を占めることを反映してK562を標的細胞とした  
場合E:T, 100:1で60%以上の細胞障害性を示すの  
に対し，胸管リンパ球は採取直後では約20%の細胞障  
害性しか示さなかった。しかしIL-2, 100U/ml添加，  
4日間培養後では胸管リンパ球は40%前後の細胞障害  
性を示すようになった。NK非感受性のPLCを標的細  
胞とした場合，末梢血リンパ球は10%前後の細胞障害  
性であり，胸管リンパ球も無処置では何の細胞障害性  
も示さなかった。しかしIL-2を添加培養するとE:T,

表 2

細胞成分	末 梢 血	胸管リンパ
白血球	7000±2000	5400±4000
赤血球 (×10 <sup>6</sup> )	300±82	27.8±70 **
ヘモグロビン (g/dl)	12.1±1.8	0.16±0.3 **
血小板	21.1±1.8	0.76±0.32**
蛋白質		
総蛋白 (g/dl)	8.5±0.7	4.3±1.1 **
アルブミン (%)	50.0±6.5	65.5±7.5 **
$\alpha$ -1	5.5±2.3	6.2±3.2
$\alpha$ -2	11.0±2.6	8.0±1.7 **
$\beta$	8.1±1.9	7.9±2.9
$\gamma$	17.6±5.3	13.4±8.2 *
A/G	1.4±0.37	2.1±0.64**
電解質 (mEq/L)		
Na	141.0±4.1	143.1±1.1
K	3.8±0.6	3.4±0.7 **
Cl	100.4±4.6	101.3±7.6
肝機能その他		
LDH (U)	406.0±134	252.0±120 **
GOT (U)	23.9±4.4	22.8±12.3
GPT (U)	12.3±5.0	10.9±5.3
総コレステロール (mg/dl)	151.0±28	84.7±19 **
アミラーゼ (U)	238.0±101	387.0±343
総ビリルビン (mg/dl)	0.9±0.5	1.4±1.4
BUN (mg/dl)	16.8±5.5	17.1±5.3
免疫グロブリン		
Ig G (mg/dl)	1348±488	848±345
Ig A	280±130	93±12 **
Ig M	150±94	50±12 *

\* P<0.01  
\*\* P<0.001

図1 末梢血リンパ球と胸管リンパ球の亜群の比較



50 : 1では10%以上の細胞障害性を示すようになった(図2)。この培養前後での胸管リンパ球の亜群の変化をみるとほとんどすべての亜群が増加しているが、特にOKT8, 9, 10, M1, Ia1およびLeu11の増加が著明であった(図3)。

術前術後での血液像の変化をみるとステージ別の差異はほとんどなく白血球は減少傾向にあった。小リンパ球は術後1週目には減少したが3週目には術前値に復した。大リンパ球, 単球には変化を認めなかった(図

図4 胃癌リンパ節郭清前後でのリンパ球の変化

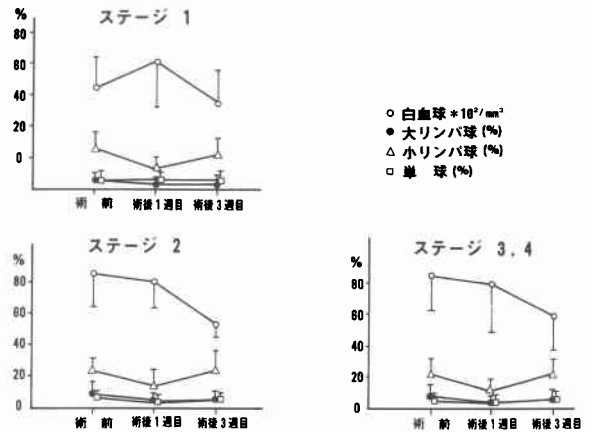
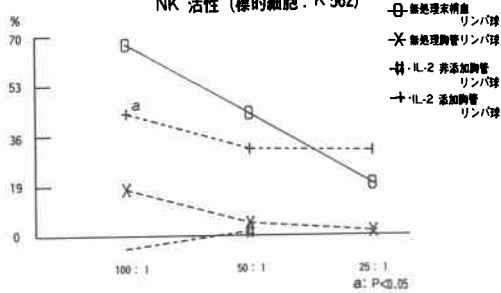


図2

IL-2により胸管リンパ球に誘導されるNK活性 (標的細胞: K562)



IL-2により胸管リンパ球に誘導されるLAK活性 (標的細胞: PLC)

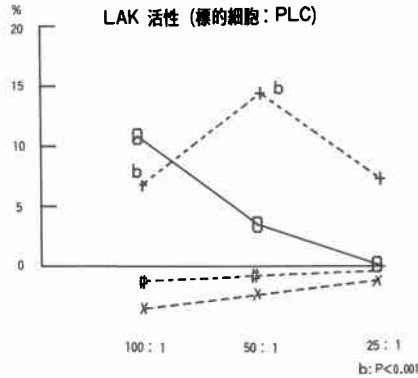


図3 IL-2添加培養前後での胸管リンパ球亜群の比較

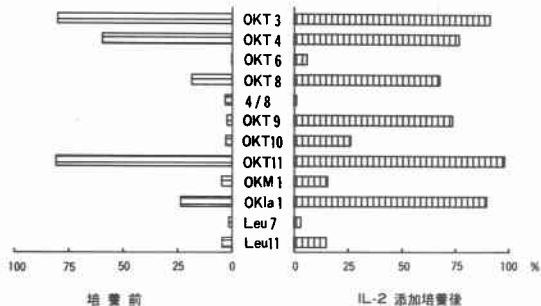
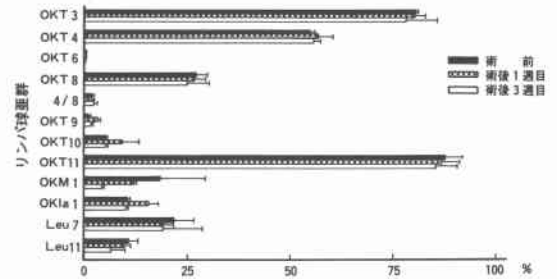


図5 早期胃癌のR2リンパ節郭清による末梢血リンパ球亜群に及ぼす影響



4). 形態的には顕著な変化はなかったが、モノクローナル抗体による亜群の変化でみるとOKM1とLeu11が早期胃癌では術前値に比べ術後1週目, 3週目と減少する傾向にあった。進行胃癌ではそのような傾向は認めなかった(図5)。

考 察

消化管上皮で癌が発生する以上、何らかの免疫応答がその場で行われていると考えるのは当然である。その意味で癌先進部でのリンパ球浸潤あるいはリンパ節の sinus histio cytosis (SH) が従来から問題にされ予後との相関が論じられ、リンパ球浸潤の強いものの予後が良いとされて来た<sup>3)</sup>。しかしこれらの報告はすべて組織学的、形態学的な見地からのもので、細胞レベルでの機能までは追求されていないのが現状であった。

消化管に付随するリンパ装置のなかで胸管は主として横隔膜下の消化管および肝臓を主体とした実質臓器

のリンパ液を集めて大循環へ流入する経路となる。胸管を流れるリンパ液、リンパ球は消化管あるいは消化管付属リンパ節で行われた免疫応答の何らかの情報を担っていると考えられる。事実、胸管リンパ液中には腫瘍細胞が認められることがあり、その周囲にリンパ球を接着している像がみられることもある<sup>4)</sup>。胸管リンパ球の亜群分布をみるとほとんどT細胞で末梢血に比べヘルパー/インデューサーとされるOKT4の占める割合が高く、マクロファージとされるOKM1, NKあるいはKとされるLeu7, NKとされるLeu1が非常に少なく、末梢血とばかりでなくリンパ節とも亜群の構成は異なり独特の役割を有すると考えられる<sup>5)</sup>。胸管リンパ球の細胞障害性を調べてみると、無処理ではNK感受性、非感受性の標的細胞の何れに対しても細胞障害性を示さないが、粗IL-2, リコンビナントIL-2を添加培養した場合は、いずれの場合でも細胞障害性の著明な上昇を認めた。この結果は胸管リンパ球からNKおよびLymphokine activated killer (LAK)が誘導されたことを示し、胸管リンパ球はLAKの前駆細胞であると言うGrimら<sup>6)</sup>の報告と一致した結果である。LAKは自己の新鮮固形腫瘍を破壊することができる<sup>7)</sup>とされ、ヒトの固形腫瘍に対しても応用が出来るのではないかと考えられている。ヒトでは担癌状態がかなり進行してもIL-2産生能は保たれているとされ、再発が疑われたり、もしくは確定している患者でも胸管リンパ球からLAKあるいはNKが誘導されることをわれわれのデータは示している。LAKはOKT3, 8陽性とされ、NKはLeu7あるいはLeu1陽性とされている。これらの前駆細胞がリンパ節郭清と術後ドレーンからのリンパ液の漏出とともに喪失されれば末梢血リンパ球の亜群分布に変化が起ころうと考え検討したところ、早期胃癌においてだけLeu1, Leu7, OKM1, OKT8が術前に比べ術後第3週まで減少していた。進行胃癌ではむしろ術後Leu1, OKT8, OKM1が上昇する例もあった。この結果の意味するところは、進行胃癌では癌を除去することが免疫応答能を回復させ、リンパ節郭清も転移しているものを切除している可能性が高いので生体にとって有益であるが、早期胃癌ではリンパ節郭清がかえって生体の防御

機能を減弱させていることにつながるのではないかと考えている。

このような観点から当教室の胃癌リンパ節転移率を見直すと、深達度m癌33例中1例(3%), sm癌38例中4例(10.5%)の転移陽性例の扱いが考慮されなければならない。この内2例はn1(-), n2(+)の跳躍転移例も含まれており、現在は術前および術中にリンパ節転移の有無を識別出来る確実な方法が無い以上、特異的、非特異的免疫応答能を弱める結果になったとしてもR2の郭清が望ましいと考えており、リンパ節転移に関しては症例毎の細かな対応が免疫応答能の保持には必要と考えている。

### 結 語

1. 胸管リンパ球はNKおよびLAKの前駆細胞をふくんでいる。
2. 早期胃癌にR2のリンパ節郭清を行うと術後3週までの追跡では末梢血リンパ球中のOKT8, OKM1, Leu7, Leu1の比率は低下傾向にあった。
3. 進行胃癌においてはリンパ節郭清前後での末梢血リンパ球亜群変化に一定の傾向を認めなかった。

### 文 献

- 1) 宮本徳廣, 小川道雄, 岡川和弘ほか: 早期胃癌および早期胃癌類似進行癌の組織型とその臨床病理学的特徴—とくに転移とリンパ管侵襲—. 日消外会誌 16: 1772—1777, 1983
- 2) 佐々木迪郎, 市川健寛, 宮川 明ほか: 早期胃癌のリンパ節郭清と手術成績. 日臨外医会誌 43: 642—650, 1982
- 3) 大森幸夫: 胃癌におけるリンパ球浸潤. 外科 42: 881—885, 1980
- 4) 吉崎 聰, 笠原正男: 特集リンパと外科, 胸管リンパによる胃癌診断及び治療上の意義. 外科診療 24: 1797—1808, 1982
- 5) 松本純夫, 永井研治, 野本信之助ほか: ヒト胸管リンパ球のサブポピュレーションについて. リンパ学 7: 113—115, 1984
- 6) Grim EA, Mazumder A, Rosenberg SA: Lymphokine-activated killer resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes. J Exp Med 155: 1823—1841, 1982