日消外会誌　21（10）：2478～2481，1988年

特集　7

胃がん患者脾の免疫抑制への関与と脾摘の意義

広島大学原爆放射能医学研究所外科
峠　哲哉　柳川　悦朗　山口　佳之
黒井　克昌　沢村　明広　服部　孝雄

ROLE OF THE SPLEEN ON THE IMMUNOSUPPRESSION IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER AND EVALUATION OF SPLENECTOMY IN THEIR PROGNOSIS

Tetsuya TOGE, Etsuro YANAGAWA, Yoshiyuki YAMAGUCHI, Katsumasa KUROI, Akihiro SAWAMURA and Takao HATTORI
Department of Surgery, Research Institute for Nuclear Medicine and Biology, Hiroshima University

胃がん患者における脾の免疫抑制への関与と胃全摘例における脾摘の意義について検討した．脾細胞では$CD4^+2H4^+$（suppressor inducer T）細胞の割合が高く，脾静脈血リンパ球では$CD8^+CD11^+$（suppressor T）細胞の割合が有意に高い事が認められた．胃がん全適例における術後7年目での累積生存率は，特に進行がん症例では有意に脾摘群の予後が良好であった．脾摘群では，PPD皮内反応は術後の回復も早く，また血清抑制因子は明らかに低下した．胃がん患者脾はsuppressor T細胞誘導の場を担い，免疫抑制に関与すると考えられ，さらに脾摘群で有意に予後が良好であることが認められた．

索引用語：胃がん，サプレッサー細胞，脾摘

はじめに

消化器手術における臓器大量切除後の機能脱落は重要な課題であるが，特にがん手術において，脾あるいはリンパ節など宿主の免疫応答性に関与する臓器では，その切除による術後のがんに対する宿主応答性への影響を考慮する必要がある．近年の免疫学の進歩により，脾の免疫学的役割が解明されるに従い，担がん生体においては脾摘が腫瘍の増殖に影響することが報告されている[1]．一方，臨床面においても，胃がん手術における脾摘の意義が検討されているが，従来，胃がん手術における脾摘に対する考え方は，主として，脾門部リンパ節郭清や，漿膜浸潤に対するものであった[2]．そこで，本報においては胃がん患者における脾の免疫学的役割を免疫抑制の観点より解析し，さらに，胃がん全摘例における脾摘の意義について，脾摘後の予後および免疫パラメーターの動態から検討した．

対象と方法

1．対象：胃がん患者79名を対象とした．

2．末梢血，脾静脈血および脾リンパ球の調整：ヘパリン加末梢血および手術中に採取した脾，脾静脈血からのリンパ球の分離はConray-Ficoll法によった．脾細胞は摘出脾を細分し，ワイヤーメッシュにて濾過し，赤血球を破壊後に3回洗浄した．

3．脾灌流細胞の採取：摘出脾を4℃において灌流液RPMI-1640 100mlで1時間灌流，流出する細胞を灌流リンパ球として用いた[3]．

4．モノクローナル抗体：モノクローナル抗体はCD3，CD4，CD8，OKIa1（Ortho Diag. USA），CD11（Beckton Dickenson Immune Sys. USA）およびT2H4（Coulter Co., USA）を用いた．

5．Two color解析：上述の方法で分離した1×10^6個のリンパ球にモノクロナール抗体を5μlずつ加え，4℃，45分間反応させた後，2回洗浄，さらに10倍希

※第31回日消外会総会シンポIII・臓器大量合併切除後の諸問題

＜1988年5月26日受理＞別刷請求先：峠　哲哉
〒734　広島市南区霞1－2－3　広島大学原医研外科

釈した二次抗体を20μlを加え，同様に反応させた[4]．FACS-IVにて10,000個のリンパ球を測定し，リンパ球の陽性率を算出した．

6．血清抑制因子：血清抑制因子の測定は既報によった[5]．

7．胃がん全摘例における脾摘の意義：胃がん全摘例を封筒法にて脾摘および非脾摘群に分け予後を検討した．この場合，腫瘍が大弯側に占拠する，脾門部リンパ節に転移陽性，膵脾合併切除の症例は除外した．昭和55年2月より60年3月まで脾摘群41例，非脾摘群38例の計79例である．

結　果

1．胃がん患者におけるT細胞亜群：胃がん患者の病期の進行に伴うT細胞亜群の変化について肝硬変患者と比較して検討した（**表1**）．Suppressor T（Ts）細胞亜群である$CD4^+2H4^+$（suppressor inducer T）および$CD8^+CD11^+$（suppressor T）細胞は胃がん患者脾においての分布は有意に高いことが認められた．さらに，この細胞は，病期の進行に伴って上昇することが認められた．一方，$CD4^+2H4^-$（helper T）細胞および$CD8^+CD11^-$（cytotoxic T）細胞の割合は肝硬変患者とほぼ同等であり，また病期の進行に伴う変化は認められなかった．

2．脾，脾静脈血および末梢リンパ球のT細胞亜群：脾，脾静脈血および末梢血リンパ球のT細胞亜群について$CD4^+2H4^+$，$CD4^+2H4^-$，$CD8^+CD11^+$，$CD8^+CD11^-$細胞の分布を比較した（**表2**）．脾リンパ球においては，脾静脈血および末梢血リンパ球に比べ$CD4^+2H4^+$細胞の割合が有意に高いことが認められた．また，後者においては，$CD4^+2H4^-$細胞の分布は低値を示した．一方，$CD8^+CD11^+$細胞の割合は脾静脈血リンパ球において有意に高いことが認められた．さらに，脾灌流リンパ球および残存リンパ球において同様に検討した（**表3**）．未分画脾細胞および灌流リンパ球においては，$CD4^+2H4^+/CD8^+CD11^+$比は有意に高く，残存リンパ球および脾静脈血リンパ球ではこの比は低いことが認められた．このように，脾においては，$CD4^+2H4^+$（suppressor inducer T）細胞の割合が高く，特に灌流リンパ球において顕著であった．

3．胃がん全摘例における脾摘の意義：胃がん全摘例を封筒法によるrandomized controlled trialにより脾摘および非脾摘群に分け術後7年目までの予後を検討した（**図1**）．両群の年齢，性別，病期，組織型，深達度の背景因子を検討したが有意差は認められなかった．術後7年目までの累積生存率をKaplan-Meier法により検討すると，全症例の7年目の生存率は脾摘群66.8%，非脾摘群54.0%であり，脾摘群での予後が良好であった．特に，Stage III，IV群において検討すると，脾摘群45.5%，非脾摘群12.5%であり，脾摘群の予後は有意に良好であった（$p<0.05$）．

表1　胃がんおよび肝硬変患者脾細胞におけるT細胞亜群

	T細胞亜群（%）			
	$CD4^+2H4^+$	$CD4^+2H4^-$	$CD8^+CD11^+$	$CD8^+CD11^-$
肝硬変　(2)[a]	2.6±0.9[b]	19.6±6.4	0.8±0.7	3.3±0.5
胃がん				
Stage I＋II (3)	4.2±1.4	14.3±1.5	2.4±1.3	5.6±2.6
III (6)	4.3±1.5	16.6±6.3	2.8±1.9	5.1±1.6
IV (9)	6.1±3.9	17.1±6.2	3.1±2.1	5.8±1.8
再発 (2)	9.7±0.1	15.7±1.7	4.5±0.1	6.3±0.5

[a]（　）：患者数，[b]平均値±SD

表2　胃がん患者の脾細胞，脾静脈血，末梢血リンパ球におけるT細胞亜群の比率

細　胞	T細胞亜群／$CD3^+$細胞比（平均値±SE）			
	$CD4^+2H4^+$	$CD4^+2H4^-$	$CD8^+CD11^+$	$CD8^+CD11^-$
脾細胞　(15)[a]	0.26±0.07*	0.51±0.11	0.11±0.08	0.24±0.09
脾静脈血リンパ球 (5)	0.15±0.04*	0.43±0.09*	0.15±0.04*	0.21±0.08
末梢血リンパ球　(15)	0.21±0.03	0.56±0.02	0.09±0.03	0.20±0.02

[a]（　）：患者数，末梢血リンパ球との比較　*$p<0.01$

表3　胃がん患者脾細胞，脾静脈血および末梢血リンパ球における $CD4^+2H4^+/CD8^+CD11^+$ 細胞比

細胞[a]	$CD4^+2H4^+/CD8^+CD11^+$ 細胞比
脾細胞	2.32±0.25[a]**§
脾灌流リンパ球	2.08±0.11*§
脾残存リンパ球	1.57±0.28
脾静脈血リンパ球	1.35±0.22**
末梢血リンパ球	1.86±0.35

[a] 平均値±SE．末梢血リンパ球との比較，*$p<0.05$，**$p<0.01$．脾静脈血リンパ球との比較　§$p<0.01$．

4．脾摘後の免疫パラメーターの動態：脾摘後の免疫パラメーターの動態について，PPD 皮内反応，血清抑制因子の術前値に対する術後の変化率を両群において比較した(図2)．PPD 皮内反応は，脾摘群においては術後2週間目まで下降する傾向を示したが，1カ月目には術前値以上に回復するのに対し，非脾摘群においては術後6カ月まで低値のまま推移した．さらに，血清抑制因子は，脾摘群においては術後1カ月以降明らかに低下したが，非脾摘群においてはむしろ上昇したまま経過した．

考　察

われわれはこれまで脾においては Ts 前駆細胞が高頻度に認められ，脾静脈血においては成熟化 Ts 細胞が豊富であり，がん進行に伴い脾は Ts 細胞成熟の場を担い，脾において成熟化した Ts 細胞は脾静脈血に流出することを明らかにしている[6)7)]．さらに，脾細胞を cell size により分画すると，Ts 前駆細胞は中ないし大リンパ球分画に，成熟化 Ts 細胞は大リンパ球分画に存在し，がん進行に伴って中ないし大リンパ球分画の細胞が増加し，この分画には IgG-Fc レセプター陽性細胞および OKT8陽性細胞の割合が豊富であることが認められた[8)9)]．Suppressor/cytotoxic T 細胞を標識する OKT8/Leu2陽性細胞の分布を脾およびリンパ節において検討すると，脾では Leu2陽性細胞の分布

図1　胃がん全摘例における脾摘群，非脾摘群の予後

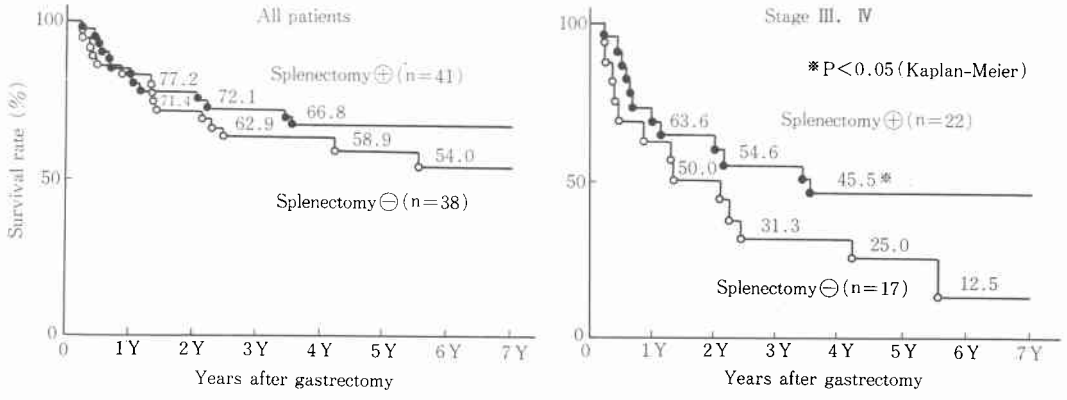
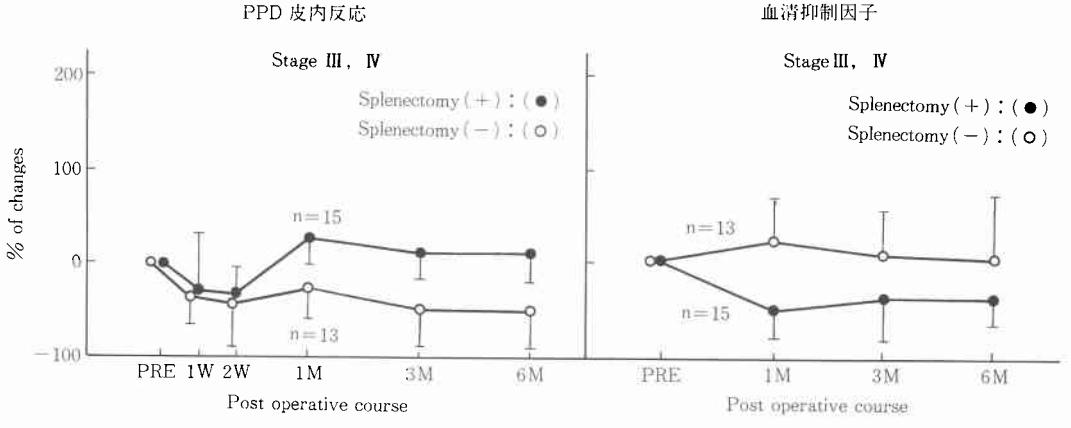


図2　胃がん全摘例における術後の免疫パラメーターの推移



は明らかに高頻度であり，リンパ節では低いが，リンパ節に転移陽性の場合には著明に上昇し，それに伴なってTs細胞活性が高値を示すことを認め，脾におけるLeu2陽性細胞はTs細胞として働くことが示唆された[10]．今回，モノクロナール抗体を用いて脾，脾静脈血，末梢血リンパ球のT細胞亜群について検討したが，Two color解析によるT細胞亜群について，$CD4^+2H4^+$細胞はsuppressor inducer T細胞，$CD4^+2H4^-$細胞はhelper T細胞，$CD8^+CD11^+$細胞はsuppressor T細胞，$CD8^+CD11^-$細胞はcytotoxic T細胞といわれている[11)12)]．胃がん脾細胞にはsuppressor inducer T（$CD4^+2H4^+$）細胞が高頻度に存在するが，suppressor T（$CD8^+CD11^+$）細胞は脾静脈血に比べむしろ低値を示した．このことからも脾ではsuppressor inducer T細胞の存在下でTs細胞の成熟化が起こると考えられる．脾におけるTs細胞誘導の機序をさらに明確にするために，脾を灌流し脾から緩徐に動員される細胞を脾から脾静脈血への移行型の細胞と考え，この灌流リンパ球細胞と脾に捕捉されている細胞に分画した．灌流脾細胞にはTs前駆細胞が豊富であることを明らかにしているが[13]，さらにこの細胞中にはsuppressor inducer T細胞が高頻度に存在することから，脾から脾静脈への過程におけるTs細胞の成熟化が示されたといえよう．以上の結果より，胃がん患者においては脾はTs細胞誘導の場を担っており，免疫抑制に関与すると考えられる．

胃全摘例における脾摘の意義について，累積生存率より検討すると，進行がん症例においては脾摘群における予後が明らかに良好であった．さらに，免疫パラメーターは脾摘群において，術後のPPD皮内反応の上昇および血清抑制因子の低下が明らかであった．これまで，脾摘後の免疫パラメーターの推移を検討した報告は少ないが，術後の推移に大きな差はないとされている．しかし，脾摘により多量のリンパ球が除去されたことによる術後早期の末梢血リンパ球の低下は指摘されており，今後，脾機能の詳しい解析と背景因子を厳重に均一化した症例で検討する必要がある．

おわりに

進行胃がん症例における脾の免疫抑制への関与を明らかにし，胃がん手術における脾摘の適応について述べた．脾摘により担がん生体は免疫学的ばかりでなく，血液学的にも影響を受けることも考慮する必要がある．

文　献

1) Milas L, Mujagic H: The effect of splenectomy on fibrosarcoma metastasis in lung of mice. Int J Cancer 11：186—190, 1973
2) 大橋一郎，高木国夫，大田俊博ほか：進行胃がんにおける膵脾合併切除の意義．とくにリンパ節転移について．日消外会誌 12：993—999, 1979
3) Reinecke G, Pabst R: Subset of blood, spleen and recirculating lymphocytes in man. Clin Exp Immunol 53：672—676, 1983
4) Oi VY, Glazer AN, Stryer L: Fluorescent phycobiliprotein conjugate for analysis of cells ajd molecules. Cell Biol 93：981—986, 1982
5) Toge T, Nagusa Y, Nakano A et al: Lymphocyte responsiveness to PHA and its modification by serum inhibitor in patients with breast cancer. Gann 70：245—248, 1979
6) Toge T, Hamamoto S, Itagaki E et al: Concanavalin-A induced and spontaneous suppressor cell activities in peripheral blood and spleen cells from gastric cancer patients. Cancer 52：1624—1631, 1983
7) Toge T, Kameda A, Yamada H et al: Role of the spleen on immunosuppression of esophageal and gastric cancer patients. Jpn J Surg 16：330—335, 1986
8) 峠　哲哉：胃がんにおける免疫抑制機序の解析と治療への応用．日消外会誌 19：1873—1880, 1986
9) 峠　哲哉，亀田　彰，黒井克昌ほか：胃がん患者の脾におけるサプレーサー細胞誘導機序の解析と脾摘の意義．Oncologia 14：146—151, 1985
10) Toge T, Seto Y, Kuroi K et al: Relationship of the distribution of Leu2+ cells with suppressor cell activities in the spleen and lymphonodes from gastric cancer. Jpn J Surg 17：72—77, 1986
11) Mormimoto C, Levin NL, Distaso JA et al: The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset. J Immunol 134：1508—1515, 1985
12) Landy A, Gartland GL, Clement LT: Characterization of a phenotypically distinct subpopulation of Leu2+ cells that suppress T cell proliferative responses. J Immunol 131：2757—2761, 1983
13) 峠　哲哉，世戸芳博，柳川悦明ほか：胃がん患者における脾合併切除の意義．消外 9：1887—1894, 1986