

胃癌患者における手術侵襲の免疫学的影響とその対策

東邦大学第1外科学教室

加瀬 肇 小林 一雄 本田 亮一 鷺沢 尚宏
佐藤 行彦 永澤 康滋 柳田 謙蔵 吉雄 敏文

胃癌治癒切除例51例を対象とし、4群に分類し、術前、術後2週、1、3、6、12か月で免疫パラメーターを計測し手術侵襲によりどの様に推移するかを検討した。リンパ球数、PHA、ConA リンパ球幼若化反応、PPD、Su-PS 皮内反応は術後2週で低下を示し、OKT 4細胞比とOKT4/OKT8比はやや遅れて1~3か月で低値を示し、侵襲の大きかった群で回復が遅れた。さらに23例を対象とし、two color を用いたリンパ球サブセットの解析を術前、術中、術後に行った。術中より suppressor T細胞の増加、helper T細胞と cytotoxic T細胞の減少を認め、これらは術式や進行度に応じて推移した。また胃癌48例に対し、教室の regimen に従い術前より免疫化学療法を施行しパラメーターを観察した。術後2週に各パラメーターの低下を認めたが、進行度や侵襲の軽い群ではPHA、ConA リンパ球幼若化反応、PPD、SuPS 皮内反応において、1~3か月以降に術前値以上の上昇を認めた。

Key words: surgical stress, immunological parameter, gastric cancer, immunotherapy

はじめに

胃癌に対する手術法の進歩によりその予後は年々向上しつつあるが¹⁾、さらに成績向上をめざして種々の工夫が試みられている。

手術に伴う免疫抑制機序の把握もその1つで、免疫能の低下した担癌生体ではさらに抑制され、時に思わぬ早期に再発を生じることがある。したがって手術侵襲の程度の解明とそれに応じた対策が是非必要である。

今回、手術侵襲の免疫学的影響を把握する目的から、術後担癌の影響のない胃癌治癒切除例を選択し、主に細胞性免疫能を示す非特異的免疫学的指標が手術侵襲でどのように推移するかを進行度別、術式別に検討した。

さらにこの免疫抑制状態の改善を目的に非特異的免疫賦活剤による効果も検討した。

対象と方法

1) 対象症例

① 過去4年間の胃癌切除例のうち、術後の組織診断にて治癒切除と判定し²⁾、しかも術後1年まで非特異的免疫パラメーターを計測しえた51例を対象とした。これらを進行度別、術式別に分類し、パラメーターの

推移を術前、術後2週、1、3、6、12か月で比較検討した (Table 1)。

② また、術中、術直後の計測も行い、その後もフォローアップできた他の治癒切除例23例を選択し、stage I+IIを亜全摘群と全摘群の2群に分け、stage III+IVは症例数の関係から1群として、術前、術中、術後のパラメーターの推移を比較した。

上記①と②では、時期の相違により、リンパ球サブセットの解析に使用したパラメーターは異なった。

術後化学療法は、組織所見でm, ly₀, v₀, n₀以外は術後2週目より musked compound のフッ化ピリミジン系制癌剤を主体として投与したが、免疫賦活剤は使用していない。また、術後に重篤な合併症を生じたものは除外した。

③ 非特異的免疫賦活剤の効果を検討するため、最近の手術症例48例に対し、上記の化学療法に加えて免疫

Table 1 4 curative surgical groups

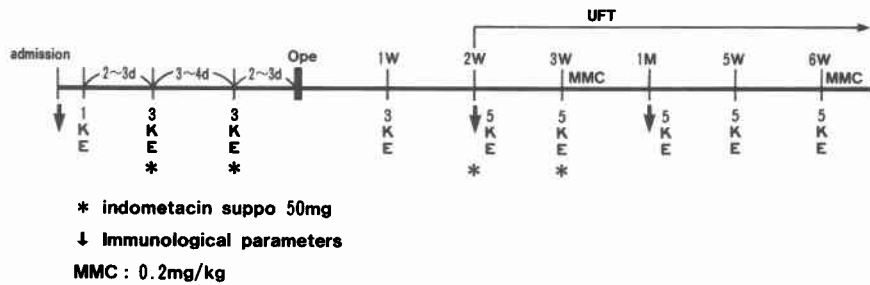
stage I+II	Subtotal gastrectomy	n=24
stage I+II	Total gastrectomy	n=8
stage III+IV	Subtotal gastrectomy	n=7
stage III+IV	Total gastrectomy	n=12

Immunological Parameters

PBL, OKT3, OKT4, OKT8, OKT4/OKT8,
IgGFcR (+) T, Leu7, Leu11,
PHA・ConA induced lymphoblastogenesis (S.I.)
PPD・Su-PS Skintest

<1991年2月13日受理>別刷請求先:加瀬 肇
〒143 大田区大森西6-11-6 東邦大学医学部第1外科

Table 2 Immunochemotherapy regimen



療法を併用し、パラメーターの変動を計測した。

免疫療法は教室の regimen に従い、OK432を術前術後に渡り投与し、術後化学療法は2週目より同様のフッ化ピリミジン系制癌剤を投与した (Table 2)。

2) 検索方法

1) 術前術後における免疫能の推移(免疫療法未施行群)

胃癌患者の末梢血より Table 1 に示す指標を用い検索した。

① リンパ球数

白血球数と血液像より算定した。

② リンパ球サブセット

OKTモノクロナール抗体シリーズ (Ortho社) と Leu7, 11抗体 (Becton-Dickenson社) を使用し、全血法にて Flow Cytometer で測定した。OKT 3細胞, OKT 4細胞, OKT 8細胞, Leu 7細胞, Leu 11細胞は百分率で表現し、OKT4/OKT8比を算出した。IgG-FcR (+) T細胞は FITC 標識モノクロナール抗体 (T11) と PE 標識抗体 (L11) を用い計測し、細胞比で表現した。

③ PHA・ConA リンパ球幼若化反応

Microplate 法により、PHA, ConA を mitogen として64時間培養後、³H-thymidine でラベルしてさらに8時間培養し、細胞回収成分を液体シンチレーションカウンターにて測定した。結果を stimulation index (S. I. 値) で表現した。

④ PPD 皮内反応と Su-PS 皮内反応も施行した。

PPD 皮内反応は、一般診断用精製ツベルクリン (0.5 ng/ml) を0.1ml 前腕皮内に注射し、48時間後に紅斑の縦、横径を計測、その平均値を求め指標とした。

Su-PS 皮内反応は、A 群溶連菌 Su 株の細胞膜より Slade の方法³⁾で抽出した多糖体、Su-PS 溶液0.1ml を前腕皮内に注射し、24時間後に紅斑の縦、横径を測定

Table 3 Two color analysis

CD4 (+) ・ 2H4 (+)	suppressor inducer T cell
CD4 (+) ・ 2H4 (-)	helper T cell
CD11 (+) ・ CD8 (+)	suppressor T cell
CD11 (-) ・ CD8 (+)	cytotoxic T cell
CD11 (+) ・ CD8 dull (+)	NK subaet
CD16 (+) ・ Leu7 (-)	active NK cell

し、その平均値を求めた。それぞれの測定値の比較は t 検定にて有意差の検定を行った。

2) 術中術後における免疫能の推移(免疫療法未施行群)

手術侵襲の免疫能への影響をより明らかにする目的で、術中、術直後よりパラメーターを測定した。リンパ球数と IgG-FcR (+) T細胞比のほか、FITC 標識のモノクロナール抗体と PE 標識のモノクロナール抗体を用いて two-color flow cytemetry にて T細胞サブセットの解析を行った。レーザーフローサイトメーターは FCM-1 (日本分光) を用いた。用いたモノクロナール抗体は Table 3 のごとくである。測定は術前、術中(リンパ節郭清終了後に末梢より採血)、術直後、術後3日、術後2週、術後1, 3, 6か月に施行し、それぞれの測定値を t 検定にて有意差の検定を行った。

3) 非特異的免疫療法併用群における免疫能の推移

2)と同様のパラメーターを用いて、術前、術後2週、1, 3, 6か月に観察し、それぞれの測定値を t 検定にて有意差の検定を行った。

結 果

I. 術前、術後における非特異的免疫パラメーターの推移

各群間に年齢別有意差は認められなかった。

① リンパ球数

4群ともに術後2週において低値を示し、術前値と比べて、stage III+IV 全摘群以外は有意差 ($p < 0.05$) が認められたが、3か月には回復を認めた (Fig. 1).

Fig. 1 Changes in the peripheral blood level of lymphocyto before and after gastrectomy in patients without immunotherapy.

Peripheral blood level of lymphocyte (mean \pm S.D.)

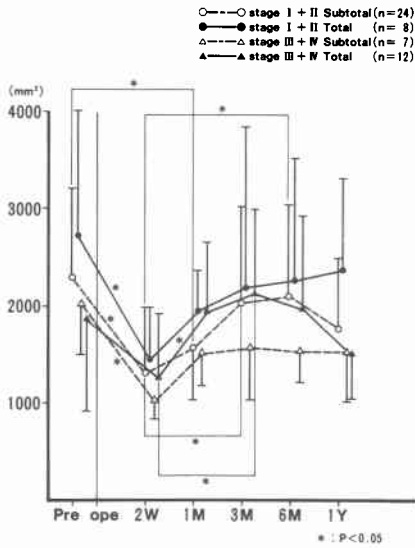
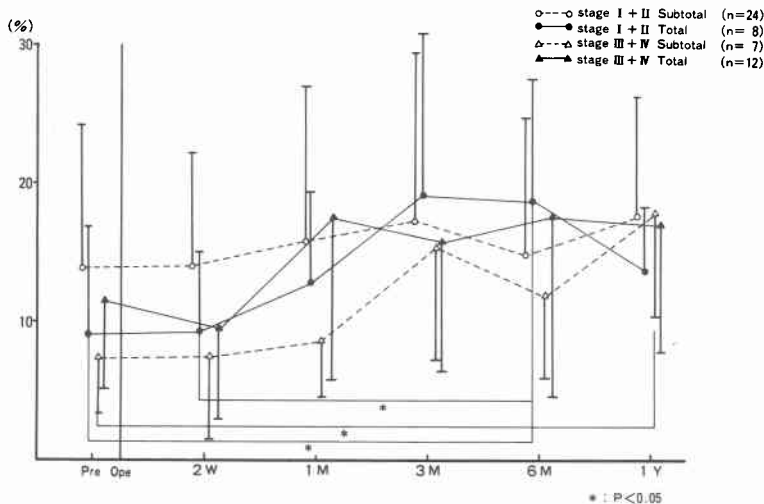


Fig. 2 Changes in the peripheral blood level of IgG-FcR (+) T cell before and after gastrectomy in patients without immunotherapy.

IgG-FcR (+) T cell (mean \pm S.D.)



② T細胞サブセット

OKT 3細胞比は各群とも同様な値を示し変動は見られなかった。

IgG-FcR(+)T細胞比は、stage I+II全摘群、stage III+IVの亜全摘群と全摘群に於て、経過とともに上昇を認めた (Fig. 2).

また、stage I+II亜全摘群とstage III+IVの亜全摘群間には、術前、2週、1か月において有意差が認められ、stage III+IVの亜全摘群は低値をしめしたがその後回復した。

OKT 4細胞比は、4群とも1か月、3か月で有意な低下 ($p < 0.05$) が認められ、stage I+II 亜全摘群以外は回復が遅れた (Fig. 3).

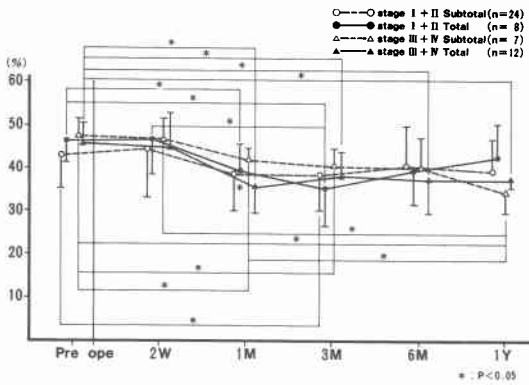
OKT4/OKT8比は術後1か月、3か月で低下を示す傾向が見られたが、特に全摘を施行した2群で術前値に比べて有意な低下が認められた (Fig. 4).

Leu7とLeu 11細胞比は、経過とともに除々に上昇する傾向を示し、stage I+II 亜全摘、全摘群で有意差が認められた (Fig. 5).

③ PHA, ConA リンパ球幼若化反応では、両者ともほぼ同様に推移し、2週においてstage I+II 亜全摘群以外は著明に低下し、術後1年でほぼ術前値に回復した (Fig. 6).

PPD, Su-PS 皮内反応も2週目で低値を示す傾向が見られたが、有意差は認められなかった。

Fig. 3 Changes in the peripheral blood level of OKT 4 cell before and after gastrectomy in patients without immunotherapy.
OKT 4 cell (%) (mean±S.D.)



II. 術中術後における免疫能の測定

CD11 (+) CD8 (+) 細胞比は各群同様に推移し、術前値に比べ術中有意な上昇を示したが、術後3日には術前値に回復した (Fig. 7).

CD4 (+) 2H4 (+) 細胞比は術中術直後と低下したが3日目には上昇する傾向を示した。また、stage III+IV 群は経過を通じて他群より高値を示し、術後3日では stage I+II 亜全摘との間に有意差を認めた (Fig. 8).

CD4 (+) 2H4 (-) 細胞比は術中術直後に各群ともに有意な低下を示し、その後回復したが stage I+II 亜全摘は6か月まで上昇を認めた (Fig. 9).

CD11 (+) CD8dull (+) 細胞比と CD16 (+) Leu7 (-) 細胞比は術中術直後に上昇し、術後3日には術前値に近似し、stage I+II 全摘以外はその後変化なかったが stage I+II 全摘は6か月に再上昇が見られた (Fig. 10, 11). CD11 (-) CD8 (+) 細胞比は術中より低下し、stage I+II の全摘群と stage III+IV 群は回復が遅延した (Fig. 12).

III. 非特異的免疫療法施行群における免疫パラメーターの推移

免疫療法による手術侵襲の軽減と早期回復の効果を見るためには対象群との比較が必要である。しかし免疫パラメーター測定時期、背景因子などの不一致から現段階では無理があるため、今回は進行度別、術式別の推移のみを示した。

リンパ球数は2週において、I+II全摘群以外は有意な低下を認めたが、その後各群とも経過とともに回復した (Fig. 13).

PHA, ConA リンパ球幼若化反応とともにIII+IV全摘群が経過中低値を示したが、その他の群は術前値以上の上昇が認められた (Fig. 14, 15).

SuPS, PPD 皮内反応は各群ともに2週で低下したもののその後上昇したが、特にI+II亜全摘群で顕著

Fig. 4 Changes in OKT4/OKT8 ratio before and after gastrectomy in patients without immunotherapy.
OKT4/OKT8 [mean±S.D.]

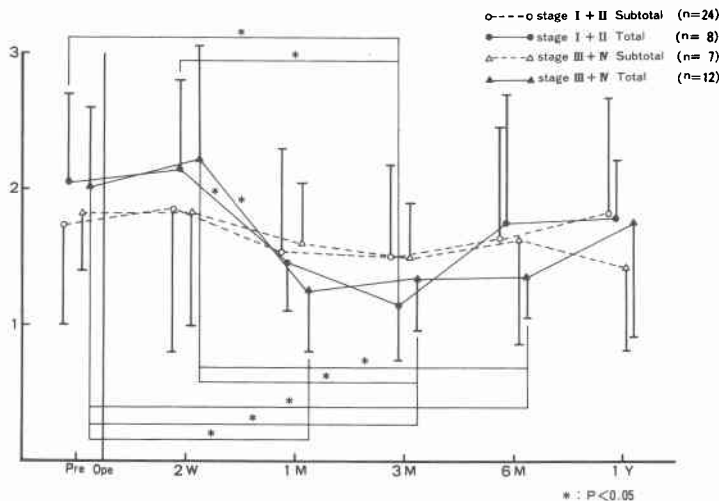


Fig. 5 Changes in the periferal blood level of Leu 7 and Leu 11 before and after gastrectomy in patients without immunotherapy.

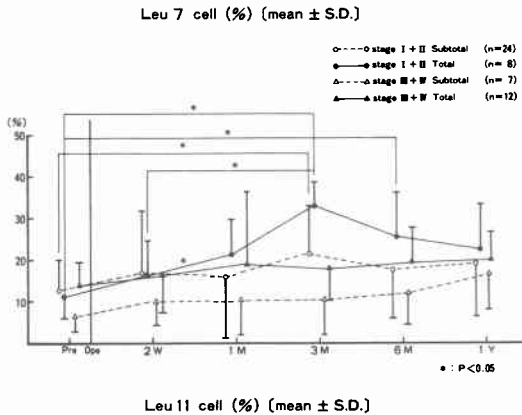


Fig. 6 Changes in the periferal blood level of PHA and Con A induced lymphoblastogenesis before and after gastrectomy in patients without immunotherapy.

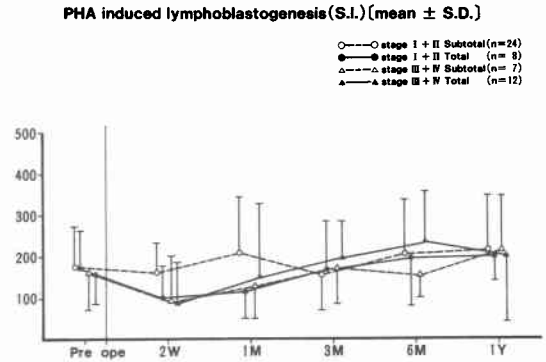


Fig. 7 Changes in the periferal blood level of CD11 (+) CD8 (+) T cell before, during and after gastrectomy patients without immunotherapy.

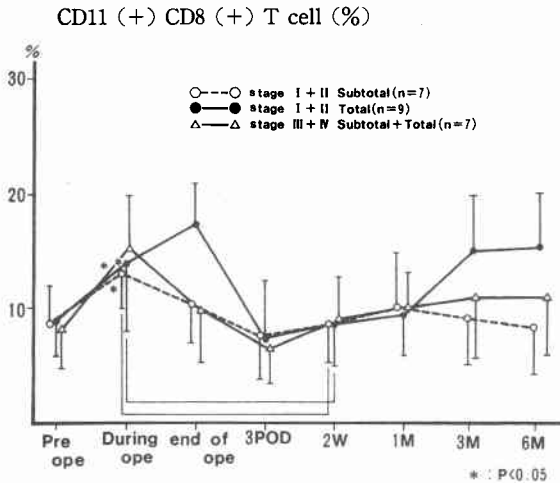


Fig. 8 Changes in the periferal blood level of CD4 (+) 2H4 (+) T cell before, during and after gastrectomy in patients without immunotherapy.

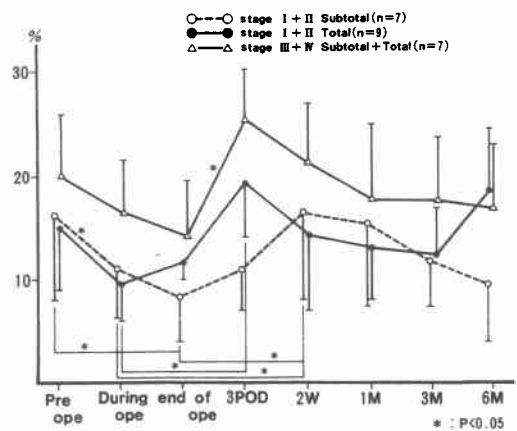


Fig. 9 Changes in the peripheral blood level of CD4 (+) 2H4 (-) T cell before, during and after gastrectomy in patients without immunotherapy. CD4 (+) 2H4 (-) T cell (%)

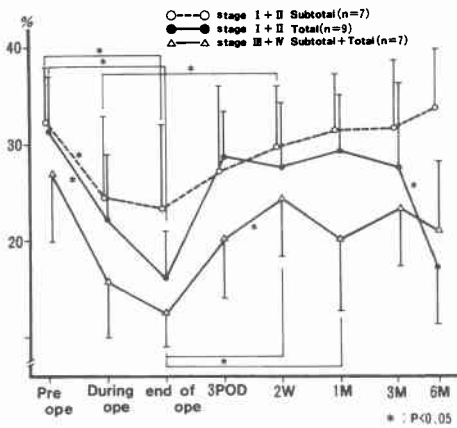


Fig. 10 Changes in the peripheral blood level of CD11 (+) CD8 dull (+) T cell before, during and after gastrectomy in patients without immunotherapy. CD11 (+) CD8 dull (+) T cell (%)

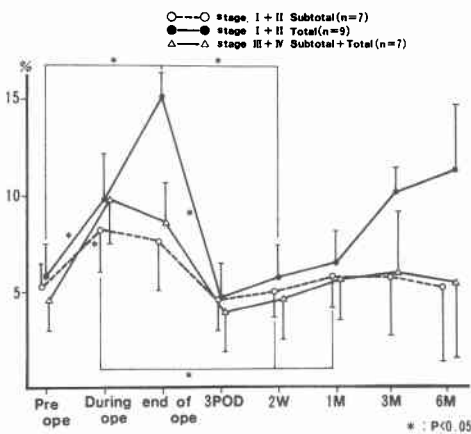


Fig. 11 Changes in the peripheral blood level of CD16 (+) Leu7 (-) T cell before, during and after gastrectomy in patients without immunotherapy. CD16 (+) Leu7 (-) T cell (%)

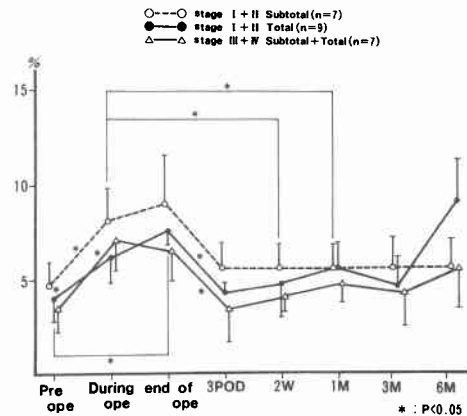
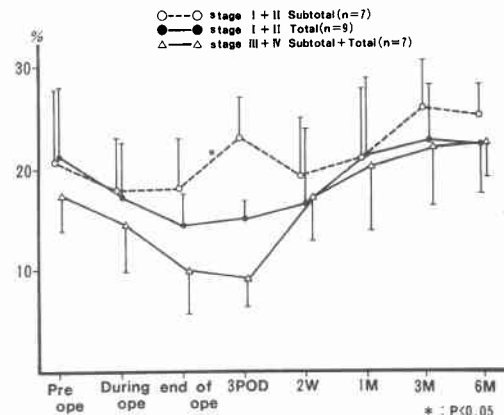


Fig. 12 Changes in the peripheral blood level of CD11 (-) CD8 (+) T cell before, during and after gastrectomy in patients without immunotherapy. CD11 (-) CD8 (+) T cell (%)



であった (Fig. 16).

CD4 (+) 2H4 (-) 細胞比では I + II 亜全摘群が 2 週以後上昇傾向を示したが、その他の群は低下し回復が遅れた (Fig. 17).

考 察

手術侵襲は生体の免疫能を抑制するといわれているが⁴⁾⁵⁾、特に担癌生体に対する手術侵襲は免疫能を低下せしめ、再発、転移促進につながる可能性がある。

手術侵襲による免疫能低下の発生機序としては、stress による cortisol 分泌の結果としての免疫抑

制⁶⁾、Munster⁷⁾の説くような homeostasis としての suppressor T 細胞の活性化、血清中免疫抑制因子の出現⁸⁾などの可能性が考えられるが決定的なものではなく、いろいろな因子が複雑に関係していると思われる。また、術前の担癌容量、手術時間、麻酔、輸血、化学療法などいろいろな要因も関与していることを考慮しなければならない。

今回のわれわれの臨床例における測定結果では、リンパ球数、PHA、ConA リンパ球幼若化反応、PPD と

Fig. 13 Changes in the peripheral blood level of lymphocyte before and after gastrectomy in patients with immunotherapy.

Peripheral blood level of lymphocyte

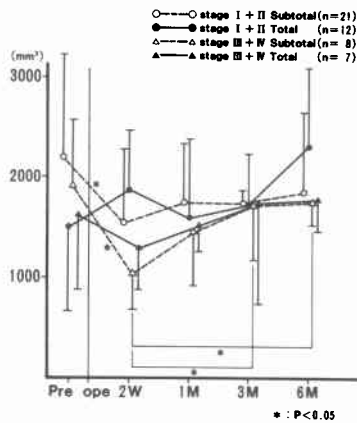
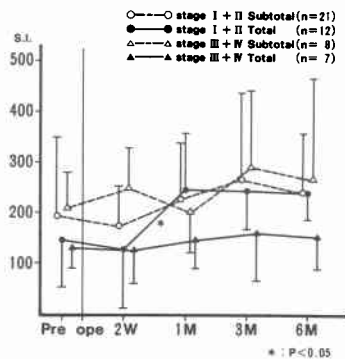


Fig. 14 Changes in the peripheral blood level of PHA induced lymphoblastogenesis before and after gastrectomy in patients with immunotherapy.

PHA induced lymphoblastogenesis (S.I.)

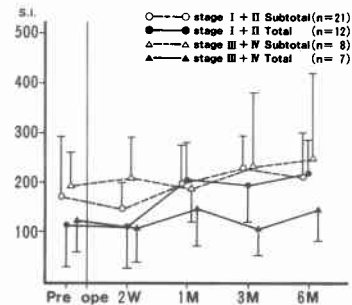


Su-PS 皮内反応は、術後早期の低下を示し、手術侵襲による影響を反映していると思われる細胞性免疫能低下が観察された。

Constantianら⁹⁾は、手術による免疫能の低下は血清中の免疫抑制物質に基づき、PHA 幼若化反応に影響するとし、竹腰¹⁰⁾は動物実験で、手術侵襲度が強いとPHA 幼若化反応が低下するとしており、一般には担癌時低下し、癌の進行度や予後と相関するとしている報告が多い^{11)~13)}。今回の結果でも、PHA, ConA リンパ球幼若化反応は、手術侵襲の少ないと思われる stage I+II 亜全摘群では全摘群と比べてほとんど低下しておらず、侵襲の大きさに関与するものと思われ

Fig. 15 Changes in the peripheral blood level of Con A induced lymphoblastogenesis before and after gastrectomy in patients with immunotherapy.

Con A induced lymphoblastogenesis (S.I.)



た。

OKT 4 細胞比と OKT4/OKT8 比は、術後 1 か月から 3 か月で低値を示し、特に侵襲の大きかった群で回復が遅れた。しかし OKT4 には helper T 細胞と inducer T 細胞、OKT8 には suppressor T 細胞と cytotoxic T 細胞が含まれるため詳細な検討には two color 解析での検討が必要である。そこで手術侵襲のより正確な検索を目的に術中、術直後、術後 3 日、2 週、1、3、6 か月とリンパ球サブセットの解析に two color を用いその測定を行った。その結果、術中、術直後より suppressor T 細胞 (CD11 (+) CD8 (+) 細胞比) が上昇し、suppressor inducer T 細胞 (CD4 (+)・2H4 (+) 細胞比) は低下したが、suppressor T 細胞が術後 3 日に低下すると同時に suppressor inducer T 細胞は上昇を認めた。峠ら¹⁴⁾は同様な術中術後のパラメーターの推移で、手術開始早期より、まず suppressor inducer T 細胞が増加し、その後 suppressor T 細胞が増加するとしている。われわれの結果はこれと異なった。今回の結果からは手術侵襲により術中から suppressor T 細胞が末梢血中に動員されるため suppressor inducer T 細胞は相対的に減少し、術後 3 日目には suppressor T 細胞が低値になるためその影響として inducer T 細胞が増加したと考えた。さらに suppressor inducer T 細胞は癌進行、侵襲の程度に応じて増加が認められており、術後の免疫抑制に大きく関与している指標と思われる。

Helper T 細胞 (CD4 (+) 2H4 (-) 細胞比) と cytotoxic T 細胞 (CD11 (-) CD8 (+) 細胞比) は術中、術直後と術式や進行度に応じて低下した。した

Fig. 16 Changes in Su-PS and PPD skin test before and after gastrectomy in patients with immunotherapy.

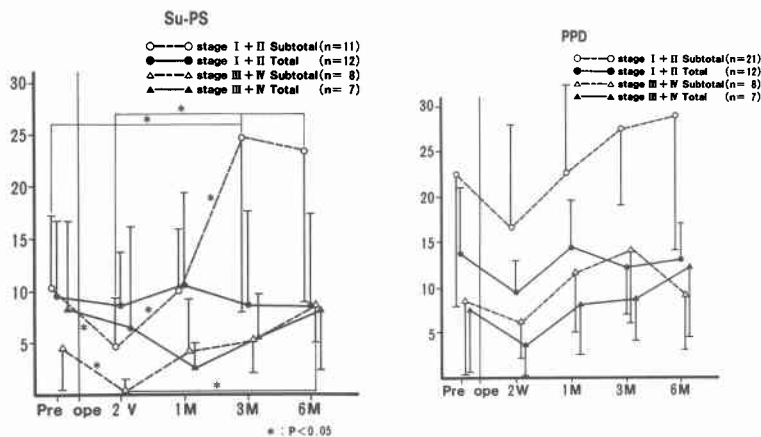
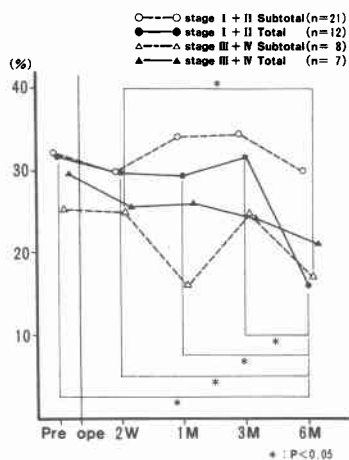


Fig. 17 Changes in the periferal blood level of CD4 (+) 2H4 (-) T cell before and after gastrectomy in patients with immunotherapy. CD4 (+) 2H4 (-) T cell (%)



がって上述の suppressor T 細胞の上昇と併せて考えると、手術侵襲によりすでに術中から細胞性免疫能低下が認められ、その回復は癌進行と侵襲の程度に応じて遷延するという結果が得られた。

NK subset と活性型 NK 細胞を表すパラメーターは術中、術直後と上昇したが、田中ら¹⁵⁾は NK 活性は術中より低下すると報告しており、この活性低下に対する代償として量的増加がみられた可能性もあるが、さらに検討を続けたい。

最近、教室では手術侵襲の軽減と再発予防の対策と

して、入院時より前述した regimen で OK432 を用いる非特異的免疫療法を施行し、術後も継続している。非ステロイド系抗炎症剤インドメサシン併用の理由は発熱予防のほか、プロスタグランジン合成阻害作用を有し、細胞性免疫能の低下を回復させる作用が明らかにされているためである¹⁶⁾。現在入院時に封筒法にて無作意に選択しているが、対象となる未施行群との対比は種々の背景因子の不一致からまだ無理と判断し、今回は施行群のパラメーターの推移を見ることにとどめた。

非特異的免疫療法併用群におけるパラメーターの推移では、術前よりの免疫療法にもかかわらず、2週に各パラメーターの低下を認め、術後早期の免疫能低下を抑えることはできなかった。しかし、免疫療法未施行群とは背景因子や免疫環境が同一でないため直接比較することはできないが、侵襲や進行度の軽い群では PHA, ConA リンパ球幼若化反応, PPD, Su-PS 皮内反応において、免疫療法の影響と思われる各パラメーターの術前値以上の上昇を認めた。

しかし侵襲や進行度の大きな症例に対しては今回の免疫療法はあまり効果がないようであった。手術侵襲よりの免疫能の回復には、術前もしくは術後早期よりの免疫療法が有効であるが、進行した症例に対する免疫能賦活も可能な、より有効な方法がこれからの課題といえよう。

文 献

1) 山村義孝, 紀藤 毅, 平井 孝ほか: 胃癌の進行度・治療法からみた年代別治療成績の検討. 日消外

- 会誌 22:1987—1994, 1989
- 2) 胃癌研究会編: 胃癌取り扱い規約, 改訂第11版, 金原出版, 東京, 1985
 - 3) Slade HD: Extraction of Cell-Wall Poly saccharide Antigen from Streptococci. J Bacteriol 90: 667—672, 1965
 - 4) Slade MS, Simmons RL, Younis E et al: Immunodepression after major surgery in normal patient. Surgery 78: 363—372, 1975
 - 5) Park SK, Brody II, Wallace HA et al: Immunosuppressive effect of surgery. Lancet 1: 53—55, 1971
 - 6) Monjan AA, Collector MI: Stress induced modulation of the immune response. Science 196: 307—308, 1977
 - 7) Munster AM: Post-traumatic immunosuppression is due to activation of suppressor T cells. Lancet 1: 1329, 1976
 - 8) 松田好史, 佐藤寿雄: 担癌宿主の免疫抑制酸性蛋白(IAP)と外科手術. 日外会誌 80: 1395—1398, 1979
 - 9) Constantian MB, Menzoian JO, Nimberg RB et al: Association of a circulatin immunosuppressive polypeptide with operative and accidental trauma. Ann Surg 185: 73—79, 1977
 - 10) 竹腰知治: 担癌生体における免疫抑制細胞を含む諸種免疫パラメーターの意義と手術侵襲による影響について. 岐阜大医紀 31: 163—202, 1983
 - 11) 吉川謙蔵, 下山正徳, 湊 啓輔ほか: 胃癌患者の免疫能, とくに免疫学的パラメーターの考察. 癌と化療 5: 967—971, 1978
 - 12) 三輪 昭, 折田薫三: リンパ球幼若化率による消化器癌患者術後病態の長期検索. 臨外 32: 891—896, 1977
 - 13) 河井敏幸, 草間良昌, 倉持恒雄ほか: 肺癌患者リンパ球と PHA, PWM の反応性. 癌の臨 26: 249—253, 1980
 - 14) 峠 哲哉, 家護谷泰秀, 山口佳之ほか: 手術侵襲と免疫抑制. 癌と化療 16: 1115—1121, 1989
 - 15) 田中紀章, 吉原久司, 小野 稔ほか: 手術侵襲のNK活性に及ぼす影響. 日外会誌 84: 203—210, 1983

Influence of Surgical Stress on the Immunological Activity in the Patients with Gastric Cancer and an Attempt on the Effect of the Early Recovery by the Pre-operative Immunotherapy

Hajime Kase, Kazuo Kobayashi, Ryoich Honda, Naohiro Washizawa, Yukihiro Satoh,
Shigeji Nagasawa, Kenzou Yanagida and Toshihumi Yoshio
The First Department of Surgery, Toho University School of Medicine

Peripheral blood lymphocytes (PBL number), T cell subsets (percentage), PHA- and Con A-induced lymphoblastogenesis and PPD, SU-PS skin tests were measured pre- and postoperatively in 51 patients with gastric cancer and were analyzed in 4 curative surgical groups divided according to the histological stages of cancer and the kind of operative procedure. On the basis of correlations among these parameters, the influence of surgical stress on immunological activity was determined. In many cases, PBL, PHA, Con A, PPD and SU-PS were depressed at PO2W and recovered at PO3M, and a decrease in OKT4 and a reduction in the OKT4/OKT8 ratio were also observed until PO3M, but these recoveries were delayed in the larger surgical groups and advanced stage groups (compared with those of the other groups). On the other hand, in the measurement of the T cell subset using two-color flow cytometry at the same time and during the operation in another 23 patients with gastric cancer, an increase in suppressor T cells (CD11 (+)·CD8 (+)), and decrease in helper T cells (CD4 (+)·2H4 (-)) and cytotoxic T cells (CD11 (-)·CD8 (+)) were already demonstrated about 2 hours after the beginning of the operation. Recently, we tried pre-operative immunotherapy using only OK432 in 48 patient with gastric cancer, in an attempt to obtain early recovery. But the planning of the treatment was inadequate to give a clear effect, and especially, in the more advanced cancer groups, the drug did not block the immunosuppression due to the operation. Therefore, more effective pre-operative immunotherapy is necessary for advanced gastric cancer and the large surgical stress groups.

Reprint requests: Hajime Kase First Department of Surgery, School of Medicine, Toho University
6-11-1 Omori Nishi, Ota-ku, Tokyo, 143 JAPAN