日消外会誌　27（10）：2203～2211，1994年

原　著

胃癌切除症例における末梢血，脾静脈血および脾臓のリンパ球サブセットの推移ならびにOK-432による術前免疫療法の効果に関する検討

岩手医科大学第1外科
高金明典　寺島雅典

手術侵襲による全身免疫能の低下および脾臓の免疫能に及ぼす影響について検索することを目的として，胃癌切除例48例に対し，術前，術中，術後末梢血および術中脾静脈血のリンパ球サブセットを測定した．末梢血では術前にstage IV症例でsuppressor T細胞が高値をとる傾向を認め，また術中脾静脈血ではn（＋）例でsuppressor T細胞が高値をとる傾向を認めた．さらにOK-432術前投与による免疫抑制の解除の可能性について検討する目的で胃癌切除例45例に対し無作為抽出によりOK-432術前・術後投与群（22例）と術後投与群（23例）に群分けし，術前，術中，術後末梢血，術中脾静脈血および術中採取した脾細胞のリンパ球サブセットを測定した．OK-432術前投与により術中末梢血，脾静脈血および脾細胞のNK細胞が高値をとった．しかし，OK-432術前投与による生存率への影響は認められなかった．

Key words: preoperative immunotherapy for gastric cancer, OK-432, lymphocyte subsets of peripheral venous blood, splenic venous blood and spleen

I. はじめに

癌治療における外科的手術療法により術中術後に免疫能低下がみられ，これが癌の増殖，進展に関与することが示唆されている．われわれも胃癌の周術期における各種免疫学的指標の変動を測定し，術中$CD4^+$細胞比率の低下や術後IAPの上昇，さらに術前免疫療法の有用性について報告してきた[1)~3)]．また，進行胃癌における脾臓のリンパ球は，免疫抑制的に作用していることが知られており[4)5)]，この術後全身免疫能の低下と脾臓の免疫能への関与について検索することを目的として，術前，術中，術後の末梢血中リンパ球（以下，PBLCと略記）サブセットの推移，および術中脾静脈血リンパ球(以下，SVLCと略記)，脾細胞リンパ球(以下，SLCと略記）サブセットをtwo color flow cytometryを用いて検討した．さらに，術前OK-432投与の有用性について検討する目的でprospective randomized studyを実施した．

＜1994年6月8日受理＞別刷請求先：高金　明典
〒020　盛岡市内丸19－1　岩手医科大学第1外科

II. 対象および方法

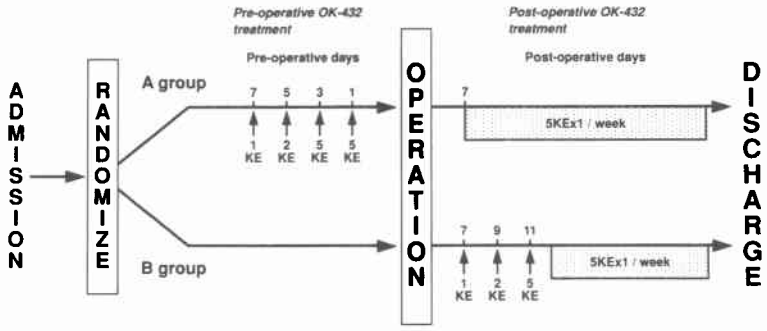
1．胃癌切除例におけるリンパ球サブセットの検討

1987年11月から1988年9月までに当科に入院した胃癌患者のうち，高度の合併症を有せず胃切除術を施行した48例（stage I 28例，stage II 5例，stage III 7例，stage IV 8例）を対象とした．これらの症例において術前，術中，術後1カ月の末梢血および術中脾静脈血（開腹後1～2時間）を採取し，Ficoll-conrayによる比重遠心法[6)]によりリンパ球を分離した．リンパ球サブセットはtwo color flow cytometryを用いて測定し，$CD4^+$・$2H4^-$細胞はhelper T細胞を，$CD4^+$・$2H4^+$細胞はsuppressor inducer T細胞を，$CD8^+$・$CD11^-$細胞はcytotoxic T細胞を，$CD^{8+}CD11^+$細胞はsuppressor T細胞を，$CD16^+$・$Leu7^-$はNK細胞を認識するものとした．

2．OK-432投与による術前免疫療法の検討

1988年10月から1992年6月までに，当科に入院した胃癌患者のうち，高度の合併症を有しない80歳以下の胃切除例45例を対象とした．入院時封筒法による無作為抽出によりOK-432術前，術後投与群（A群）22例，OK-432術後投与群（B群）23例に群分けした．A群は

Fig. 1　Treatments schedules with the pre- and postoperative OK-432 administration group (A) and the postoperative OK-432 administration group (B).



術前，7，5，3，1日に，それぞれOK-432を1KE，2KE，5KE，5KEずつ皮内投与した．術後は7病日より5KE/週で退院時まで投与した．B群は術後7，9，11病日にそれぞれ1KE，2KE，5KE，以後5KE/週で退院時まで皮内投与した(**Fig. 1**)．両群において，研究1と同様に術前(OK-432投与前)，術中，術後にPBLCおよびSVLCのサブセットについて検討した．さらに，本研究では全身麻酔下にて開腹後1～2時間に脾臓を幅約1.5cmのくさび状に切除し（脾摘例でも同様に施行)，SLCのサブセットについても検討した．すなわち，phosphate buffered saline(以下，PBSと略記)を5ml入れたガラスシャーレ内で採取した脾臓を細切し，200Gワイヤーメッシュにて濾過し，PBSにて3回洗浄後PRMI1640培地に浮遊させた．リンパ球サブセットの測定は末梢血と同様の方法で行った．なお，脾細胞を採取するにあたり，術前に患者本人および家族への十分な説明を行い，承諾を得たうえで脾細胞を採取した．また，術中脾細胞採取による出血などの合併症は認めなかった．

3．統計解析

2群間で有意差の株定にはStudent t-testを，背景因子の検定にはχ^2 testを，また生存率の算出はKaplan-Meier法を，生存率の検定はgeneralized Wilcoxon法およびlogrank法を用いた（personal computer：PC-9801，software：東京大学医学部コンピュータ医療研究会編，臨床統計解析のためのソフトウエアFISHER)．

III．結　　果

1．stage別の術前末梢血リンパ球サブセットの検討

術前末梢血において，helper T細胞はstage IIIにて高値をとる傾向を認めた（p=0.0941)．suppressor inducer T細胞は逆にstage IIIで低値であった．cytotoxic T細胞，NK細胞は各stage間で差を認めなかったが，suppressor T細胞はstage I，II，IIIに比べ，stage IVで高値をとる傾向を認めた（**Fig. 2**)．

2．組織学的リンパ節転移の有無による各リンパ球サブセットの推移

術前，術中，術後のPBLCおよびSVLCのサブセットについて組織学的リンパ節転移陽性（以下，n（+）と略記）例と陰性（以下，n（−）と略記）例に分けて検討した．

PBLCでは，helper T細胞は，術前にn（+）例がn（−）例より高値を示したが有意な差は認めなかった．n（+）例では術前より術中に低値を示した（p=0.0908)．術後は両群とも術前置より高値であった．cytotoxic T細胞はn（+）例，n（−）例とも術前，術中，術後に大きな変動を示さなかった．NK細胞は，n(+)例では術前，術中，術後に変化が認められないのに対し，n(−)例では術中および術後に高値をとる傾向を認めた（p=0.0762)．suppressorinducer T細胞はn（−）例，n（+）例とも同様の変動を示し，術前から術後にかけて減少した．suppressor T細胞は，n（+）例では術中に高値をとる傾向を認め（p=0.0664)，術後に低下したが，n（−）例では術前，術中，術後に大きな変動を示さなかった．

SVLCのサブセットは術中PBLCのサブセットと同様の傾向を示しており，suppressor T細胞においてn(−)例よりn(+)例で高値をとる傾向を認めた(p=0.0727）が，他のサブセットでは特に両群間で差を認めなかった（**Fig. 3**)．

3．OK-432による術前免疫療法の検討

1）背景因子の比較

両群間の背景因子として，性別，年齢，P，H，N因

Fig. 2 Comparison of preoperative lymphocyte subsets of peripheral blood according to each stage.

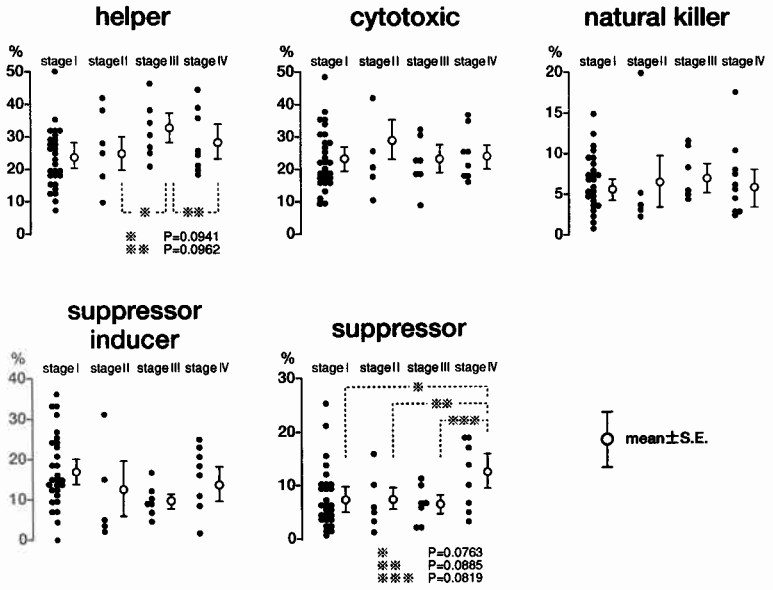
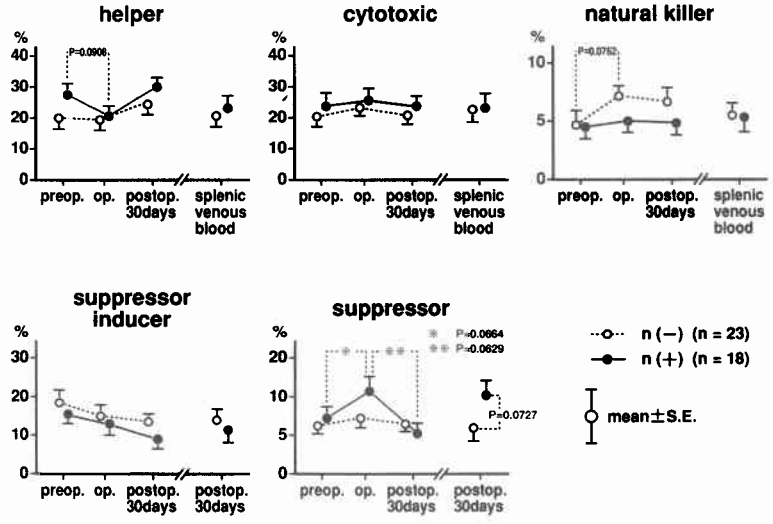


Fig. 3 Comparison of the changes in lymphocyte subsets of peripheral blood from preoperation to the 30th postoperative day and splenic venous blood in operation according to histological lymph node metastasis in gastric cancer. ○：group of negative histological lymph node metastasis ●：group of positive histological lymph node metastasis



子，組織型，深達度，術式，脾摘の有無，根治度，出血量を比較したが有意な差を認めなかった（**Table 1**）．なお，背景因子の比較は胃癌取扱い規約[7]に準じて検討した．

2）PBLC サブセットの検討

術前 PBLC サブセットは，A 群と B 群の間で有意な差を認めなかった．helper T 細胞は，両群とも術中に一過性に低下し，術中の低下は A 群より B 群にお

Table 1 Comparison of clinicopathological backgrounds between A group (pre and postoperative OK-432 administation) and B group (postoperative OK-432 administration)

		A group	B group	χ^2 test
Sex	male	19	17	NS*
	female	3	6	
Age		39y～76y	40y～78y	NS
	average	59.7y	59.3y	
Depth of invasion	m	6	6	NS
	sm	6	5	
	pm	4	5	
	ssα	1	1	
	ssβ	1	1	
	ssγ	3	3	
	se	1	1	
	si	0	1	
H factor	H0	21	21	NS
	H1	0	0	
	H2	0	1	
	H3	1	1	
P factor	P0	21	20	NS
	P1	0	1	
	P2	0	1	
	P3	1	1	
lymph node metastasis	n0	15	13	NS
	n1	3	2	
	n2	2	5	
	n3	0	1	
	n4	2	2	
stage	I	15	12	NS
	II	2	3	
	III	2	4	
	IV	3	4	
Histological type	pap	2	1	NS
	tub1	5	5	
	tub2	5	5	
	por	6	7	
	muc	1	1	
	sig	3	4	
Gastrectomy	distal	18	18	NS
	total	4	5	
Curability	absolute cura.	17	16	NS
	relativa cura.	1	1	
	relative non cura.	0	1	
	absolute non cura.	4	5	
Splenectomy	(+)	4	5	NS
	(−)	18	18	
Blood loss	average	546.3 ml	581.9 ml	NS

*NS : not significant

Fig. 4 Comparison of the changes in lymphocyte subsets of peripheral blood according to preoperative OK-432 administration. ○: A group (pre- and postoperative OK-432 administration) ●: B group (postoperative OK-432 administration)

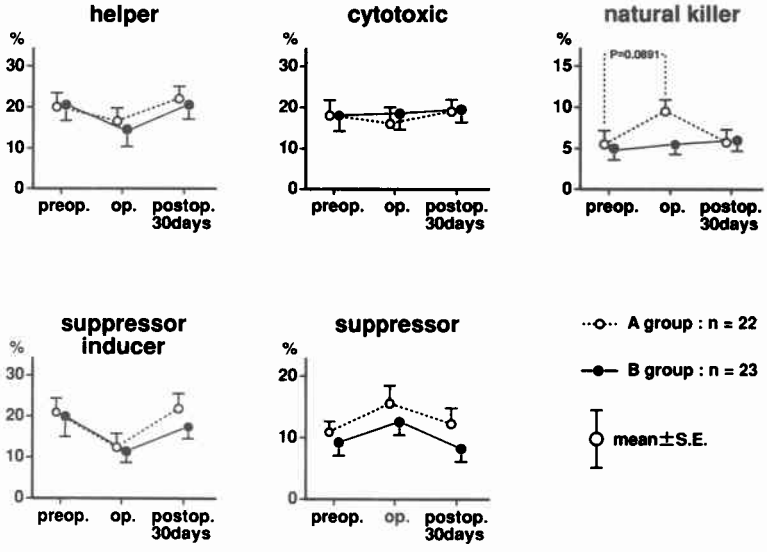


Fig. 5 Comparison of lymphocyte subsets of splenic venous blood according to preoperative OK-432 administration. ○：A group (pre-and postoperative OK-432 administration) ●：B group (postoperative OK-432 administration)

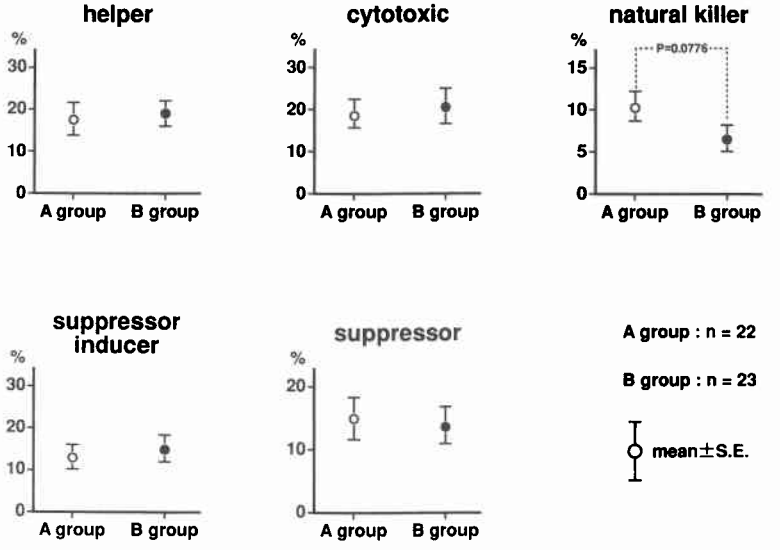
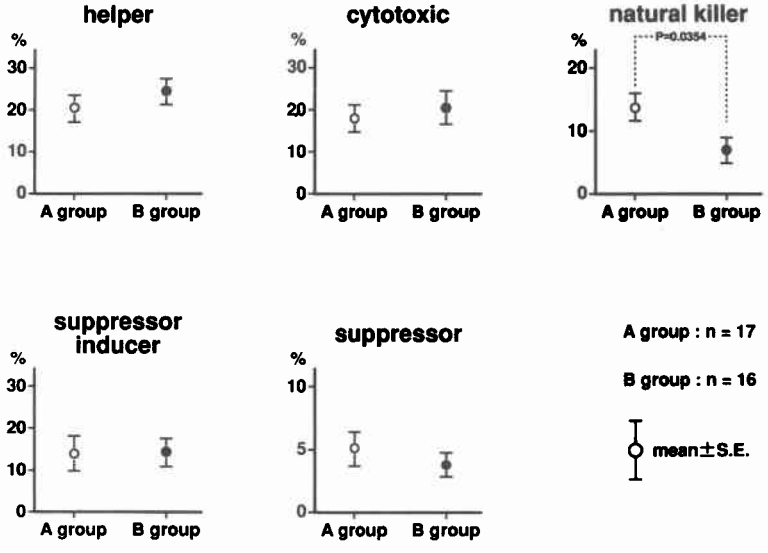


Fig. 6 Comparison of lymphocyte subsets of spleen according to preoperative OK-432 administration. ○：A group (pre-and postoperative OK-432 administration) ●： B group (postoperative OK-432 administration)

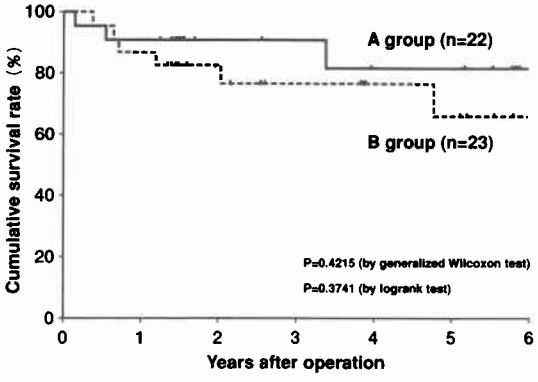


いて大きかったが，有意な差を認めなかった．cytotoxic T 細胞は両群とも術前，術中，術後を通してほぼ変動を認めなかった．NK 細胞は，B 群では術前から術後にかけて変動を認めなかったが，A 群では術中に高値を示した（p=0.0891）．suppressor inducer T 細胞は両群とも術中に一過性に低値をとり，術後は術前値と同程度まで回復した．suppressor T 細胞は両群とも術中に増加し，術後はほぼ術前値に回復した（**Fig. 4**）．

3）SVLC サブセットの検討

SVLC のサブセットは術中末梢血と同様の傾向を示し，helper T 細胞，cytotoxic T 細胞，suppressor inducer T 細胞，suppressor T 細胞では，両群間に有

Fig. 7 Disease free survival according to the preoperative OK-432 administration. A group: pre- and postoperative OK-432 administration, B group: postoperative OK-432 administration.



意の差は認めなかったが，NK細胞ではA群が高値をとる傾向を示した（p＝0.0776）（**Fig.** 5）.

4）SLCサブセットの検討

SLCサブセットはA群17例，B群16例において検討が可能であった．両群について前述と同様に背景因子を比較したが，有意な差は認めなかった．脾静脈血と同様にhelper T細胞，cytotoxic T細胞，suppressor inducer T細胞，suppressor T細胞では両群間で差を認めなかったが，NK細胞はA群において有意に高値を示した（p＝0.0354）（**Fig. 6**）.

5）生存率の比較

A群，B群において無病生存期間について検討したが，5年生存率はA群81.1%，B群65.6%で，平均無病性存期間はA群62.6±4.9月，B群63.3±6.4月であり，generalized Wilcoxon testおよびlogrank testにより，両群間に有意な差は認めなかった（**Fig. 7**）.

IV. 考　　察

外科的手術侵襲による宿主の免疫能低下は術中，術後における癌細胞の転移，増殖を促進する可能性が示唆されており[8)9)]，特にTリンパ球を中心とした細胞性免疫能の低下が注目されている[1)10)~13)]．今回我々は，このsurgical immunosuppressionの解析と術前免疫療法による術中，術後免疫能低下の抑制に関して，PBLC，SVLCおよびSLCサブセットにより検討した．

担癌状態における生体の免疫応答は，cytotoxic T細胞，NK細胞，lymphokineactivated killer細胞，granulocyte，activated macrophageなどの抗腫瘍性エフェクター細胞や，各種サイトカインの関与などの防御機構が複雑に働いている．癌の進行はこの防御機構を破り，さらに負の免疫能を高め，進展，増殖するものと考えられる．今回の検討では，末梢血中の細胞性免疫能において，stage IIはstage Iに比べ，helperT細胞の増加，suppressor inducer T細胞の減少傾向にあり，stage IIIではさらにこの傾向が強くなっている．これは，stage IからIIでは細胞性免疫において正の免疫応答が働いている状態と推測できる．しかし癌の進行に従い血清中に免疫抑制性の蛋白質や抗原抗体複合体が増加しており[14)15)]，液性免疫は負の免疫応答が進んでいるものと考えられる．したがってstage IからIIIにおいては，細胞性免疫と液性免疫が複雑な関連を持って，担癌状態における生体の免疫環境を形成しているものと思われる．stage IVでは，suppressor T細胞が他のstageに比べ高値をとる傾向にあり，免疫抑制が促進されている状態と考える．この免疫抑制は癌細胞自体か，宿主が産生する血清中のいずれかの免疫抑制因子がsuppressor T細胞を誘導し，suppressor T細胞を介したhelper T細胞の抑制が生じる[16)]．これによりIL-2，IFN-γの産生が抑制され，cytotoxic T細胞やNK細胞などの誘導や活性化が阻害されることにより，細胞性免疫能の低下が生じると考えられる．また，helper T細胞の抑制によりIL-4，5，6の産生が抑制され，B細胞の分化，増殖が障害されることが推測される．

癌の進行程度による免疫応答の違いが，手術侵襲によりさらに免疫抑制の方向へ進むと考えられる．そこで組織学的リンパ節転移の有無による術中，術後PBLCサブセットの推移を検討すると，n(−)例では術中のhelper T細胞の減少と，suppressor T細胞の増加傾向は認めるものの，n(＋)例に比べて術中，術後の変動は小さかった．これは進行胃癌ほど手術侵襲による免疫抑制の影響を受けやすいことを示唆するものである．また，加瀬ら[17)]はstageに関係なく，術中，術後とNK stbsetと活性型NK細胞を表すパラメーターが上昇すると報告しているが，我々の検討ではn(−)例でNK細胞が術前に比べ術中，術後に高値を示し，n(＋)例ではほぼ変動を認めなかった．手術侵襲によるNK細胞の増加に関する機序は不明な点が多く今後さらに検討が必要と思われる．

また，術後30日目のPBLCサブセットは術前値まで回復しており，手術例襲による影響はすでに改善されていた．したがって，術後の手術侵襲による免疫能に対する影響を検討するには，さらに術後早期のPBLC

サブセットの測定が必要であったと思われた．

今回の検討ではSVLCサブセットにおいて，n(+)例でsuppressor T細胞が高値を示し，進行胃癌において脾臓は免疫抑制的に作用している可能性が示唆された．担癌患者における脾臓の役割はいまだ明解ではないが，癌の進行程度や担癌量により正，負の両面性を持った免疫応答を示し[18]，担癌中期では免疫増強的に働き，担癌末期は免疫抑制的に働く[19]と言われている．峠ら[20)21]は，癌進行に伴い脾臓はsuppressor T前駆細胞の成熟，分化の場を担い，成熟化したsuppressor T細胞が脾静脈に流出することを明らかにしている．また，進行胃癌における脾摘の功罪についても，脾門部リンパ節郭清のために脾摘を行っているのが現状であるが，脾温存群の予後が良好という報告があり[22)23]，さらに免疫学的所見地から術後免疫療法を行うに当たり脾臓の存在が重要であることも示唆されている[24)25]．以上より，担癌中期における脾摘に関しては，術後免疫化学療法と根治性を考慮に入れ施行されるべきものと思われた．

このようなsurgical immnosuppressionおよび脾臓の免疫能に対して，術前免疫療法（OK-432）による細胞性免疫能低下の抑制に関する検討を行ったところ，術前OK-432投与の有無にかかわらずPBLCのsuppressor T細胞，cytotoxic T細胞，helper T細胞，suppressor inducer T細胞は，術前，術中，術後に同様の変動を示し，術中，術後免疫能低下の抑制傾向は認めなかった．しかし，NK細胞は術前OK-432投与により術中高値をとった．また，SVLCやSLCでも術前OK-432投与群でNK細胞が高値をとった．以上よりOK-432投与による術前免疫療法は，担癌生体において非特異的抗腫瘍性エフェクター細胞の誘導を促進することが示唆された．今回の検討では，PBLCを術後30日目に測定したが，手術による影響をみるには術後さらに早い時期のデータを測定する必要があり，今後この点についても検討する予定である．

先天的にNK活性の乏しいベージュマウスにおいて，腫瘍の増殖，転移が促進されることが明らかにされており[26]，手術侵襲による術中，術後のNK細胞の減少および抑制は，術後の免疫環境において重要な位置を占めていると考えられる．OK-432の宿主介在性効果の1つとして，NK細胞の活性増殖効果があり[27]，ヒトのNK細胞はOK-432により活性化され，自己腫瘍細胞を傷害することが報告されている[28]．このことは，今回の研究におけるOK-432術前投与の有用性を示す根拠となるものと考える．また，術前OK-432投与によるSLCのNK細胞の増加は，target organとしての脾臓の重要性を示すものであり，癌治療における脾臓の役割を考える上で重要な結果であると思われた．

今回の脾細胞の検討では，術中採取した脾臓は主に赤脾臓であり，脾臓の免疫応答の主要な場である白脾臓は採取していない．したがって，髄索，静脈洞に流入してきたリンパ球を主に採取しており，これにより術中脾静脈血と脾細胞のリンパ球サブセットが同様の結果を示したものと考えられる．T細胞領域のリンパ球を選択的に駆出させるには，脾動脈を介した高速灌流や脾動脈の結紮による方法がある[29]が，胃癌の進行度および占居部位などにより脾臓全摘が不可能な症例が大部分であり，またOK-432による術後免疫療法を施行するにあたり脾臓温存の必要性から，今回の方法を用いたものである．

生存率ではB群はA群に比べ5年生存率が低かったが，肝転移例および腹膜播種性転移例が多かったためであり，術前OK-432投与は生存率に影響を与えなかった．今後術前OK-432投与にあたり何らかの免疫学的指標の検索によりOK-432に対してeffectiveな症例を選択することが可能になれば，生存期間の延長につながる可能性があると思われる．

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜った斉藤和好教授ならびに多大な御助言，御指導を戴いた佐藤雅夫博士に深謝いたします．

文　献

1) 寺島雅典，貝塚広史，佐藤雅夫ほか：胃癌切除症例の各種免疫学的指標の推移および免疫療法による変動．日消外会誌　20：2305—2312，1987
2) 高金明典，寺島雅典，佐藤雅夫ほか：PSK投与による胃癌患者末症血中の各種免疫学的指標の変動．Biother　5：766—768，1991
3) 寺島雅典，高金明典，佐藤雅夫ほか：胃癌手術侵襲による免疫能の低下および術前免疫療法に関する検討．Biother7：744—746，1993
4) 貝塚広史：胃癌における脾臓のリンパ球の免疫組織化学的研究．日網内系会誌　27：159—167，1987
5) 峠　哲哉，亀田　彰，黒井克昌ほか：胃癌患者の脾におけるサプレッサー細胞誘導機序の解析と脾摘の意義．Oncologia　14：146—151，1985
6) Böyum A：Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J Lab Invest 21(Suppl 97)：77—89，1968
7) 胃癌研究会編：胃癌取扱規約．改訂第11版．金原出版，東京，1985
8) Lundy J, Ford CM：Surgery, trauma and

immune suppression. Evolving the mechanism. Ann Surg 197：434-438, 1983
9) Eggermont AMN, Steller EP, Sugarbaker PH: Laparotomy enhances intraperitoneal tumor growth and abrogates the antitumor effects of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. Surgery 102：71—78, 1987
10) Faist E, Kupper TS, Backer CC et al: Depression of cellular immunity after major injury. Arch Surg 121：1000—1005, 1986
11) 日伝晶夫，長田裕典，小林元壮ほか：手術侵襲の細胞性免疫能に及ぼす影響．日外会誌 91：1178—1181, 1990
12) Feodorczyk-Injeyan JA, McRitchie DI, Petters WJ et al: Expression and secretion of IL-2 receptor in trauma patients. Ann Surg 212—208, 1990
13) 折田薫三：免疫の基礎・総論—外科の立場から—．輸液栄ジャーナル 11：937—940, 1989
14) 柳川悦朗，峠　哲哉，服部隆雄：がん患者における血清抑制因子．Oncologia 15：105—112, 1985
15) 折田薫三，阪上賢一，宮崎雅史ほか：プラスマフェレーシス，外科領域における応用—進行癌．外科治療 55：174—182, 1986
16) McRitchie DI, Girotti MJ, Rotstein DD et al: Impaired antibody production in blunt trauma. Arch Surg 125：91—96, 1990
17) 加瀬　肇，小林一雄，本田亮一ほか：胃癌患者における手術侵襲の免疫学的影響とその対策．日消外会誌 24：1938—1946, 1991
18) 折田薫三：脾摘の腫瘍免疫学的意義．消外 6：1837—1843, 1983
19) 三輪恕昭：胃癌の補助免疫化学療法．日消外会誌 18：1951—1960, 1985
20) Toge T, Hamamoto S, Itagaki E et al: Concanavalin-A induced and spontaneous suppression cell activities in peripheral blood and spleen cells from gastric cancer patients. Cancer 52：1624—1631, 1983
21) 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
22) 杉町圭蔵，児玉好史，井口　潔ほか：胃癌手術における予防的脾摘術の意義について．日外会誌 81：731—735, 1980
23) 吉野肇一，浅沼史樹，春山克郎ほか：脾摘の問題点—胃癌術後の非特異的な免疫パラメーターの変動と生存率を中心にして—．日外会誌 84：947—951, 1983
24) 三輪恕昭，小島啓世，小林　努ほか：癌治療における脾摘の腫瘍免疫学的意義．日外会誌 84：970—973, 1983
25) 内藤和世，田中承男，山岸久一ほか：胃癌手術における脾摘の免疫学的意義とその問題点．日消外会誌 17：2156—2162, 1984
26) Talmage JE, Meyers KM, Prieur DJ et al: Role of natural killer cells in tumor growth and metastsis: C57/BL/6 normal and beige mice. J Natl Cancer Inst 65：929—934, 1980
27) Oshima K, Kano S, Takaku F et al: Augmentation of mouse natural killer cell activity by a streptococcal preparation, OK-432. J Natl Cancer Inst 65：1267—1269, 1980
28) Uchida A, Mickshe M: Lysis of fresh human tumor cells by autologous peripheral blood lymphocytes and pleural effusion lymphocytes activated by OK-432. J Natl Cancer Inst 71：673—680, 1983
29) Koshikawa T, Asai J, Iijima S: Cellular and humoral dynamics in the periarterial lymphatic sheath of rat spleens. Acta Pathol Jpn 34：1301—1311, 1984

Studies on the Changes in Lymphocytes Subsets of Peripheral Blood, Splenic Venous Blood and Spleen and on the Effects of Preoperative OK-432 Administration in Patients with Resectable Gastric Cancer

Akinori Takagane and Masanori Terashima
Department of Surgery I, Iwate Medical University, School of Medicine

To evaluate the systemic immunosuppression caused by surgical stress and the influence of splenic immunological response on systemic immunity, we studied changes in the lymphocyte subsets of peripheral venous blood and splenic venous blood before and after gastrectomy in 48 gastric cancer patients using two color flow cytometry. In preoperative peripheral venous blood, the population of suppressor T cells increased in patients with stage IV disease. The increase in suppressor T cells was also observed in

splenic venous blood in patients with lymph node metastasis. We further studied the effects of preoperative OK-432 administration in order to determine the possibility of preventing surgical immunosuppression. A total of 45 patients with resectable gastric cancer were entered in this study and randomized to two treatment arms: pre- and postoperative OK-432 administration (group A), and postoperative OK-432 administration (group B). Lymphocyte subsets of peripheral venous blood before and after gastrectomy, splenic venous blood and splenic lymphocytes were measured by two color flow cytometry. Increases in the population of NK cells were observed in inter- and post-operative peripheral venous blood in group A. Furthermore, NK cell populations in splenic venous blood and splenic lymphocytes were significantly higher in group A than in group B. However, there were no differences in disease free survival between the two groups.

Reprint requests: Akinori Takagane Department of Surgery I, Iwate Medical University, School of Medicine
19-1 Uchimaru, Morioka, 020 JAPAN