日消外会誌　29（4）：863～867，1996年

特集2

手術侵襲による血行性転移促進についての検討

順天堂大学第1外科学教室
渡邊　英章　　岡原　仁志　　東山　明憲
菅野　雅彦　　西村　和彦　　榊原　　宣

手術侵襲が血行性転移を促進するか，促進するならばそれを抑制する方法はないかを実験的，臨床的に検討した．実験的検討には，マウスの尾静脈より腫瘍細胞を移植する肺転移モデルを用いた(n＝5)．開腹手術侵襲後，転移結節数は増加したが，OK432を術前経口投与すると，結節数は増加しなかった．BRMの術前投与が手術侵襲による転移促進を抑制したと考えられた．そこで，胃癌手術例146例を対象とし臨床的検討を行った．Con A刺激リンパ球幼若化能はStage III，IVで，NK活性はStageにかかわらず術後低下していた．これに対して，OK 432 5KEを術前，5回経口投与した群（n＝61）のリンパ球幼若化能はStage III，IVで，NK活性はStage IIIで，術後の低下が抑制された．これらのことから血行性転移の抑制に対してNK細胞は大きな役割を演じており，手術侵襲によるその機能低下が，術後の転移促進の原因の1つと考えられた．BRMの術前投与は機能低下を抑制し，転移を抑制する可能性が示された．

Key words： hematogenous metastasis，surgical stress，NK activity，BRM

緒　言

消化器癌の治療において，外科手術が第1選択となる場合は多く，他臓器転移がなければ，肉眼的には腫瘍の根治的な切除が期待できる．その一方で，外科手術後，急激に転移巣が出現したように感じられることが臨床的にしばしば経験される[1]．

そこで，外科手術侵襲が転移を促進するのか，促進するならばそれを抑制する方法はないかを検討した．

方　法

Ⅰ．実験的検討

1．動物と腫瘍

6週齢の雌性C57/BL6マウス（日本SLC）と教室で継代されていたマウスメラノーマB16-BL6細胞を用いた．

2．実験モデルの作成

マウスにネンブタール60mg/kgを腹腔内投与し，腹部正中切開にて開腹した．創部から腸管を腹腔外に露出し，ガーゼで被覆，適時生理食塩水にて湿潤させ，2時間後に腸管を腹腔内に還納，閉腹した．術後24時間目に，生理食塩水に浮遊したB16-BL6細胞5×10^5個をマウスに尾静脈から移植した．

対照として，開腹手術を加えないマウスに同じように腫瘍細胞を移植した．

約2週間後に，マウスを犠牲死させ，肺表面の転移結節数を数えて，転移の評価を行った．

3．BRM投与

OK432 1KEを1mlの生理食塩水に溶解し，強制的に1日おきに計5回経口投与した．最終投与から3日以内に開腹手術を行い，腫瘍細胞を移植，同じように転移の評価を行った．

Ⅱ．臨床的検討

1．対象

順天堂大学第1外科で胃亜全摘術が行われた胃癌146症例を対象とした．全例75歳以下で，術前後に重篤な併存疾患，合併症はなかった．

2．術前BRM投与

胃癌61症例に術前，水道水10mlに溶解したOK432 5KEを，早朝空腹時，1日おきに5回経口投与した．最終投与から3日以内に手術が行われた．

対照として健常人10人にOK432を同じように投与した．

＊第46回日消外会総会シンポ1・消化器癌転移の機序と対策
＜1995年11月15日受理＞別刷請求先：渡邊　英章
〒113　東京都文京区本郷2－1－1　順天堂大学医学部第1外科

3．検討項目

Concanavalin-A（以下，Con A と略記）刺激リンパ球幼若化能は^{3}H-thymidine 取り込み能によって計測し，以下のように stimulation index（以下，SI と略記）で表現した．

SI＝刺激時の取り込み能/非刺激時の取り込み能．

また，natural killer（以下，NK と略記）活性を^{51}Cr 遊離法にて計測した．

それぞれの項目について，BRM 非投与群は，術前，第0病日（術後24時間以内），第7病日に，BRM 投与群は OK432投与前，投与終了後1日以内，第0病日（術後24時間以内），第7病日に測定した．

以上を，胃癌の Stage 別に術前後の変動について検討した．胃癌の Stage 分類は胃癌取扱い規約第11版によった．

結　果

1．実験的検討

開腹手術侵襲後にメラノーマを移植した群の転移結節数は64.7±8.8で，対照である開腹手術を加えずに移植した群の25.3±5.8に比べて，有意に転移結節数が多かった．

また，OK432を投与して開腹手術をした群の転移結節数は29.8±7.7であった．

すなわち，手術侵襲によって転移結節数は有意に増加し，OK432を術前投与するとその増加は認められなかった（**Table 1**）．

2．臨床的検討

1）Con A リンパ球刺激幼若化能

術前の Con A 刺激リンパ球幼若化能は Stage I から III まで，Stage による有意差がなかったが，Stage IV で低い傾向が認められた．

Stage III，IV の術後第7病日目は，術前値に比べ，有意に低下していた（$p<0.05$）（**Fig. 1**）．

Table 1　Number of pulmonary metastases in murine experimental model (n=5)

Group	Number of metastatic colonies
A	25.3±5.8
B	64.7±8.8
C	29.8±7.7

A: control (without surgery), B: with surgery, C: BRM administration with surgery.
A: B; $<p<0.05$ (Student-t test),
B: C; $p<0.05$.

Fig. 1　Con A-induced lymphocyte blastogenesis in gastric cancer patiens (n=146).
□：PRE (before surgery), ▨：DO (within 24 h after surgery), ■：D7 (7 days after surgery)
I：Stage I, II：Stage II, III：Stage III, IV：Stage IV. according to The general rule for gastric cancer study (the 11th edition), Japanese Research Society for Gastric cancer.

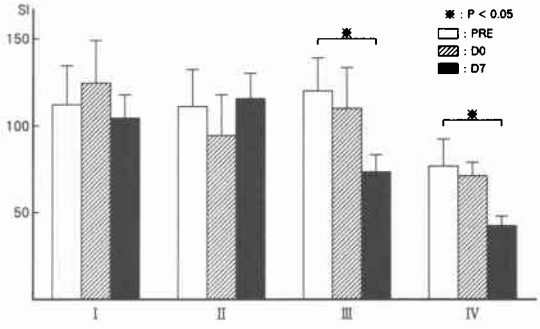
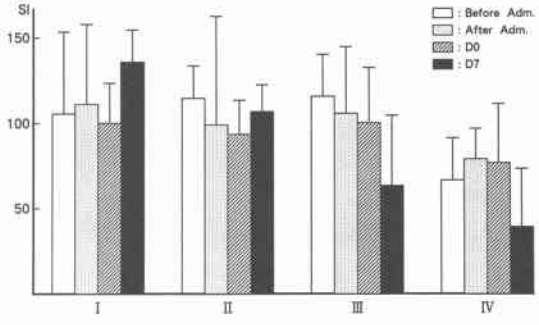


Fig. 2　Effect of preoperative BRM administration on Con A-induced lymphocyte blastogenesis in gastric cancer patients (n=61).
□：Before Adm. (before administration), ▩：After Adm. (1 day after administration), ▨：D0 (within 24 h after surgery), ■：D7：（7 days after surgery)
I：stage I, II：Stage II, III：Stage III, IV：Stage IV. according to The general rule for gastric cancer study (the 11th edition), Japanese Research Society for Gastric cancer.



これに対して，Stage III，IV の BRM を術前投与した群は，術後第7病日目に低下の傾向が認められたが，術前値との間に有意差はなかった（**Fig. 2**）．

2）NK 活性

NK 活性の術前値は，Stage が進むにつれて低下する傾向が認められた．術後第0病日目からいずれの Stage においても有意に低下，7病日目にはさらに低

Fig. 3 NK activity in gastric cancer patients (n=146).
□: PRE (before surgery), ▨: D0 (within 24 h after surgery), ■: D7 (7 days after surgery)
I: Stage I, II: Stage II, III: Stage III, IV: Stage IV. according to The general rule for gastric cancer study (the 11th edition), Japanese Research Society for Gastric cancer.

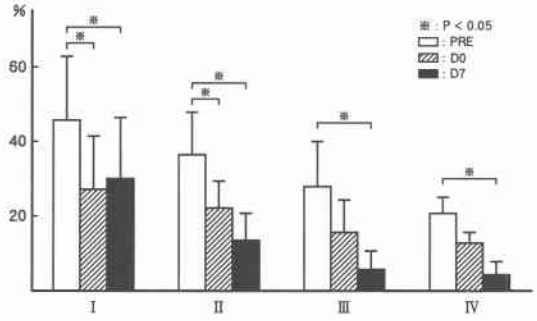
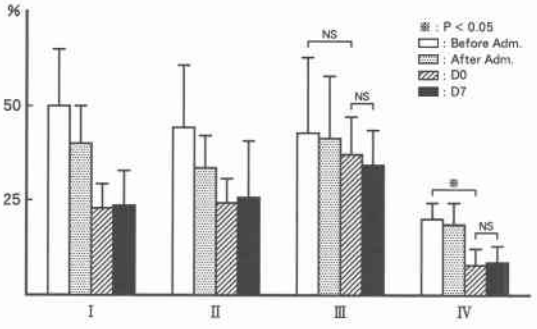


Fig. 4 Effect of preoperative BRM administration on NK activity in gastric cancer patients (n=61).
□: Before Adm. (before administration), ▩: After Adm. (1 day after administration), ▨: D0 (within 24 h after sugery), ■: D7 (7 days after sugery)
I: Stage I, II: Stage II, III: Stage III, IV: Stage IV. according to The general rule for gastric cancer study (the 11th edition), Japanese Research Society for Gastric cancer.

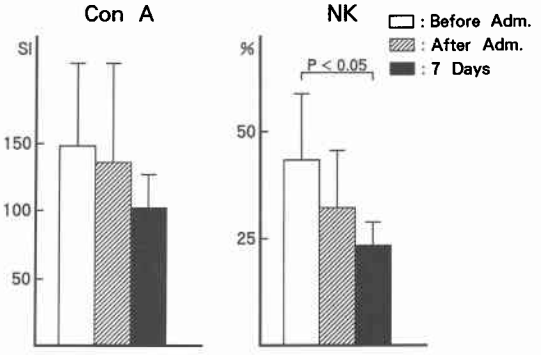


下した（**Fig. 3**）.

Stage I, II の BRM 術前投与群は，術後第0病日目，第7病日目に術前に比べて低下する傾向が認められた．これに対して Stage III では，術後の低下は認められなかった．Stage IV では，術後第0病日目に有意に低下，第7病日目もほぼ同じ程度の低下が認められた（**Fig. 4**）.

なお，OK432を投与した全胃癌例において消化器症状，そのほかの副作用は全く認められなかった．

Fig. 5 Influence of oral BRM administration on normal healthy donors (n=10).
□: Before Adm. (before administration), ▨: After Adm. (1 day after administration), ■: 7 Days (7 days after administration)
I: Stage I, II: Stage II, III: Stage III, IV: Stage IV. according to The general rule for gastric cancer study (the 11th edition), Japanese Research Society for Gastric cancer.



3. BRM 投与健常人の免疫能

Con A 刺激リンパ球幼若化能は有意な変動を示さなかったが，NK 活性は OK432服用終了後第7日目に有意に低下した（**Fig. 5**）.

なお，OK432を服用した健常人10名全員に，副作用は全く認められなかった．

考　察

消化器癌の手術後，新たな転移巣が急激に出現したように感じられることが臨床上しばしば経験される[1].

この転移の制御は消化器外科医にとって非常に大きな問題になっている[2].

さて，転移巣が形成されるまでには，主病巣から遊離した癌細胞が，脈管内を流れていく過程，遠隔臓器の血管に着床してから増殖する過程において宿主免疫担当細胞に処理されるかどうかということが大きな問題であると考えられる．もし，手術侵襲が宿主免疫能を低下させるのならば，これらの過程において癌細胞が処理されずに生き残る可能性が高くなると考えられる．

そこで，外科手術の宿主免疫能に及ぼす影響，ならびにそれに対する対策を検討しようとした．

まず，手術侵襲によって転移が促進されるかどうかをマウス肺転移モデルを用いて実験的に検討した．

Majima ら[3]は，外科手術後の転移の促進は，手術の物理的操作が癌細胞を脈管内に遊離させるためであると報告した．そこで，手術侵襲が宿主免疫能に与える影響と転移との関係を検討するために，開腹手術後に腫瘍細胞を移植するモデルを用いた．

開腹手術侵襲を加えたマウスに腫瘍を移植した場合の肺転移結節数は，無処置マウスに移植した場合よりも有意に多かった．すなわち，手術侵襲が転移を促進したと考えられた．

そこで，手術侵襲による宿主免疫能の低下[4]を防止する目的で，術前に免疫賦活物質であるOK432を経口投与した．経口投与を選んだ理由は，臨床応用を考えた場合OK432の注射は発熱することもあって，術前投与としては不適切であること，また生体内の最大のリンパ組織である消化管リンパ組織 gut associated lymphoid tissue（以下，GALT と略記）の賦活を期待しうることからである．

マウスにOK432を術前投与すると，肺転移結節数は手術を加えることなく腫瘍を移植した場合とほぼ同じ程度であり，手術侵襲による転移促進が抑制されていたと考えられる．

このように，OK432の術前投与は実験的に手術侵襲による転移促進を抑制することが示されたので臨床的検討を行った．

胃癌例の手術前後の免疫能をみると，Con A 刺激リンパ球幼若化能は，Stage III, IV では第7病日目に術前値より有意に低下していた．

OK432を術前投与すると，Stage III, IV で術前値に比べて低下の傾向は認められたものの有意差はなかった．

NK 活性は胃癌の Stage にかかわらず術後低下した．とくに Stage II 以上の胃癌例では，第7病日目にいちじるしく低下していた．OK432を術前投与すると，Stage II, III では第7病日目の低下は抑制されていた．Stage IV でも第0病日から低下したが，それ以上の低下は認められなかった．つまり，OK432の術前投与はある程度以上進行した胃癌例に対して，術後の NK 活性低下を抑制する効果があることを示した．

細川[5]は，流血中に存在する腫瘍細胞の処理には宿主免疫機構の中で NK 細胞の役割が大きいとしている．また，Uchida ら[6]は，手術侵襲後 NK 活性が低下したと報告している．

以上のことから，NK 活性は転移に対する宿主防御機構において大きな役割を果たしていると考えられ，手術侵襲によって宿主免疫能，特に NK 活性が低下すれば転移は促進されると考えられる．

OK432を術前投与することは，術後の NK 活性の低下を抑制し，結果として手術侵襲による転移の促進を抑制しうると思われる．

OK432の経口投与は副作用もなく，すぐに実行できる方法であり，転移の制御に対する有効性が期待できると考えられる．

本論文の要旨は第46回日本消化器外科学会総会で発表した．

文　献

1) Maki T, Majima S, Yoshida K et al: Cancer cell dissemination during surgical manipulation. Tohoku J Exper Med 79：319—333, 1963
2) 高橋俊雄：癌転移の機序とその対策．日外会誌 96：539—546, 1995
3) Majima S, Yoshida K, Takahashi T et al: Remote result in stomach cancer cases with positive cancer cells in regional blood. Tohoku J Exper Med 84：65—71, 1964
4) 木田　恆：手術侵襲の腫瘍転移におよぼす影響とその対策に関する実験的検討．岐阜大医紀 35：319—354, 1987
5) 細川真澄男：転移の免疫学的側面．鶴尾　隆 編．癌転移の分子機構．メジカルビュー社，東京，1993, p18—27
6) Uchida A, Kolb R, Micksche M: Generation of suppressor cells for natural killer activity in cancer patients after. J Natl Cancer Inst 68：735—741, 1982

A Study on the Enhancement of Hematogenous Metastasis by Surgical Stress

Hideaki Watanabe, Hitoshi Okahara, Akinori Higashiyama, Masahiko Sugano,
Kazuhiko Nishimura and Noburu Sakakibara
First Department of Surgery, Juntendo University, School of Medicine

To defermine the influence of surgical stress on metastasis, we counted the metastatic colonies on the surface of the lung after inoculating melanoma cells into the tail veins of mice that underwent surgery. The surgical stress increased the number of metastatic colonies. To prevent host immune suppression after surgery, BRM (OK432) was administered to the mice preoperatively. Preoperative oral administration of OK432 inhibited the enhancement of metastasis by surgical stress in the murine experiment. Clinical investigation demonstrated that Stage III and IV gastric cancer patients showed a decrease in Con A-induced lymphocyte blastogenesis, and Stage IV patients also showed a decrease in NK activity after surgery. But preoperative oral administration of OK432 inhibited these decreases. NK cells are considered to play an important role in prevention of distanat metastasis, and the enhancement of metastasis may be due to the suppression of NK activity after surgery. The study suggests that preoperative administration of BRM could inhibit the enhancement of metastasis gy maintaining the NK activity after surgery.

Reprint requests: Hedeaki Watanabe First Department of Surgery, Juntendo University, School of Medicine
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 JAPAN