

## 胃癌患者における細胞性免疫能の推移

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8824">http://hdl.handle.net/2297/8824</a>

## 胃癌患者における細胞性免疫能の推移

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 服部絢一教授)

森 孝 夫  
原 田 実 根

金沢大学医学部外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

山 岸 満  
三 輪 晃 一

(昭和55年2月23日受付)

担癌生体には、腫瘍細胞に対する特異的、および非特異的免疫不全の存在することが知られており、しかもそれらは細胞性免疫機能の異常によるところが大きいとされている<sup>1)</sup>。ヒト癌では特異的免疫反応を測定することは一般的には困難であるので、非特異的免疫反応を知る試みがなされている。そして、非特異的細胞性免疫反応の低下と癌の進行程度、あるいは予後との間に相関のあることが種々の癌で報告されている<sup>1)~6)</sup>。しかしながら、これらの報告ではある一時期の検索しかなされていないものが多く、腫瘍の消長と細胞性免疫反応の推移との関係について検討したものは少ないようである。

今回著者らは胃癌患者を対象として、全血培養法による mitogenic response の測定と、E rosette test を施行し、癌の進行程度と、細胞性免疫反応の術前および術後の経時的変化との関係を検索したところ、興味ある成績を得たので報告する。

### 対象と方法

#### 1. 対象

金沢大学第2外科にて胃切除術(他臓器合併切除、単開腹を含む)を施行された74例の胃癌患者を対象とした(表1)。その進行度別による内訳は、Stage IよりIVまでそれぞれ10, 18, 11, 35例である。Stage分類は胃癌取扱い規約<sup>7)</sup>の組織学的進行程度によった。一部の不明なものは同じく肉眼的進行程度によって分類した。年齢は19歳より76歳にわたり、平均年齢は

56.8歳であった。

### 2. 検査方法

#### 1) mitogenic response

著者らがルーチンに行なっている微量全血法<sup>2)</sup>によって、末梢血リンパ球の phytohemagglutinin-P (PHA), concanavalin A (Con A) に対する反応性を測定した。予備実験成績より、RPMI1640培養液で10倍希釈したヘパリン加血0.5 mlに、至適濃度の各 mitogen, すなわち PHA (Difco) の0.5または1.0 $\mu$ l, Con A (Boehringer) の5または10 $\mu$ gをそれぞれ添加し、37 $^{\circ}$ C, 5%炭酸ガス培養器で4日間培養した。培養は全て triplicate で行なった。培養3日目には1 $\mu$ Ciの<sup>3</sup>H-Thymidine (<sup>3</sup>H-TdR)を加え、培養終了後蒸留水で赤血球を溶血させた後、細胞を glass

Table 1. Stage-distribution and number of participants

Stage	Male	Female	Total
I	6 (5)*	4 (0)	10 (5)
II	7 (4)	11 (5)	18 (9)
III	10 (9)	1 (0)	11 (9)
IV	26 (11)	9 (1)	35 (12)
Total	49 (29)	25 (6)	74 (35)

\*Parenthesis indicates the number of patients over 60 years old.

Serial Studies on Cell-mediated Immunity in Patients with Gastric Cancer. Takao Mori\*, Mine Harada\*, Mitsuru Yamagishi\*\*, & Koichi Miwa\*\*, Department of Internal Medicine (III)\* (Director: Prof. Kenichi Hattori) & Department of Surgery (II)\*\* (Director: Prof. Itsuo Miyazaki), School of Medicine, Kanazawa University.

fiber filter (GF/C, Whatman) に採取し, そのトリクロル酢酸不溶性分画への<sup>3</sup>H-TdR の取り込みを, 液体シンチレーションカウンターにて測定した. 結果は stimulation index (SI) で表わした. SI は次式により求めた.

$$SI = \frac{\text{mitogen 添加培養のカウント数}}{\text{mitogen 非添加培養のカウント数}}$$

この培養条件での 59 人の健康人の SI 値は, PHA では  $101.7 \pm 7.0$  (M.  $\pm$  SE.), Con A では  $62.9 \pm 5.3$  であった. それぞれ 2 濃度の mitogen を用いたが, 結果は高い値の得られた方で示した.

#### 2) E rosette test

末梢 T リンパ球の測定は, E rosette test<sup>9)</sup> によって行なった. すなわち, Ficoll-Hypaque による比重遠心法で末梢血より分離した単核細胞を, あらかじめ非動化ヒツジ赤血球 (SRBC) で吸収しておいた牛胎児血清 (FCS) で  $5 \times 10^6$ /ml に調整し, その 0.1 ml と, 同じく FCS で  $1 \times 10^8$ /ml に調整した同量の SRBC を混和し, 200g, 5 分の遠心の後, 氷水中に 2 時間以上静置した. その後ペレットを静かに再浮遊させ, 顕微鏡下で 200 個の単核細胞を数え, そのうち 3 個以上の SRBC が付着した細胞をロゼット形成細胞と判定した. 結果は全単核細胞に対する百分率で表わした. 健康人 27 人での平均値は  $63.2 \pm 2.0$  % であった.

#### 3) 検索時期

今回の検索では, 最も長期にわたる例では 13 カ月間の経過観察がなされたが, ここでは便宜的に, 手術前, 術後 1 カ月目, 2 カ月目, そして 3 カ月目またはそれ以降という 4 回の時期に分けて経時的な推移をみた. なお, Stage III, IV の症例では死亡例が多いなどの理由で

十分な症例数が得られなかったため, 術後 3 カ月目以降の成績は割愛した.

#### 4) 統計学的検討

群間の差の検定を t test によって行ない, 危険率 5 % 以下をもって有意差があると判定した.

### 成 績

#### 1. mitogenic response

表 2 は各 Stage 毎の PHA に対する反応を経時的に示したものである. 術前の PHA 反応性は各 Stage でいずれも正常人コントロールに比べ有意に低下していたが, 各 Stage 間に有意差は認められなかった. しかし, Stage I では術後 1 カ月目より反応性は回復する傾向を示し, 2 カ月目には正常に復した. Stage II では, Stage I にくらべ術後の反応性の回復は遅れる傾向にあり, 術後 3 カ月もしくはそれ以降の時期に正常に復した. 一方, これらとは対照的に, Stage III, IV では術後の反応性はむしろ漸減する傾向にあった.

Con A に対する反応性を表 3 に示した. PHA に対する反応性と同様にその反応性は, 術前, 全ての Stage で正常人コントロールに比べ有意に低下していた. その後の経過では, Stage I では術後 1 カ月目より回復の傾向を示したが, 経過中を通じて正常に復することはなかった. Stage II では術後 2 カ月目まで反応性は術前よりさらに低下するようであったが, 術後 3 カ月目以降には回復する傾向がみられた. Stage III, IV では, PHA に対する反応性と同様, 術後さらに低下する傾向にあった.

#### 2. E rosette test

表 4 に, 各 Stage 毎の E rosette test の経時的変

Table 2. PHA response before and after surgical operation.

Stage	pre operation	1 mo. after operation	2 mo. after operation	≥3 mo. after operation
Normal control	$101.0 \pm 7.0^* \quad **$ (n=59)			
I	$43.5 \pm 6.9$ (n=9)	$71.2 \pm 19.3$ (n=5)	$84.4 \pm 6.8$ (n=5)	$121.6 \pm 4.5$ (n=5)
II	$50.3 \pm 7.0$ (n=15)	$41.4 \pm 8.1$ (n=10)	$74.1 \pm 9.2$ (n=4)	$102.0 \pm 18.1$ (n=9)
III	$41.2 \pm 10.0$ (n=10)	$15.0 \pm 9.1$ (n=5)	$7.8 \pm 0.4$ (n=4)	—
IV	$39.5 \pm 5.6$ (n=32)	$19.5 \pm 6.7$ (n=14)	$16.8 \pm 3.1$ (n=4)	—

\* Stimulation index  $\pm$  standard error

\*\*  $\square$  Significantly different by t-test ( $p < 0.05$ )

化を示した。術前、全ての Stage でロゼット形成能はほぼ正常に保たれており、各 Stage 間に有意差は認められなかった。術後、Stage I, II のものではさらに増加する傾向があったのに対し、Stage III, IV ではやや低下するようであり、しかもばらつきが大きくなる傾向を示した。しかし平均値が正常域を下まわることはなかった。

考 察

術前に検索された PHA, Con A に対する反応性は、癌の進行程度には関係なく著明に低下していた。しかし三輪ら<sup>9)</sup>は同時期の PHA に対する反応性を検討し、癌の進行程度に平行して反応性は低下していたとしており、著者らとは異なった成績を得ている。このように彼らの成績の一致しない理由としては、三輪らが

トロンファイバーカラムにより分離して得られたリンパ球を用いて mitogen に対する反応性をみたのに対し、我々の成績が全血培養法によって得られたものであることの違いが考えられる。全血培養法は用いる血液量が少なくよく、また手技が簡単であるという長所をもつ一方、培養リンパ球数が一定でなく、また培養液中に自己血清が含まれるなどという短所を指摘できる。mitogenic response は培養リンパ球数、添加する mitogen の濃度、培養時間などの培養条件によって成績が左右され、これらの至適条件をはずれると反応性は低下する。我々は若年健康者を用いた予備実験によって至適条件を決定し、今回はその条件下で検索を行なったのであるが、一般に担癌患者には老年者が多く（今回の対象患者の平均年齢は 56.8 歳）、老年者<sup>10)</sup>、あるいは担癌患者<sup>11)</sup>ではリンパ球数の減少することが

Table 3. Con A response before and after surgical operation

Stage	pre operation	1 mo. after operation	2 mo. after operation	≥3 mo. after operation
Normal control	62.9±5.3* (n=59)			
I	15.8±3.5 (n=9)	17.9±9.2 (n=4)	26.3±7.4 (n=4)	52.2±13.0 (n=4)
II	16.5±3.4 (n=14)	8.1±3.4 (n=7)	9.5±3.8 (n=4)	38.3±9.1 (n=8)
III	12.8±2.8 (n=10)	2.0±0.5 (n=5)	2.5±0.7 (n=4)	—
IV	12.7±2.1 (n=30)	3.9±1.2 (n=12)	4.8±2.2 (n=6)	—

\* Stimulation index ± standard error

\*\* □ Significantly different by t-test (p<0.05)

Table 4. E rosette test before and after surgical operation

Stage	pre operation	1 mo. after operation	2 mo. after operation	≥3 mo. after operation
Normal control	63.2±2.0* (n=27)			
I	63.2±3.6 (n=7)	65.3±1.5 (n=4)	68.5±1.0 (n=4)	69.0±1.4 (n=4)
II	48.5±4.5 (n=11)	56.0±3.5 (n=7)	66.1±3.7 (n=7)	70.7±2.4 (n=5)
III	50.5±4.8 (n=6)	47.4±5.7 (n=5)	53.0±4.6 (n=4)	—
IV	49.1±4.9 (n=17)	36.0±7.4 (n=12)	44.7±7.8 (n=6)	—

\* Percent rosette ± standard error

多いといわれている。さらに、老年者では若年者に比べ、mitogenic response が低下し<sup>1213</sup>また最大の反応を示すのにより長い培養時間を要するという報告<sup>14</sup>もあり、したがって、培養リンパ球数、培養時間に関する限り、我々の行った培養は至適条件下では行なわれず、そのために最大の反応を得られなかったことが考えられる。また、培養液中に含まれる自己血清の、mitogenic response に及ぼす影響については、胃癌<sup>16-17</sup>、その他の腫瘍患者<sup>1819</sup>の血清中に mitogenic response を抑制する因子の存在することが知られており、それは $\alpha$ -、 $\beta$ -globulin および $\alpha_2$ -macroglobulin 分画中に存在するとされている<sup>19</sup>。さらに服部ら<sup>17</sup>は、Stage の異なる胃癌患者の血清を添加して、正常人リンパ球の mitogenic response を行ない、癌の進行程度と血清因子の mitogenic response に対する抑制の強さとの関係を検討したところ、両者には明らかに関連があったと報告しており、進行した癌患者の細胞性免疫機能が低下しているのは、リンパ球自身の機能異常の他に、このような液性因子も関与しているのであろうと推論している。

このように、担癌患者の mitogenic response は種々の要因によって影響をうけるが、全血培養法ではこれらの影響の程度を個々には知ることができないという欠点を持っている。しかしながら反面では、全血培養法はこうした全ての要因の総和としてリンパ球の mitogen に対する反応性をみていられると考えられ、この方法は細胞性免疫機能を知るための指標の一つとして有意義であると思われる。事実、Stage 別にみた術後の mitogenic response の経時的変化の検討では、ことに PHA に対する反応において、手術根治度が高いと考えられる Stage I、II では反応性が漸増的に回復し、予後の良好なことを期待させたのに対し、Stage III、IV ではそれとは逆に漸減するという結果が得られた。これは、癌の進行程度の小さいものほど、手術によって腫瘍をほぼ摘除することが可能であり、その結果としてリンパ球機能の回復、リンパ球数の増加、あるいは血清抑制因子の減少などがもたらされ、mitogenic response が正常に回復すると考えることができよう。このように、全血培養法による mitogenic response は、その手技の簡明さと相まって、これに影響をおよぼす種々の要因を包括的に反映するという点で、患者の細胞性免疫機能の経過をみる手段として非常に有用なもの一つと考えられる。

Con A に対する反応は、PHA に対するそれとほぼ同様の経過を示したが、Stage の進んでいないものでもその回復は遅れる傾向にあった。これは、リンパ球

が mitogen に対する反応性の異なったいくつかの集団より構成されていることを示していると考えられる。mitogen に対する反応性の異なるリンパ球は、機能的にも異なっていることがいわれており<sup>2021</sup>、今回の成績は担癌患者における細胞性免疫機能の障害は一樣でないことを示唆していると思われた。

E rosette 形成率は、術前術後を通じて全ての Stage で正常であった。しかし、Stage の進んでいないものは術後、形成率はさらに増加するのに対して、進行したものではやや低下する傾向にあり、これは残存した癌組織の発育を示すものであろうと考えられた。術前の E rosette 形成率に関しては、正常に比べ低下しているとする報告<sup>22</sup>もあるが、長田ら<sup>23</sup>は手術根治度の低いものでは若干低下している傾向にあるものの、ほぼ正常に保たれているとしており、著者らの成績はこれに一致するものであった。さらに、長田ら<sup>23</sup>は術後 1~2 週目の値を検討し、治癒切除、非治癒切除群ともに増加する傾向にあるが、非治癒切除群ではばらつきが大きくなるとしている。以上のように、胃癌患者の E rosette 形成率はほぼ正常に保たれていると考えられるが、今回の我々の成績も含め他の報告<sup>2223</sup>でも、E rosette 形成細胞の絶対数については検索されておらず、これらの成績のみで T リンパ球数が正常であるとするのは早計であろうと思われる。また、症例の具体的な提示はしなかったが、mitogenic response と E rosette 形成率とに解離のみられる症例が多くあった。これは、mitogenic response がある程度リンパ球の機能的側面（抗原刺激に対するリンパ球の増殖性変化という）を反映していると考えられるのに対し、E rosette test はリンパ球を量的に測定しようとするものであるためと考えられる。担癌患者では、その E rosette 形成率と腫瘍の消長とは必ずしも平行しないという報告<sup>24</sup>があることより、E rosette test で検出される T リンパ球の機能面からの検索は今後に残された課題である。

## 結 論

胃癌患者を対象として、全血培養法による mitogenic response と E rosette test を経時的に検索した。術前に施行された mitogenic response では、癌の進行程度にかかわらず PHA、Con A に対する反応性は正常人に比べ有意に低下していたが、術後、Stage の進んでいないものでは反応性は漸増傾向を示し、ことに PHA に対する反応性は早期に正常域に回復した。一方、Stage の進んだものでは術前よりさらに低下する傾向にあった。これらのことにより、

mitogenic response の回復の程度が予後と相関するという可能性が示唆される。

E rosette 形成率はすべての Stage で術前、術後とも正常範囲にあった。術後、Stage の進んでいないものではさらに増加する傾向があったのに対し、Stage の進んだものではやや低下するようであったが、いずれも正常域にあった。これは、E rosette test で検出される T リンパ球の量的変動が、その機能と直接関連しないことを示唆している。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師服部純一教授に深謝いたします。また快よく症例を提供していただいた本学第二外科宮崎逸夫教授に厚くお礼を申し上げます。

## 文 献

- 1) 菊地浩吉・井口進：細胞性免疫異常および不全と内科疾患－悪性腫瘍－。日本臨床， 36, 1002 - 1010 (1978).
- 2) 森孝夫：急性白血病患者の細胞性免疫の推移と予後との関係。十全医会誌， 87, 206 - 216 (1978).
- 3) Hersh, E. M., Gutterman, J. U., Mavligit, G. M., Mountain, C. W., McBride, C. M., Burgess, M. A., Lurie, P. M., Zelen, M., Takita, H. & Vincent, R. G. : Immunocompetence, immunodeficiency and prognosis in cancer. Ann. NY Acad. Sci., 276, 386-406 (1976).
- 4) Dalbow, M. H., Concannon, J. P., Eng, C. P., Weil, C. S., Conway, J. & Nambisan, P. T. N. : Lymphocyte mitogen stimulation studies for patients with lung cancer : evaluation of prognostic significance of preirradiation therapy studies. J. Lab. Clin. Med., 90, 296 - 302 (1977).
- 5) Catalona, W. J. & Chretien, P. B. : Abnormalities of quantitative dinitrochlorobenzene sensitization in cancer patients : correlation with tumor stage and histology. Cancer, 31, 353-356 (1973).
- 6) Eilber, F. R., Nizze, J. A. & Morton, D. L. : Sequential evaluation of general immune competence in cancer patients : correlation with clinical course. Cancer, 35, 660 - 665 (1975).
- 7) 胃癌研究会編：外科・病理胃癌取扱い現約，改訂第9版，14頁，東京，金原出版。 1974.
- 8) 矢田純一・橋武彦：ヒトリンパ球 sub-population の分別。免疫実験操作法 A (日本免疫学会編)， 451 - 454 頁，金沢，日本免疫学会。 1975.
- 9) 三輪忍昭・折田薫三・田中早苗：癌進行度とリンパ球幼若化率との相関－消化器癌を中心に。医学のあゆみ， 80, 634 - 635 (1972).
- 10) 岸本進・猪俣紘一郎：免疫からみた老化。最新医学， 31, 2303 - 2309 (1976).
- 11) 白神皞・岩尾憲人・今川大仁・橋詰博仁・小浜貴良・久次米隆司・渋谷和彦：担癌症の末梢血リンパ球。最新医学， 24, 1664 - 1671 (1969).
- 12) Weksler, M. E. & Hutteroth, T. H. : Impaired lymphocyte function in aged humans. J. Clin. Invest., 53, 99-104 (1974).
- 13) Pisciotto, A. V., Westring, D. W., Deprey, C. & Walsh, B. : Mitogenic effect of phytohaemagglutinin at different ages. Nature, 215, 193-194 (1967).
- 14) Foad, B. S. I., Adams, L. E., Yamauchi, Y. & Litwin, A. : Phytomitogen responses of peripheral blood lymphocytes in young and older subjects. Clin. Exp. Immunol., 17, 657 - 664 (1974).
- 15) Urushizaki, I., Ishitani, K., Nagai, T., Gocho, Y. & Koyama, R. : Immunosuppressive factors in serum of patients with gastric carcinoma. Gann, 68, 413-421 (1977).
- 16) Edwards, A. J., Rowland, G. F. & Lee, M. R. : Reduction of lymphocyte transformation by a factor produced by gastrointestinal cancer. Lancet, 1, 687-689 (1973).
- 17) 服部孝雄・新本稔・山県司政・峠哲哉・原田達司・寺尾紘：癌とその宿主。免疫治療の立場から。医学のあゆみ，96, 402 - 409 (1976).
- 18) Bice, D. E., Heins, G. & Salvaggio, J. : Lymphocyte stimulation and plasma inhibition in patients with malignant neoplasms. Intern. Archs. Allergy appl. Immun., 50, 613 - 624 (1976).
- 19) Walker, J. S., Davis, D., Davies, P., Freeman, C. B. & Harris, R. : Immunological studies in acute myeloid leukemia : PHA responsiveness and serum inhibitory factors. Br. J. Cancer, 27, 203 - 211 (1973).
- 20) Sakane, T. : Studies on cell-mediated immune responses by human lymphocytes in vitro. II. Human T lymphocyte subpopulation in terms of differential responsiveness to

phytomitogens. 臨床免疫, 7, 1193 - 1200 (1975).

21) Greaves, M. F., Owen, J. J. T. & Raff, M. C. : T and B lymphocytes, 2nd ed., p. 85 - 87, American Elsevier Publishing Co., Inc., New York, 1974.

22) 小林良彦・伊藤賢次郎・西村ミチ子・小島健一・追手嶽: リンパ球の Subpopulation と幼若化現象からみた担癌体の自己防衛能について. 臨床免疫,

6, 487 - 492 (1974).

23) 長田省一・伊藤茂樹・舟山仁行・佐藤茂範・田淵崇文・徳毛公人・井上仁・湯本克彦・小沢靖・大石山・相馬哲夫: 悪性疾患患者における T cell の動態. 最新医学, 32, 2361 - 2367 (1977).

24) Fudenberg, H. H., Wybran, J. & Robbins, D.: T-rosette-forming cells, cellular immunity and cancer. New Engl. J. Med., 292, 475-476 (1975).

**Serial Studies on Cell-mediated Immunity in Patients with Gastric Cancer.** Takao Mori\*, Mine Harada\*, Mitsuru Yamagishi\*\*, & Kōichi Miwa\*\*, Department of Internal Medicine (III)\*, Department of Surgery (II)\*\*, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. *J. Jupun Med. Soc.*, **89**, 203–209 (1980).

**Abstract** Cell-mediated immunity was investigated serially in 74 patients with gastric cancer in association with their disease state and prognosis. Tests employed in this investigation included in vitro blastogenic responses of lymphocytes to PHA and Con A by the whole blood method, and E rosette formation.

Regardless of the disease state, the blastogenic responses to both PHA and Con A were markedly suppressed in all preoperative patients. Percent E rosette sustained comparison with normal value even before cancer surgery.

In patients with stage I and II disease, the blastogenic responses especially to PHA showed rapid recovery to normal after surgical operation. Stage III and IV patients deteriorated their reactivities on the contrary after surgery. In all patients, percent E rosette showed normal after surgery.

From these observations, it is suggested that serial studies on immunocompetence may be useful to evaluate a therapeutic effect and predict a subsequent prognosis in the treatment of cancer patients.