

## 胃癌の転移による所属リンパ節リンパ球亜群の変化

小河原 忠彦・酒井 啓介<sup>1)</sup>・関川 敬義・松本 由朗

山梨医科大学第一外科, <sup>1)</sup> 東京大学医学部第一外科

**抄録**：胃癌所属リンパ節における転移の成立に伴う免疫応答を解明する目的で、所属リンパ節 (RLN) のリンパ球亜群の構成比率変化を flow cytometer で検索した。対象は胃癌手術25例である。染色は CD3, CD4XCD25, CD4XHLA-DR, CD4X4B4, CD4X2H4, CD8XCD25, CD8XHLA-DR, CD8XCD11b, Lue7XCD16の各モノクロナール抗体を用いた。

結果 1) 転移陽性 RLN では転移陰性 RLN と比べ CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>細胞 (cytotoxic T cell: Tc) が約 4% 低下し, Bright CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>細胞 (suppressor T cell: Ts) が約 1% 上昇したことから T 細胞系の主要防御能の低下が示唆されたが, natural killer: NK 細胞 (Dull CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>細胞, Leu7<sup>+</sup> and/or CD16<sup>+</sup>細胞) 比率は上昇していた。

2) RLN 内の転移癌細胞量の増加に従い, Tc 比率は負の相関を示して低下し, 反対に NK 比率は正の相関を示して上昇が認められた。しかし Ts 比率は相関がなかった。

3) 転移成立にともなうリンパ球亜群間の構成比率の変化について関連を検討してみると, Ts 比率と NK 比率は互いに正の相関をもって増加していた。また両者はいずれも CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>細胞の活性化比率, IL-2 receptor 発現率の各々と正の相関を示した。

以上から, 胃所属リンパ節に転移が成立すると Tc 比率の低下, Ts 比率の上昇がみられ腫瘍防御能の低下を思わせるが, Ts 比率の上昇は転移癌細胞量と相関せず, NK 比率の上昇などの正の免疫応答に対する負の免疫応答と考えられた。

**キーワード** 胃癌, 胃癌所属リンパ節, モノクロナール抗体, two color flow cytometry, リンパ節リンパ球亜群

### 緒言

胃癌に対する免疫防御機構としての胃所属リンパ節の役割を検索するために, flow cytometer を用いてリンパ球亜群の構成比率を解析した報告が散見される。これらの報告によると, 胃癌の所属リンパ節は転移のないものは非担癌症例のリンパ節リンパ球亜群の構成比率と比較して差はなく癌に対する防御機能を有している

とみられるが, 転移陽性のリンパ節では helper T cell の減少, suppressor T cell の増加がみられ, 免疫防御能が低下していると推測されている<sup>1)2)3)</sup>。このような担癌臓器の局所における免疫抑制状態を解明し, 免疫防御能を改善することが免疫療法の大きな役割と考えられる。今回, 著書らは胃癌患者において胃所属リンパ節におけるリンパ球亜群の構成比率を flow cytometer を用いて解析し, 転移成立の際のリンパ球亜群の構成比率の変化と亜群間の関連について若干の知見を得たので報告する。

〒409-38 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東1110

<sup>1)</sup> 〒113 東京都文京区本郷7-3-1

受付: 1993年5月19日

受理: 1993年7月7日

## 対 象

胃癌手術で摘出した25症例, 50個の所属リンパ節を対象とした。対象の25例は男性17例, 女性8例(平均年齢63.4歳)であった。そのうちリンパ節転移陰性(以下 n (-) 症例)は13例, リンパ節転移陽性(以下 n (+))は12例であった(表1)。胃癌取扱規約<sup>4)</sup>に準じ病期別に分類すると, stage I 11例, stage II 5例, stage III 5例, stage IV 4例(表2)であった。検索した対象のリンパ節を, 以下のごとく分類した。

① n (-) 症例の1群リンパ節(以下, n (-) Proximal LN)

② n (-) 症例の2群または3群リンパ節(以下, n (-) Distal LN)

③ n (+) 症例の1群の転移陽性リンパ節(以下, n (+) Proximal LN Meta(+))

④ n (+) 症例の2群または3群の転移陰性リンパ節(以下, n (+) Distal LN Meta (-))

## 方 法

### 1. 胃所属リンパ節のリンパ球分離法

摘出標本より採取したリンパ節を2分割し, 一方を病理組織標本とし, 他方をリンパ球の分離に供した。リンパ節をハサミで細切りし5%仔牛胎児血清加PBS(phosphate buffer saline)中でpipettingを行い単離細胞浮遊液を作成, ナイロンメッシュ(100  $\mu$ m)で濾過した。これをPBSで2回洗浄したあと, Ficoll比重遠心法により単核細胞層を回収しPBSでさらに洗浄しリンパ球浮遊液とした。

### 2. リンパ球亜群のflow cytometryによる解析法

#### 1) single color 解析

$1 \times 10^6/ml$ の濃度に調整したリンパ球浮遊液50  $\mu$ lに, fluorescen isothiocyanate(以下FITC)で標識したmonoclonal抗体(CD3)50  $\mu$ lを加え, 氷冷下で30分incubateしPBSで2回洗浄した後, flow cytometry法(以下FCM)でFCM-1(日本分光)を用いて測定した。

表1 対象症例と平均年齢

	男 性	女 性	合 計
症 例 数(人)	17	8	25
平均年齢(歳)	68.4 $\pm$ 10.4	56.8 $\pm$ 9.7	63.4 $\pm$ 11.6

表2 対象症例のリンパ節転移の有無と stage

リンパ節転移	陰 性		陽 性		
症例数(人)	13		12		
stage	I	II	II	III	IV
症例数(人)	11	2	3	5	4

stageは胃癌取扱規約(胃癌研究会編)に準じた。

#### 2) two color 解析

同様に調整したリンパ球浮遊液にFITC標識 monoclonal 抗体<sup>5)</sup>(CD4, CD11b, CD25, HLA-DR, Leu7)と phycoerythrin(以下PE)標識 monoclonal 抗体(CD8, CD16, CD4, 2H4, 4B4)を加えFCM(FCM-1D)にて測定した。なお測定したリンパ球亜群は以下の通りである。

CD3<sup>+</sup>細胞: mature T cell, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>細胞: 活性化CD4細胞<sup>6)7)</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>細胞: 活性化CD8細胞<sup>6)7)</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞: IL-2 receptor(以下IL-2R)発現CD4細胞, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>: IL-2R発現CD8細胞, CD4<sup>+</sup>2H4<sup>+</sup>細胞: suppressor inducer T cell(以下Ts. i.)<sup>8)</sup>, CD4<sup>+</sup>4B4<sup>+</sup>細胞: helper inducer T cell(以下Th. i.)<sup>9)</sup>, Bright CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>: suppressor T cell(以下Ts), Dull CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>: natural killer cell(以下NK/K), CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>: cytotoxic T cell(以下Tc), Leu7<sup>+</sup> and/or CD16<sup>+</sup>: NK/K細胞 subpopulation (Leu7<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>: NK活性3+, Leu7<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>: NK活性2+, Leu7<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>: NK活性1+)<sup>10)11)</sup>である。そこでNK活性を考慮した指標としてNK indexを以下のごとく定義して,  $NK\ index = (Leu7^{-}CD16^{+}) \times 3 + (Leu7^{+}CD16^{+}) \times 2 + (Leu7^{+}CD16^{-})$ の値で表現した。

3. 胃癌の各所属リンパ節における転移の有無とリンパ球各亜群の構成比率の検討

以下の順に検討した。

1) n (-) Proximal LN と n (-) Distal LN を比較した。

2) n (+) Proximal LN Meta (+) と n (+) Distal LN Meta (-) を比較した。

3) n (-) Proximal LN と n (+) Proximal LN Meta (+) とを比較した。

4) n (-) Distal LN と n (+) Distal LN Meta (-) を比較した。

5) n (-) Proximal LN と n (+) Proximal LN Meta (+) を対象とし転移癌細胞の有無、多寡によるリンパ球亜群の構成比率の変化を検討した。近位リンパ節の2等分割面において病理組織学的に転移を認めないものを Grade 0 (n=13), 癌細胞がわずかに認められるもの Grade 1 (n=3), 癌細胞の占拠面積が50%以下のもの Grade 2 (n=3), 50%以上のものを

Grade 3 (n=6) と判定し癌細胞の転移量として、各リンパ節リンパ球亜群の構成比率との関連について検討した。

6) n (-) Proximal LN と n (+) Proximal LN Meta (+) を対象として各リンパ球亜群の構成比率の相関の有無について検討した。

4. 統計処理

結果は平均±標準偏差 (Mean±S.D.) で表記した。有意差の検定は non-parametric t 法と、non-parametric Wilcoxon 法を用い、危険率 5% 以下のとき有意差ありと判定した。

結果

1. 各リンパ節群におけるリンパ球亜群の構成比率の比較

1) n (-) Proximal LN と n (-) Distal LN の比較;リンパ節転移陰性症例では近位リンパ節と遠位リンパ節間でリンパ球亜群の構成比

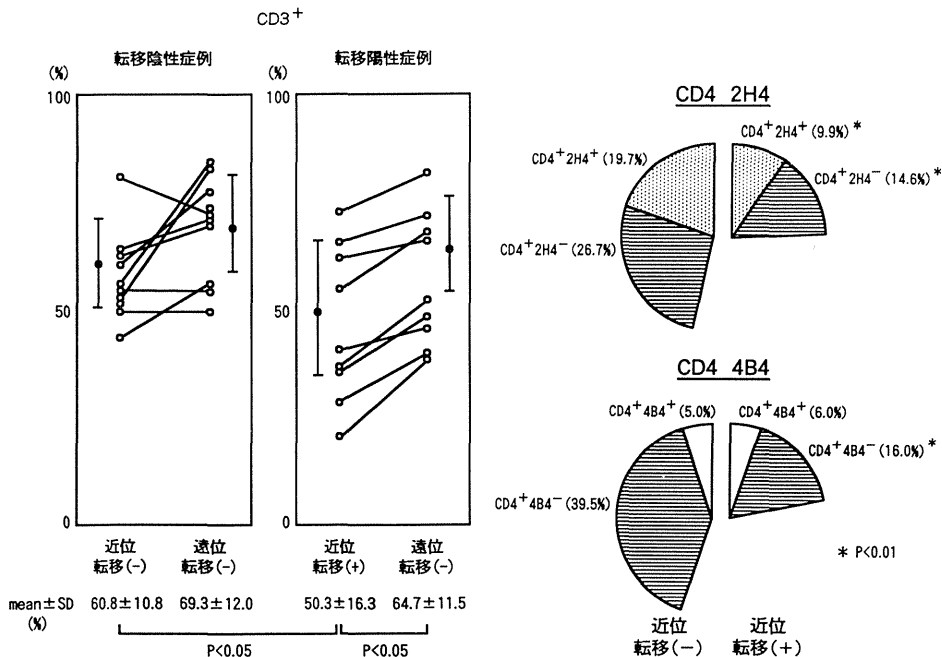


図1. 胃癌所属リンパ節におけるリンパ球亜群(CD3, CD4・2H4, CD4・4B4)の構成比率  
 転移陽性症例の近位転移(+)リンパ節において CD3+, CD4+2H4+, CD4+2H4-, CD4+4B4-細胞比率は、転移(-)リンパ節に比べ低値を示した。CD4+細胞の低下は主に CD4+4B4-細胞の低下と考えられた。

率に差を認めなかった。

2) 3) n (+) Proximal LN Meta (+) と n (+) Distal LN Meta (-) の比較, および n (+) Proximal LN Meta (+) と n (-) Proximal LN の比較;

n (+) Proximal LN Meta (+) は n (-) Proximal LN や n (+) Distal LN Meta (-) に

比べ CD3<sup>+</sup>細胞 (mature T cell) 比率, CD4<sup>+</sup>2H4<sup>+</sup> (Ts.i), CD4<sup>+</sup>2H4<sup>-</sup>, CD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>細胞比率は有意に低下していた (P<0.05) (P<0.01) (P<0.01) (P<0.01) (図 1)。また CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> (全 CD4陽性細胞に対する活性化 CD4陽性細胞割合), CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (全 CD8陽性細胞に対する活性化

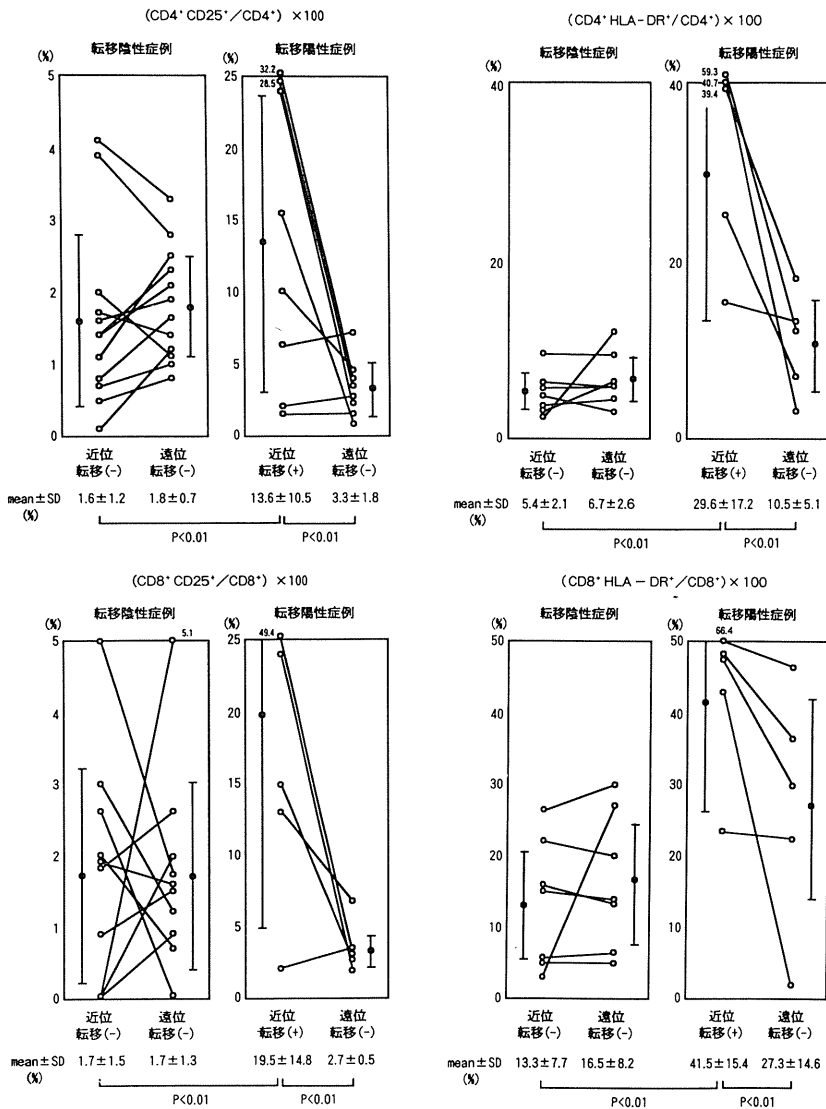


図 2. 胃癌所属リンパ節におけるリンパ球亜群;CD4, CD8細胞における活性化(HLA-DR)細胞割合と IL-2R 陽性 (CD25<sup>+</sup>細胞割合) 転移陽性症例の近位転移 (+) リンパ節において, 転移 (-) リンパ節に比べ活性化率, IL-2R 発現率の増加を認めた.

CD8陽性細胞割合),  $CD4^+CD25^+/CD4^+$  (全  $CD4$ 陽性細胞に対する  $IL-2R$  発現  $CD4$ 陽性細胞割合),  $CD8^+CD25^+/CD8^+$  (全  $CD8$ 陽性細胞に対する  $IL-2R$  発現  $CD8$ 陽性細胞割合)は有意に上昇していた。さらに  $Bright\ CD8^+CD11b^+$  (Ts) 細胞比率は上昇し ( $P<0.05$ ),  $CD8^+CD11b^-$  (Tc) 細胞比率は低下していた ( $P<0.05$ )。NK/K 細胞についてみると  $Dull\ CD8^+CD11b^+$ ,  $Leu7^+$  and/or  $CD16^+$  (NK index) は, ともに上昇していた ( $P<0.05$ ) ( $P<0.01$ ) (図3)。

2. リンパ節における転移癌細胞量と各リンパ球亜群の構成比率の変化との関連についての検

討:  $NK\ index$ ,  $CD8^-CD11b^+$ ,  $Dull\ CD8^+CD11b^+$  はそれぞれ  $P<0.01$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.05$  の危険率をもって転移量と正の相関を示した (図4)。一方  $CD8^+CD11b^-$  (Tc),  $CD4^+4B4^-$  はそれぞれ  $P<0.05$ ,  $P<0.01$  の危険率をもって転移量と負の相関を示した (図4)。

3. 近位リンパ節における各リンパ球亜群の構成比率の変化の相関についての検討

$Bright\ CD8^+CD11b^+$  (Ts) は  $NK\ index$ ,  $CD8^-CD11b^+$ ,  $Dull\ CD8^+CD11b^+$ ,  $CD4^+HLA-DR^+$ ,  $CD8^+HLA-DR^+$  に対して正の相関を認めた (いずれも  $P<0.01$ ) (図5)。 $Dull\ CD8^+CD11b^+$  (NK/k) は  $NK\ index$ ,  $CD8^-$

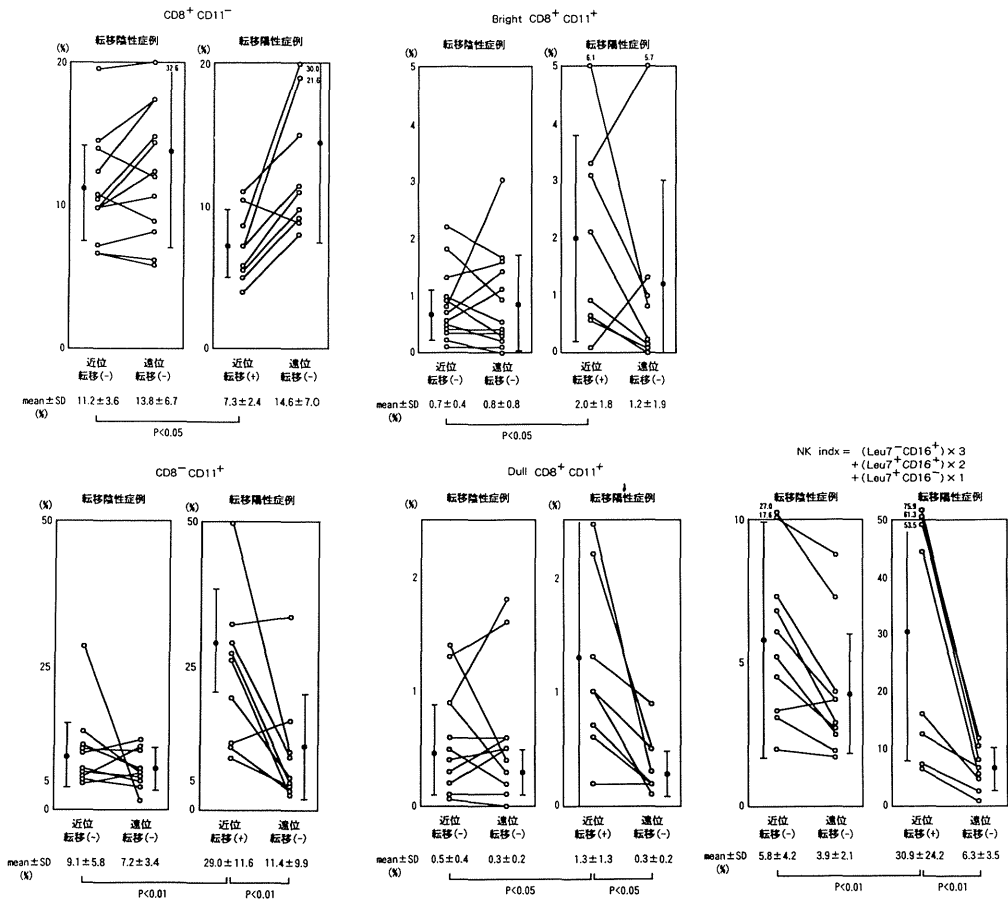


図3. 胃癌所属リンパ節におけるリンパ球亜群の構成比率 ( $CD8 \cdot CD11$ ,  $NK\ index$ )  
 転移陽性症例の近位転移(+)リンパ節において, 転移(-)リンパ節に比べ  $CD8^+CD11^-$  (Tc) の低下,  $Bright\ CD8^+CD11^+$  (Ts),  $Dull\ CD8^+CD11^+$  (NK/K),  $CD8^-CD11^+$ ,  $NK\ index$  の増加を認めた。

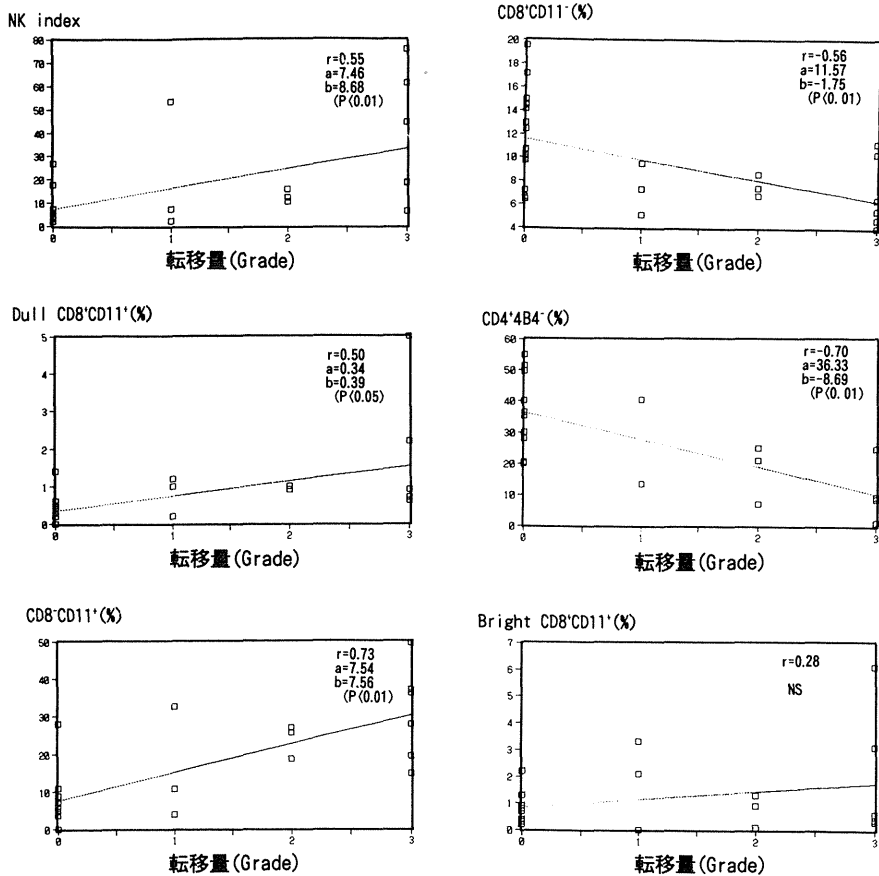


図4. 胃癌近位リンパ節における癌の転移量とリンパ球亜群の相関  
 CD8<sup>-</sup>CD11<sup>+</sup>, NK index, Dull CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup>の順に転移量に対し正の相関を示した。  
 また CD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>CD11<sup>-</sup>は負の相関を示した. Bright CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup> (Ts) は相関を認めなかった。  
 回帰直線を  $Y=a+bX$  で相関係数を  $r$  で表わす。

CD11b<sup>+</sup>, Bright CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>に対して正の相関を認めた(いずれも  $P<0.01$ ) (図6)。CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>と CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>との間にも正の相関を認めた ( $P<0.01$ )。CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup> (Tc) と CD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>の間にも正の相関を認めた ( $P<0.01$ )。CD8<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup>と NK index の間にも正の相関を認めた ( $P<0.01$ ) (図7)。

## 考 察

FITC 標識 monoclonal 抗体, PE 標識 mono-

clonal 抗体を利用し flow cytometer で解析する, いわゆる two color flow cytometry が普及し, リンパ球亜群をより機能的な方向から分類できるようになった。それに伴い胃癌において所属リンパ節のリンパ球亜群の構成比率の解析が進み転移の成立した所属リンパ節では Th 比率の低下や Ts 比率の上昇がみられ局所の腫瘍防御能の低下が報告されている<sup>1)2)</sup>。

著者らは, 胃癌の所属リンパ節において転移の成立に伴いリンパ球亜群の構成比率がどのように変化するか, また転移癌細胞量とリンパ球亜群比率の関連について flow cytometry を用

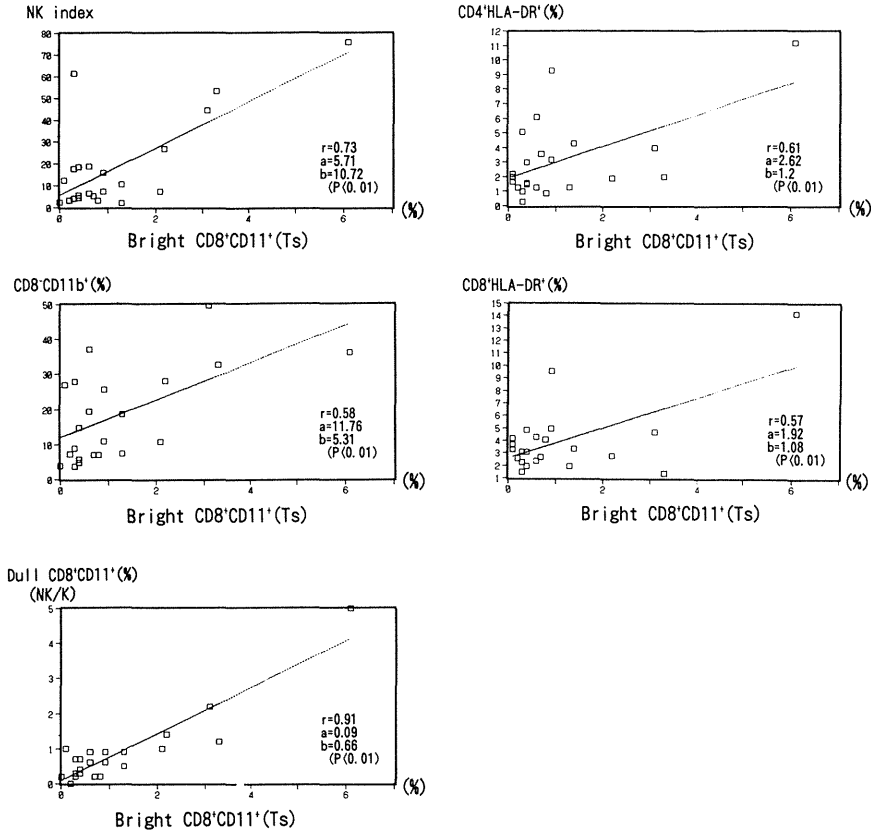


図5. 胃癌近位リンパ節におけるTs (Bright CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup>)と各リンパ球亜群間の相関回帰直線を  $Y=a+bX$  で、相関係数を  $r$  で表わす。

いて解析した。その結果、転移陽性リンパ節では転移陰性リンパ節に比べT細胞比率(CD3<sup>+</sup>)が約10%減少しており黒井ら<sup>1)</sup>や渡会<sup>2)</sup>の報告とほぼ一致していた。また転移陽性リンパ節でのCD4<sup>+</sup>細胞比率は約20%の低下を認め従来の報告とほぼ同じであった<sup>1) 2) 13)</sup>。これを two color 解析でみると渡会<sup>2)</sup>の報告同様、CD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>細胞比率が約23%低下し、CD4<sup>+</sup>4B4<sup>+</sup>(helper inducer T)細胞比率は不変であった。また Ts.i. (CD4<sup>+</sup>2H4<sup>+</sup>)細胞比率は黒井<sup>1)</sup>らの報告と同様に約10%低下していたが、CD4<sup>+</sup>2H4<sup>-</sup>細胞比率も約12%低下していた(CD4<sup>+</sup>細胞としては約22%の低下となる)。したがってCD4<sup>+</sup>2H4<sup>+</sup>:CD4<sup>+</sup>2H4<sup>-</sup>は転移陽性リンパ節、転移陰性リンパ節ともにほぼ4:5で同じであった。すなわち転移成立に伴うCD4<sup>+</sup>細胞

比率低下の直接的な要因は、主にCD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>細胞比率の低下によるものと考えられた。CD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>細胞は機能的には helper, および suppressor inducer T細胞を含んでいると考えられるが、転移癌細胞量の増加に対し負の相関を示して低下し、さらにTc (CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>)細胞比率の低下と正の相関を示し低下したことから、転移成立に伴う所属リンパ節の抗腫瘍能の低下の機序を知るうえで意義のある現象と考えられた。

CD8<sup>+</sup>細胞比率についてみると、転移陰性リンパ節に比べ、Ts (Bright CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>)、NK/K (Dull CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>)がそれぞれ約1%の上昇を認め、Tc (CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>)は約4%の低下であった。したがって、3者の合計ではCD8<sup>+</sup>細胞比率としては約2%の低下となるが

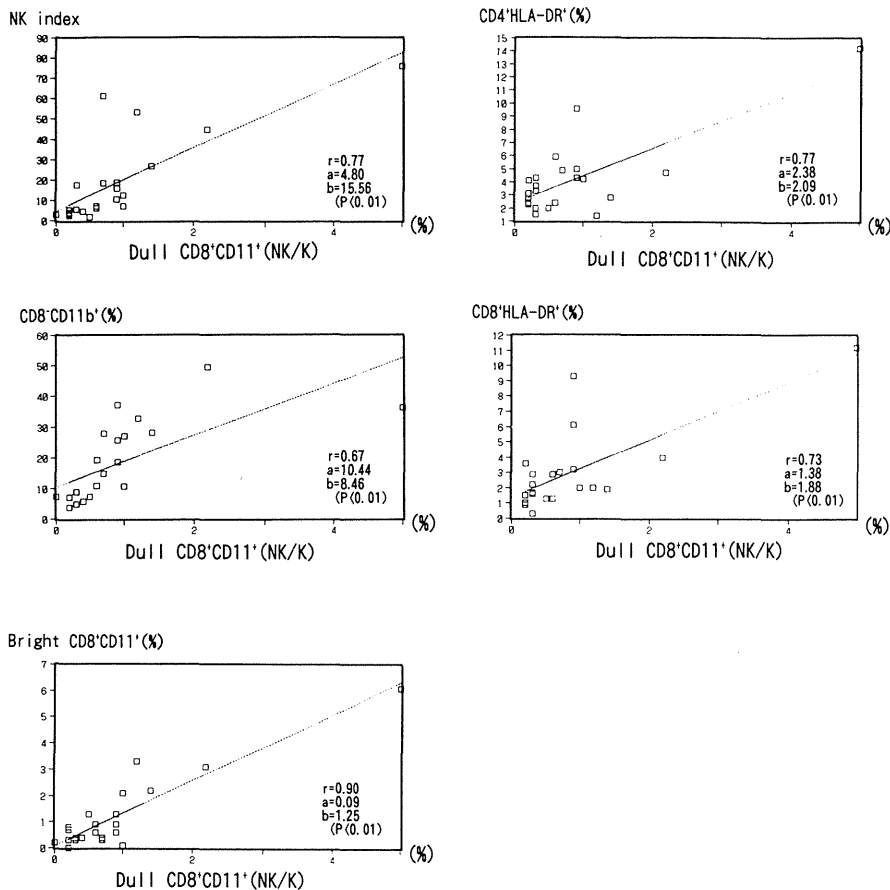


図6. 胃癌近位リンパ節におけるNK/K (Dull CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup>)と各リンパ球亜群間の相関回帰直線を  $Y = a + bX$  で相関係数を  $r$  で表わす。

有意差は認められず、渡会らの single color による解析結果<sup>2)</sup>とほぼ同じであった。しかし胃癌の転移陽性リンパ節における CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>の上昇は、渡会<sup>2)</sup>や、黒井ら<sup>1)</sup>の報告にあるような単なる suppressor T cell 比率の上昇でなく、Bright (Ts)と Dull (NK/K)に分類すると<sup>7)</sup>いずれもほぼ同率の上昇を示しており、Ts, NK/K 細胞両者の上昇を示唆していた。さらに興味深いことは、リンパ節1個当りの転移癌細胞量と同リンパ節の各リンパ球亜群比率の変動との関連についての検討では、Ts 比率の上昇は転移量の増加に相関しないのに対し、NK/K (Dull CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>)細胞比率の上昇は転移量の増加に対し正の相関を示したことであ

る。またNKの subpopulation である Leu7<sup>+</sup> and/or CD16<sup>+</sup> (NK index)でも転移量に対し正の相関を示したことから、転移成立時にリンパ節ではNK/K細胞比率の上昇およびNK活性の増強が示唆された。この結果は免疫組織染色を用いた従来の報告のなかでは、NK/K細胞の増加はないとした岡林ら<sup>13)</sup>の報告よりあるとした稲垣ら<sup>14)</sup>の報告を支持する結果であった。

一方、Ts比率は、Dull CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, NK index, CD8<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>のそれぞれの比率と正の相関を示した。すなわちTs比率は転移が成立したことよりも、NK/K細胞比率の上昇、あるいは



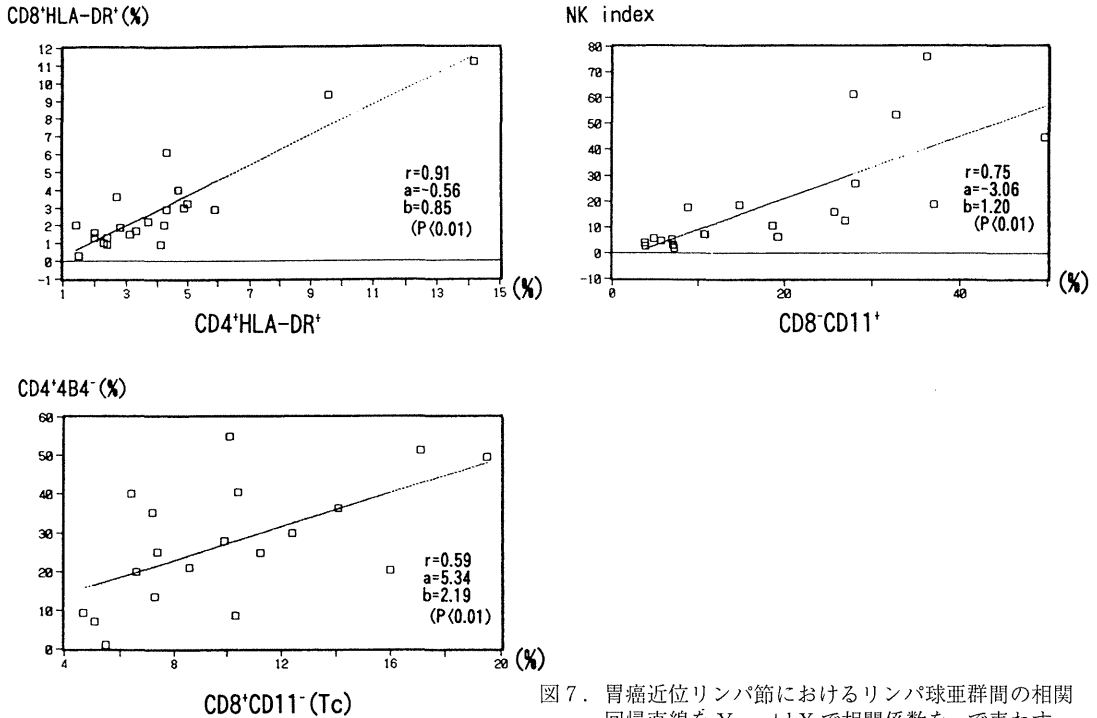


図7. 胃癌近位リンパ節におけるリンパ球亜群間の相関  
回帰直線を  $Y=a+bX$  で相関係数を  $r$  で表わす。

は活性化 T 細胞比率の上昇に対し、これらを抑制するかのごとく上昇した可能性が考えられた。この結果は胃癌患者の転移陽性リンパ節や脾臓において Ts を除去することにより NK 活性の増強が認められたとする世戸<sup>12)</sup>の報告により、間接的に支持されるものと考えている。

他方、Tc 比率が転移癌細胞の増加に従い低下(負の相関)を示したことは、相関を認めないとした渡会の報告<sup>2)</sup>とは異なっていた。

また全 CD4<sup>+</sup>細胞比率に対する活性化 CD4<sup>+</sup>細胞比率の割合、および IL-2R 発現 CD4<sup>+</sup>細胞比率の割合はそれぞれ約30%、約14%と著しく上昇しており、転移に対する免疫応答が惹起されている可能性が示された。このことは CD8<sup>+</sup>細胞においても認められた。これは稲垣ら<sup>14)</sup>が免疫組織染色を用いて転移陽性リンパ節を調べ、IL-2R 陽性細胞の増加を確認した結果と合致した。

また転移陽性リンパ節において CD8<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup>細胞比率は転移量や、Bright CD8<sup>+</sup>

CD11b<sup>+</sup>細胞比率、Dull CD8<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>細胞比率、NK index と正の相関を示し上昇しており、CD8<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup>細胞比率の増加は NK/K 細胞、Ts 細胞比率の上昇のよい指標になると考えられた。とりわけ転移陽性近位リンパ節にて、CD11b<sup>+</sup>細胞比が30%の高値を示した4例では、同リンパ節での NK index が40以上の高値を示しており、NK 活性の簡便な指標となりうる可能性が示唆された。これは CD11b (OKM1)が成熟した NK 細胞の表面マーカーであることによると考えられる。

また大和田ら<sup>15)</sup>は胃癌の転移陰性リンパ節を stage<sup>4)</sup>別に解析し、stage IV においてのみ CD16<sup>+</sup>(NK)細胞の上昇を認めたと報告している。著者らの検討では転移の成立したリンパ節においてのみ CD16<sup>+</sup>細胞比率の上昇を認め、CD16<sup>+</sup>細胞比率は癌細胞の転移量と正の相関を示していた。特に CD16<sup>+</sup>細胞比率が10%を越えた転移陽性の5例では stage II 2例、stage III 2例、stage IV 1例で stage との相関は認め

られず、むしろリンパ節1個当りの転移癌細胞の量と相関していた。

すなわち胃所属リンパ節に転移が成立するとT細胞比率は低下する。低下したT細胞は主に helper T cell, suppressor inducer T cell を含む CD4<sup>+</sup>4B4<sup>-</sup>亜群であった。Tc 比率はわずかに低下し、それを補うかのごとくNK/K細胞比率が上昇していた。さらにTs比率もわずかに上昇していたが、癌細胞の転移量に相関せず、NK/K細胞比率の上昇や活性化T細胞比率の上昇に相関していた。このことはTs比率が転移成立に伴って直接的に上昇したと考えるより、活性化T細胞比率の上昇や、IL-2R発現T細胞比率の上昇、NK/K細胞比率の上昇に伴う免疫防御能発現に対するnegative feedback様の反応と考えられた。したがってTs比率が上昇しているといえども活性化T細胞比率の上昇や、IL-2R発現T細胞比率の上昇、NK/K細胞比率の上昇は、転移癌細胞に対する生体防御の免疫応答が十分発現している可能性を示唆した。これについて著者らは胃癌患者23例の転移陽性近位リンパ節のNK indexと遠位のリンパ節転移の有無を調べ、近位リンパ節のNK indexの高い症例では、遠位リンパ節への転移が少ない傾向にあることを確認している。しかし、これらの結果は単にリンパ球の表面マーカーを見たに過ぎず、実際のkiller活性やNK活性を測定していないので、Steinhauer *et al.*<sup>16)</sup>の報告しているNK細胞の機能障害などがあって防御機能を果たしていない可能性も残されており今後の検討課題としたい。

## 文 献

- 1) 黒井克昌, 峠 哲哉, 山口佳之他. Two color 解析による胃癌所属リンパ節におけるT細胞亜群の同定. *Oncologia* 1987; **20**: 100-106.
- 2) 渡会伸治. 胃癌所属リンパ節内のT細胞各種亜群の構成比率の変化. *日外会誌*. 1986; **90**: 1009-1018.
- 3) 木場文男, 秋吉 毅, 有永信哉他. 胃癌所属リンパ節の細胞性免疫能. *日消外会誌*. 1986; **19**: 854-857.
- 4) 胃癌研究会編. 胃癌取扱い規約. 改訂第11版. 東京. 金原出版.
- 5) Evans RL, Faldetta TJ, Humphreys RE, *et al.* Peripheral human T cells sensitized in mixed leukocyte culture synthesize and express Ia-like antigens. *J Exp Med* 1978; **148**: 1440-1445.
- 6) Yu DTY, Wuncheater RJ, Fu SM, *et al.* Peripheral blood Ia-positive T cells. *Exp Med* 1980; **151**: 91-100.
- 7) 高瀬浩造, 矢田純一. リンパ球亜群分析. *臨床免疫*. 1986; **18**: 149-162.
- 8) Morimoto T, Norman LL, Andrew WB, *et al.* The isolation and characterization of the human helper inducer T cell subset. *J Immunol* 1985; **134**: 3762-3769.
- 9) Abo T, Charles A, Larry G, *et al.* Differentiation stage of human natural killer cells in lymphoid tissues from fetal to adult life. *J Exp Med* 1983; **157**: 273-284.
- 10) 安保 徹. モノクロナール抗体を用いたヒトNK細胞の解析. *最新医学*. 1984; **39**: 51-55.
- 11) Park DR, Hardy RR, Herzenberg LA. Dual immunofluorescence-new frontiers in cell analysis and sorting. *Immunol Today* 1983; **4**: 145-150.
- 12) 世戸芳博. 胃がん患者における所属リンパ節および脾リンパ球亜群の免疫組織学的解析と免疫応答性に関する研究. *広島大医誌*. 1986; **34**: 495-510.
- 13) 岡林孝弘, 堀見忠司, 折田薫三他. 胃癌所属リンパ節の免疫組織化学的研究. *日外会誌*. 1987; **88**: 529-542.
- 14) 稲垣貴史, 森瀬公友, 森島泰雄他. 胃癌所属リンパ節の免疫組織化学的検討. *日消誌*. 1987; **84**: 840-850.
- 15) 大和田 進, 竹下正昭, 宮本幸男, 泉 勝. 胃癌患者の免疫能に関する臨床的研究—第2報 所属リンパ節のT細胞サブセットについて—. *日外会誌*. 1990; **91**: 1560-1566.
- 16) Steinhauer EH, Doyle AT, Reed J, *et al.* Deletive natural cyto-toxicity in patients with carcinoma: Normal number of effector cells but decreased recycling capacity in patients with advanced disease. *J Immunol* 1982; **129**: 2255-2259.

### Comparison of Lymphocyte Subpopulation in the Lymph Nodes with or without Metastases in Gastric Cancer Patients

Tadahiko Ogawara, Keisuke Sakai<sup>1)</sup>, Takayoshi Sekikawa, and Yoshiro Matsumoto

*First Department of Surgery, Yamanashi Medical College and <sup>1)</sup>First Department of Surgery, Faculty of Medicine, The University of Tokyo*

The proportions of lymphocyte subpopulations in the regional lymph nodes of 25 gastric cancer patients were analyzed using two color flow cytometer.

The antibodies against human lymphocytes were anti-CD3, CD4xHLA-DR, CD4xCD25, CD4x2H4, CD4x4B4, CD8xHLA-DR, CD8xCD25, CD8xCD11 and Leu 7xCD16.

The results were as follows:

1) The percentage of CD8<sup>+</sup>CD11<sup>-</sup> cells in metastatic lymph nodes was about four points lower than that in non-metastatic lymph nodes. The percentage of bright CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup> cells was about one point higher in metastatic lymph nodes than in non-metastatic lymph nodes, while in metastatic lymph nodes the proportion of dull CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup>, Leu7<sup>+</sup> and/or CD16<sup>+</sup> cells, which are natural killer cells, was larger than that in non-metastatic lymph nodes.

2) The percentage of Leu7<sup>+</sup> and/or CD16<sup>+</sup> and dull CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup> cells correlated with the volume of cancer cells in metastatic lymph nodes. However the percentage of CD8<sup>+</sup>CD11<sup>-</sup> cells was decreased in relation to the volume of cancer cells in metastatic lymph nodes. The change in percentage of bright CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup> cells had no correlation with the volume of cancer cells in metastatic lymph nodes.

3) The percentage of bright CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup> cells and that of dull CD8<sup>+</sup>CD11<sup>+</sup> cells correlated in metastatic lymph nodes, and they also correlated with the percentage of Leu7<sup>+</sup> and/or CD16<sup>+</sup> cells, activated CD<sup>+</sup> cells and activated CD8<sup>+</sup> cells.

These results suggest that in metastatic lymph nodes, natural killer cells instead of cytotoxic T cells play an important defensive role against cancer cells.

**Key words:** Gastric cancer, Regional lymph node of gastric cancer, Monoclonal antibody, Two color flow cytometry, Lymphocyte subsets of lymph node.