口腔癌増殖局所におけるTリンパ球浸潤と予後

平塚博義* 小浜源郁* 山本悦秀**
宮川明* 山口晃* 野口誠*
今村正克*** 菊池浩吉***

論文要旨

口腔粘膜扁平上皮癌1次症例33例の生検組織における癌組織内浸潤リンパ球亜群を免疫組織学的に検索し、癌組織内浸潤T細胞の強さと術後臨床経過や予後との関係について検討した。術後5年以内に局所再発をきたした症例は12例で、T細胞浸潤の程度別にみると、高度T細胞浸潤群(++) : 14.2% (1/7), 中等度浸潤群(+) : 33.3% (4/12), 軽度あるいはほとんどT細胞浸潤を認めない群(+, -) : 50.0% (7/14)であった。5年確定生存率は(++): 100%, (+): 80.0%, (+, -): 76.9%とT細胞浸潤の強さは術後経過や予後と関連する傾向を示した。以上の結果から、癌組織内浸潤T細胞の様相は担癌生体における自己の癌に対する防御機構の生体内表現と考えられた。

Key words: T細胞浸潤 (Local T cell infiltration), 口腔癌 (Oral cancer), 予後 (Prognosis)

緒言

ヒトの癌組織内に浸潤する諸種の細胞集団のなかでも、とくにリンパ球の臨床的意義については従来から患者の術後生存率との関連性において注目されてきた^{1,2)}。口腔癌においても同様の現象が認められ、癌組織内間質のリンパ球浸潤は予後と関連することが報告されている^{3,4)}。

一方、免疫学の進歩、発展によって、リンパ球はT、B細胞の亜群に分別され、それぞれの亜群細胞はさらにいくつかの subsets に分類され、各々が相互に関連しあって、宿主の免疫応答が成立することが知られている。また、近年、種々の免疫担当細胞の細胞表面抗原を認識するモノクローナル抗体が広く市販されるようになり、これが免疫組織学の領域にも応用されてから、癌増殖局所に浸潤するリンパ球の大多数がT細胞の細胞表面抗原を有するとする報告が集積されている^{5,9)}。以上の報告は、強弱の差はあれ自己の癌細胞に対してT細胞が直接的あるいは間接的に細胞障害性を有していることを想定させるに十分な臨床的事実であるといえる。しかし、これを証明するためには、癌増殖局所のT細胞浸潤と個々の患者の臨床病態との関係や臨床経過、予後との関係を詳細に検討することが必要であると考えられるが、そのような報告は極めて少ない^{10,11)}。

著者ら^{12,13)}は抗ヒトT細胞血清¹⁴⁾、抗ヒトB細胞血清¹⁵⁾を用いて口腔癌の生検組織における癌発育先進部の間質に浸潤するリンパ球亜群を免疫組織学的に識別、同定し口腔癌組織内浸潤リンパ球の大多数はT細胞であり、しかもT細胞浸潤の程度は原発巣の大きさ、リンパ節転移の有無や手術前の Bleomycin (BLM) 投与による腫瘍縮小効果との間に推計学的に有意の関連性を有することを明らかにした。さらに、このような結果から生検組織におけるT細胞浸潤の程度は術前化学療法効果の予測、ひいては確定診断の時点で事前に患者の予後を予知する上で重要な因子の1つとなりうる可能性を報告した。

既に報告した症例は1次治療後5年以上経過し、全例、厳重な follow-up がなされたので、今回これらの症例を対象に生検組織の癌発育先進部におけるT細胞浸潤の強さの程度と術後経過ならびに予後について検討した。

1. 対象ならびに方法

1979年4月より1982年4月までの間に、札幌医科大学歯科口腔外科で加療され、生検組織の免疫組織学的検索を行ないかつ5年以上の期間にわたって術後経過を追跡しえた扁平上皮癌1次症例33例を対象とした (Table 1)。全症例手術可能例と判断された症例で、induction chemotherapy として BLM 90~150mg 点滴静注後、

*札幌医科大学口腔外科学講座, **金沢大学医学部口腔外科学講座, ***札幌医科大学病理学第1講座

Hiroyoshi HIRATSUKA*, Gen-iku KOHAMA*, Etsuhide YAMAMOTO**, Akira MIYAKAWA*, Akira YAMAGUCHI*, Makoto NOGUCHI*, Masakatsu IMAMURA*** and Kokichi KIKUCHI***: Prognostic Significance of the T-cell Response at the Tumor Margins in Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity

*Department of Oral Surgery, Sapporo Medical College, **Department of Oral Surgery, School of Medicine Kanazawa University, ***Department of Pathology, Sapporo Medical College

Table 1 Summary of Patients in This Study

Clinical Stage	Case	Sex/Age	Site	Peripheral Arround	T-Cell Infiltration Tumor Tissues*	Lymph Node Metastasis	Local Recurrence	Clinical Course
I	1	M/75	Lip		+			No evidence of disease
	2	M/47	Tongue		+		+	No evidence of disease
	3	M/60	Floor of mouth		+			No evidence of disease
	4	M/59	Floor of mouth		+++			No evidence of disease
	5	M/39	Tongue		++			No evidence of disease
	6	M/60	Tongue		++		+	No evidence of disease
II	7	M/45	Tonge		++			No evidence of disease
	8	F/65	Tongue		++	+		Dead of intercurrent disease
	9	M/69	Tongue		++	+		Dead of cancer
	10	M/48	Floor of mouth		+			No evidence of disease
	11	M/71	Buccal mucosa		++	+		Dead of intercurrent disease
	12	M/59	Lip		+++			No evidence of disease
	13	F/50	Tongue		++		+	Dead of cancer
	14	M/54	Tongue		+++			No evidence of disease
	15	M/38	Tongue		+			No evidence of disease
	16	F/40	Tongue		+++		+	No evidence of disease
	17	F/40	Palate		+++			No evidence of disease
III	18	M/56	Tongue		++			No evidence of disease
	19	M/32	Tongue		+++			No evidence of disease
	20	M/62	Buccal mucosa		+			No evidence of disease
	21	M/36	Tongue		++		+	No evidence of disease
	22	M/53	Tongue		++		+	No evidence of disease
	23	M/47	Tongue		+		+	No evidence of disease
	24	M/54	Tongue		+++			No evidence of disease
	25	M/61	Tongue		+	+		No evidence of disease
IV	26	F/32	Tongue		++			No evidence of disease
	27	M/29	Tongue		++	+		No evidence of disease
	28	M/37	Tongue		+		+	Dead of cancer
	29	M/41	Tongue		-	+	+	No evidence of disease
	30	M/64	Tongue		+	+		No evidence of disease
	31	M/63	Tongue		-	+	+	Dead of cancer
	32	M/67	Tongue		+		+	Dead of intercurrent disease
	33	F/56	Tongue		+	+	+	Dead of cancer

* ++ ; Marked, +; Moderate, + ; Slight, - ; None

共著者の小浜により外科療法が施行された。

対象症例の発症部位は舌25例、口底3例、頬粘膜、口唇が各2例、口蓋1例であった。臨床病期は1978年 UICC の TNM 分類に従った。

試験切除組織の固定、切片作製ならびにリンパ球亜群を同定する免疫組織学的方法については既に詳細に報告しているので省略する^{12,13)}。口腔癌問質におけるT、B細胞の浸潤の程度は Shimokawara¹⁰⁾らの分類に準じ、高度(++)、中等度(+)、軽度(+),ほとんど認められない(-)の4段階に分類し、その判定には複数の観察者が独立してあたり、ほぼ一致した判定結果が得られた。本報告では、(-)群が2例ときわだって少数のため、(+, -)群として一括し検討を行なった。

2. 結 果

(1) T細胞浸潤の程度と局所制御

Table 2 に示すごとく、対象症例中術後5年以内に局所再発をきたした症例は12例(12/33; 36.3%)であった。これをT細胞浸潤の程度別にみると、高度T細胞浸潤群(+++)では1例(1/7; 14.2%), 中等度浸潤群(++)では4例(4/12; 33.3%), 軽度あるいはほとんどT細胞浸潤を認めない群(+, -)では7例(7/14; 50.0%)であった。また、術後1年以内の再発率は(+++)群: 0%, (++)群: 8.3% (1/12), (+, -)群: 28.5% (4/14)とT細胞浸潤の強さにとまって再発率の低下が認められた。手術から局所再発までの平均期

Table 2 Relationship between T cell infiltration and local recurrence

Clinical Course	Grade of T-Cell Infiltration			Total
	(++)	(+)	(+, -)	
No evidence of disease	1	3	3	7
Dead of intercurrent disease	0	0	1	1
Dead of cancer	0	1	3	4
Recurrence rate (%)	14.2 (1/7)	33.3 (4/12)	50.0 (7/14)	36.3 (12/33)
Cure rate (%)	100.0 (1/1)	75.0 (3/4)	57.1 (4/7)	66.6 (8/12)

Table 3 Relationship between T cell infiltration and 5-year survival rate

Clinical Course & Survival Rate	Grade of T-Cell Infiltration			Total
	(++)	(+)	(+, -)	
No evidence of disease	7	8	10	25
Dead of intercurrent disease	0	2	1	3
Dead of cancer	0	2	3	5
Recurrence rate (%)	100.0 (7/7)	66.6 (8/12)	71.4 (10/14)	75.7 (25/33)
Cure rate (%)	100.0 (7/7)	80.0 (8/10)	76.9 (10/13)	83.3 (25/30)

Fig. 1 5-year survival rate according to the grade of T-cell infiltration at the tumor margins; deaths due to cancer

間は(++)群: 18カ月, (++)群: 36カ月, (+, -)群: 15カ月と段階的な差を示していないが, (+, -)群では術後短期間に再発する傾向を示した。上述の術後1年以内に再発した5例は局所再発後, 頸部リンパ節転移をきたし, 4例は原病死した。結局, 再発例のうち, (++)群の1例(100%), (++)群の2例(66.7%), (+, -)群の3例(42.9%)は再手術によって良好な局所制御が得られた。

(2) T細胞浸潤の程度と5年生存率

Table 3 に示すごとく, 原病死は5例, 他病死は3

例であり, 5年粗生存率は75.5%, 5年確定生存率は83.3%と良好な治療成績が得られた。

T細胞浸潤の程度別に粗生存率を比較すると, (++)群では100%, (++)群では66.6%, (+, -)群では71.4%であるが, 死亡例のうちでも他病死を除外し, 癌死のみを評価対象とする確定生存率は(++)群: 100%, (++)群: 80.0%, (+, -)群: 76.9%であり, T細胞浸潤の程度と確定生存率は相関する傾向を示した。累積生存率も(++)群: 100%, (++)群81.4%, (+, -)群: 78.5%であり, 同様にT細胞浸潤の強さにともなって生

存率の上昇が認められた (Fig. 1)。しかし、各群間における推計学的有意差は認められなかった (X^2 検定)。

3. 考 察

実験腫瘍を用いた系では、担癌生体は自己の癌に対して免疫学的抵抗性を有し、この際、癌細胞に対する抵抗性は細胞性免疫の発現に関与するT細胞に担われていることが知られている¹⁶⁾。ヒトの自然発生癌においては種々の倫理的制約もあって in vivo 試験による証明は困難であるが、非特異的な in vivo, in vitro 試験や特異的反応を利用した in vitro 試験によって、癌の進行とともに細胞性免疫応答の低下が指摘されており、このことは癌患者の免疫学的抵抗性の減弱を意味すると考えられている¹⁷⁾。一方、癌発生部位の腫瘍間質にはリンパ球を主体とした炎症性単核細胞の浸潤を認めることが多い。このようなリンパ球を主体とする細胞浸潤の強い症例の多くは予後が良好なことから、この病理組織学的所見を担癌生体の自己の癌に対する防御機構の生体内表現ととらえる報告も多い¹⁸⁾。井上³⁾は舌癌実質の発育先進部に限局してリンパ球浸潤が認められる現象をとらえ、ことに癌巣の全周囲にわたってリンパ球を主体とする細胞浸潤が認められる症例では手術後長期間にわたって生存することを観察し、予後因子としての癌組織内浸潤リンパ球の重要性を指摘した。

著者ら¹²⁾は同じく舌癌の生検組織について免疫組織学的に検討し、リンパ球の大部分はT細胞であり、これらが癌巣周囲をび慢性あるいは帯状に取り囲む所見が認められ、しかもT細胞浸潤の程度は初診時や手術時までの患者の臨床病態像と密接に関連することを報告した。本報告では同一症例の術後臨床経過を追跡し、口腔癌増殖局所における細胞性免疫の関与と予後との関連性について検討した。

口腔癌における外科治療後の局所制御や再発率の報告は、手術手技の違いや術者が異なる場合が多く、背景因子が複雑なこともあって少ないが、臨床的には予後を左右する大きな要因である。今回対象とした33例の術後5年以内の局所再発は36.3%の症例に認められたが、Noone ら¹⁹⁾の口腔癌104例を対象とした再発率39.4%と比較すると決して高い数値ではない。しかも今回の検討では局所再発率はT細胞浸潤高度例(++)では低く、逆に極めて少ない例(+, -)では症例の半数に局所再発が認められた。さらに、2次治療による局所制御率がT細胞浸潤高度例(++)では100%であるのに対し、T細胞浸潤が極めて少ない症例(+, -)では57.1%であり、癌巣内のT細胞浸潤の程度は口腔癌患者の術後経過をよく反映していることが注目された。また、生検組織における癌組織内T細胞浸潤の強さと5年生存率との関係

でも、T細胞浸潤高度例(++)では原病死例は認められず、極めて良好な生存率が得られた。以上の結果は口腔癌組織内間質におけるT細胞浸潤の強さが個々の患者の予後予知因子として重要であることを示唆するとともに、自己の癌細胞に対する担癌生体の抵抗性が腫瘍浸潤T細胞により担われている可能性を示すもので、in vivo における担癌生体の癌細胞に対する免疫応答のひとつの証明と考えられる。

近年、癌免疫療法は姑息的あるいは補助的治療法の域を脱し、癌治療の第4の柱として積極的に臨床応用が試みられている。今後、このような治療体系のなかで、さらにT細胞 subsets の機能的役割が解明されることが期待される。

本研究の一部は文部省科学研究費によった。

SUMMARY

Biopsied cancer tissues from 33 patients with primary squamous cell carcinoma of the oral cavity were examined immunohistopathologically as to the responsiveness of the host against its own cancer cells. We have previously reported that T-cells were predominant over B-cells, and T-cells surrounded the cancer nests, infiltrated at the marginal parts of the cancer nests. We have also noted that the grade of T-cell infiltration in the biopsied specimens at time of diagnosis correlated well with the size of tumor, and the existence of cervical lymph node metastasis. All patients were treated by induction chemotherapy and surgery and were followed up for 5 years. Twenty-five patients were alive 5-years after surgery, 5 patients had died of their cancer and 3 patients had died of intercurrent disease.

In the present study, we have attempted to determine whether the grade of T-cell infiltration at around tumor margins is related to the clinical outcome after surgical excision of the primary tumor and prognosis, retrospectively. Recurrence rate was 14.2% for patients with marked T-cell infiltration, 33.3% for patients with moderate T-cell infiltration and 50.0% for patients with none or slight T-cell infiltration, although the differences noted were not statistically significant because of the small sample size. Patients with marked T-cell infiltration at the tumor margins achieved 100% determinate 5-year survival rate which is better than for patients with moderate, and none or slight T-cell infiltration. Thus, increased grade of T-cell infiltration in the tumor tissues at the marginal parts of the cancer nests was associated with a more favorable prognosis. These results suggested that T-cells might inhibit the development and spreading of the cancer cells.

文 献

- 1) MacCarty WC: Factors which influence longevity in Cancer. A study of 293 cases. *Ann Surg* 76: 9-12, 1922.
- 2) Watanabe H. Enjoji M. et al: Gastric carcinoma with lymphoid stroma. Its morphologic characteristics and prognostic correlations. *Cancer* 38: 232-243, 1976.
- 3) 井上 篤: 舌癌の組織学的研究. *福岡医誌* 46: 1039-1059, 1955.
- 4) 和田 健, 大野 浩 他: 口腔癌におけるリンパ球様細胞浸潤の意義. *日癌治会誌* 15: 343-352, 1980.
- 5) Eaglstein HF. Hernandez AD. et al: Lymphocytic response to basal-cell carcinoma: In situ identification of functional subsets using monoclonal antibodies. *J Dermatol Surg Oncol* 8: 943-947, 1982.
- 6) Loning TH. Broemel H. et al: Identification of inflammatory cell phenotypes in human oral carcinomas by means of monoclonal antibodies. *Archs Oral Biol* 28: 1093-1100, 1983.
- 7) Bhan AK. DesMarais CL: Immunohistologic characterization of major histocompatibility antigens and inflammatory cellular infiltrate in human breast cancer. *JNCI* 71: 507-516, 1983.
- 8) Hurliman J. Sagara P: Mononuclear cells infiltrating human mammary carcinomas: Immunohistochemical analysis with monoclonal antibodies. *Int J Cancer* 35: 753-762, 1985.
- 9) Guo M. Rabin BS: Lymphocyte phenotypes at tumor margins in patients with head and neck cancer. *HEAD & NECK SURGERY* 9: 265-271, 1987.
- 10) Simokawara I. Imamura M et al: Identification of lymphocyte subpopulations in human breast cancer tissue and its significance: An immunoperoxidase study with anti-human T- and B-cell sera. *Cancer* 49: 1456-1464, 1982.
- 11) 白井朋明, 下川原出 他: 乳癌組織内浸潤T細胞と予後との関係. *癌の臨床* 29: 1634-1637, 1983.
- 12) 平塚博義, 今村正克: 舌癌組織内浸潤リンパ球亜群の免疫組織学的解析とその臨床的意義. *札幌医誌* 52: 143-160, 1983.
- 13) Hiratsuka H. Imamura M. et al: Immunohistologic detection of lymphocyte subpopulations infiltrating in human oral cancer with special reference to its clinical significance. *Cancer* 53: 2456-2466, 1984.
- 14) Koshiba H. Ishii Y. et al: Identification of human peripheral T cell antigens. *J Immunol* 118: 625-629, 1977.
- 15) Ishii Y. Koshiba H. et al: Characterization of human B lymphocyte specific antigens. *J Immunol* 114: 456-469, 1975.
- 16) Kikuchi K. Ishii Y. et al: Cell-mediated immunity involved in autochthonous tumor rejection in rats. *Ann N Y Acad Sci* 276: 188-206, 1976.
- 17) 菊池浩吉, 内沢公伸: 細胞性免疫の臨床的意義, *がんと免疫. 総合臨床* 26: 2874-2882, 1977.
- 18) Underwood JCW: Lymphoreticular infiltration in human tumors: prognostic and biological implications: a review. *Br J Cancer* 30: 538-542, 1974.
- 19) Noone RB. Bonner HJ. et al: Lymph node metastases in oral carcinoma. A correlation of histopathology with survival. *Plastic & Reconstructive Surgery* 53: 158-166, 1974.