口腔癌における所属リンパ節反応形態に関する研究

——リンパ節の酵素組織化学的検討——

木下 鞆彦・本間 義郎・藤原 由直・小林 晋一郎
浅野 信雄・平井 英一・志村 介三

A study on the structural representation in the regional lymph node of oral cancer

——Enzymehistochemical observation of lymph node——

Yukihiko KINOSHITA・Yoshiro HONMA・Yoshinao FUJIWARA・Shinichiro KOBAYASHI
Nobuo ASANO・Eiichi HIRAI・Kaizo SHIMURA

緒 言

癌細胞がリンパ節に転移巣を形成するまでには、(1) 癌細胞の遊離、(2) 癌細胞の遊走、浸潤、(3) リンパ管内への侵入、(4) リンパ管内移動、(5) リンパ節への定着、(6) リンパ節における増殖などの過程が考えられる¹⁾。このような過程を経てリンパ節転移が形成され、拡大、進展するには種々の腫瘍側要因とともに、宿主側要因もさまざまに関与していると考えられている。ことに近年、腫瘍免疫に関する種々の知見が得られるに従い、所属リンパ節もまた抗腫瘍反応の場として重要視されるようになってきた^{2,3)}。

1982年、本間⁴⁾は口腔癌患者における頸部リンパ節反応、特にその傍皮質の肥厚 paracortical area hyperplasia-lymphocyte predominance や洞組織球症 sinus histiocytosis が転移の有無や拡がりや密接に関連していることを報告した。今回、これらリンパ節の形態的变化をより機能的に解明する目的で、酵素組織化学的検討を加えた。

対象および方法

1980年より1982年までに神奈川歯科大学口腔外科学教室にて診断、治療を行った口腔扁平上皮癌症例のうち全頸部廓清術を施行した14例、リンパ節45個を対象とした。

方法は手術材料から速やかにリンパ節を摘出、最大割

神奈川歯科大学口腔外科学教室

(主任：志村介三教授)

Department of Oral Surgery, Kanagawa Dental College (Chief: Prof. Kaizo Shimura)

受付日：昭和58年7月25日

面にて半切し、一方を中性緩衝ホルマリン液にて固定後、通常の組織学的検索を行い、残りの一方を冷4% Paraformaldehydeにて12~24時間固定後、4°Cの0.88 M Gum succroseにて一晚洗浄し、クライオスタットにて6μの凍結切片を作成し、リンパ節構成細胞の酵素組織化学的検索に供した。今回、検索した酵素は、β-glucuronidase (β-Gase), Acid phosphatase (ACPase), Adenosin triphosphatase (ATPase)で、おのおの Hayashi⁵⁾, Barka & Anderson⁶⁾, Wachstein & Meisel⁷⁾の方法によった。なおβ-GaseとACPaseについてはmethyl greenにて後染色を行った。

結 果

1. ATPase

リンパ節内の多くの血管内皮細胞は強い活性を示した。胚中心ではほとんど活性が認められないが、胚中心周囲、すなわち暗殻のリンパ球には活性が認められ(写真1, 2)、皮質や一次小節のリンパ球にも同程度の活性が観察された。一方、傍皮質部のリンパ球の大部分には活性がなく、これに混在するやや大型の細胞に活性が認められた(写真3)。髄索では陽性と陰性のリンパ球が混在していた。リンパ洞内の大型単核細胞は細胞質全体に強いびまん性活性を示した(写真4)。

2. β-Gase

胚中心では少数の細胞が中等度の活性を示したが、残りのほとんどの細胞には活性が認められなかった(写真5)。また暗殻や皮質、一次小節などのリンパ球にも活性が認められなかった(写真6)。対照的に傍皮質のリンパ球の多くは明瞭な1個の点状活性を示し(写真7)、これに中等度のびまん性活性を示す細胞や活性のない細胞が少数混在していた。また傍皮質に存在する後毛細管静脈の内皮細胞には、微細顆粒状の活性が認めら

写真 1 ATPase 染色. 胚中心 (GC) の活性は乏しいが, 暗殻 (M) のリンパ球は陽性を示す (×30)

写真 2 ATPase 染色. 暗殻部の一部拡大 (×120)

写真 3 ATPase 染色. 傍皮質リンパ球の大部分は活性を欠く (×100)

写真 4 ATPase 染色. リンパ洞内の大型単核細胞は強い活性を示す (×30)

写真 5 β-Gase 染色. 胚中心 (GC), 暗殻 (M) とともにほとんど活性がない

写真 6 β-Gase 染色. 一次小節のリンパ球は活性を欠く (×120)

れた. リンパ洞内皮は種々の程度に微細顆粒状を呈し, 洞内の大型単核細胞には中等度のびまん性, ないし微細顆粒状活性が認められた (写真8). リンパ洞内のリンパ球には, 1個の点状活性を有するものと活性のないものが観察された.

3. ACPase

本酵素活性の局在は基本的には β-Gase と差はないが, その強さにかなりの差がみられた. すなわち胚中心

構成細胞では一般に活性が乏しいが, 少数の細胞にかなり強い活性が認められた (写真9). また暗殻や皮質, 一次小節のリンパ球には活性が認められなかった. 対照的に傍皮質リンパ球の大部分は明瞭な1個の点状活性を示した (写真10). リンパ洞内皮は微細顆粒状活性を示し, 洞内には細胞質全体に強いびまん性活性を示す大型単核細胞 (写真11, 12) と中等度の活性を示す紡錘型細胞が少数観察された (写真12).

写真 7 β -Gase 染色. 傍皮質リンパ球は1個の点状活性を示す

写真 8 β -Gase 染色. リンパ洞内の大型単核細胞はびまん性, 顆粒状活性を示す ($\times 60$)

写真 9 ACPase 染色. 胚中心では一部の細胞に強い活性をみるが, 大部分の細胞は活性を欠く ($\times 120$)

写真 10 ACPase 染色. 傍皮質リンパ球は1個の点状活性を示し, これに強陽性の細胞が混在している ($\times 200$)

写真 11 ACPase 染色. リンパ洞内の大型単核細胞は強陽性を示す ($\times 60$)

写真 12 ACPase 染色. リンパ洞内の一部拡大, 中等度活性を示す紡錘型細胞が観察される ($\times 120$)

以上の酵素組織化学的所見のうち代表的なものをまとめたものが表1である.

考 察

ヒトリンパ節の構造⁶⁻¹⁰⁾は基本的には, リンパ洞と実質ならびに被膜からなり, リンパ洞はさらに周縁洞, 中

間洞, 髓洞に, 実質は皮質, 傍皮質, 髓索に分けられる. リンパは輸入リンパ管から周縁洞に入り, 次いで中間洞, 髓洞を経て輸出リンパ管に流れ込むが, 洞内には網状組織が存在しリンパの濾過装置となっている. 皮質は通常, リンパ濾胞と散在性リンパ組織からなっている. リンパ濾胞はさらに胚中心を有する二次小節と, これをもたない一次小節に分けられ, 胚中心は抗体産生に

表 1 リンパ節各部位の酵素組織化学所見

	ATPase	β -Gase	ACPase	増生表現
一次小節	+	—	—	
二次小節	—*	—*	—*	GCH
胚中心 暗 殻	+	—	—	
傍皮質	—	++	++	PH-L
リンパ洞	++	++	++	SH

—陰性 +陽性 ++強陽性

* 一部に陽性細胞が存在

** 1個の点状活性

関与していると考えられている。傍皮質は散在性リンパ組織からなり、リンパ球が血行性にリンパ節へ移行、集積する場として知られている。

以前からリンパ節にはその組織構築の面から、生体の異物に対する防御機構としての役割が知られていたが、担癌生体においても癌細胞に対する機械的防御機構が考えられていた¹¹⁾。また Fisher ら^{2,3)}は担癌生体の所属リンパ節に関する一連の研究から、所属リンパ節は腫瘍免疫の initiation のみならず、その maintenance においても重要であることを示唆した。

一方、1953年、Black ら¹²⁾は CWF マウス自然発生乳癌の自然治癒例の剖検結果やヒト乳癌の腋窩リンパ節の検索結果から、sinus histiocytosis は予後と密接に関係しており、本反応は所属リンパ節における宿主の防御反応を表現するものと考えた。これ以後、担癌生体の所属リンパ節の反応形態が次第に注目されるようになったが、その形態的分類、評価は報告者によりまちまちであった¹²⁻¹⁷⁾。

最近、リンパ節の組織構造、構成細胞の機能や動態に関する知見などから、(1) 胚中心の過形成 germinal center hyperplasia (以下 GCH)、(2) 傍皮質の肥厚 paracortical area hyperplasia-lymphocyte predominance (以下 PH-L)、(3) リンパ洞の拡張と大型単核細胞の増生 sinus histiocytosis (以下 SH) の三者をリンパ節の基本的な反応形態と考えるものが多い^{4,18)}。

また著者ら¹⁹⁾が口腔癌患者の頸部リンパ節反応を系統的に検索した結果、高度な SH を示す症例には頸部リンパ節転移陰性例が多く、PH-L の乏しいものには広範な転移傾向がみられるなど、これらリンパ節反応形態とリンパ節転移との密接な関係が認められた。しかし、かかるリンパ節反応形態と機能との関連性についての検索は少なく、不明な点が多い²⁰⁻²⁴⁾。

一方、細胞の形態と機能的検索の接点として、細胞の酵素活性に関する組織化学的アプローチが注目されている。特にリンパ系細胞や組織球に関して、T細胞では

β -Gase や ACPase などのライソゾーム酵素が1個の点状活性を示すこと、B細胞には ATPase 活性が認められること、組織球には ACPase が強陽性を示すことなどが報告されている²⁵⁻²⁷⁾。

今回、われわれが口腔癌の頸部リンパ節について上記の3種類の酵素活性を検索した結果からすると、胚中心構成細胞はいずれの酵素活性も乏しいが、暗殻のリンパ球には ATPase 活性が強く、逆に ACPase や β -Gase 活性が認められなかった。すなわち暗殻のリンパ球のほとんどがB細胞と考えられ、GCH を示すリンパ節におけるB細胞の増加が示唆された。このことは Tsakrakleides ら²²⁾のロゼット形成による結果と一致している。しかし胚中心そのものの意義についてはいまだ種々議論があり、またリンパ節転移との関連性についても一定の傾向はみられず、今後さらに機能面、特に抗体産生能などとの関係について免疫学的な検索が必要であろう。

一方、傍皮質の大部分のリンパ球が ATPase 活性を欠き、逆に β -Gase や ACPase が1個の点状活性を示したことは、T細胞としての酵素組織化学的特徴を呈示するものであり、PH-L のリンパ節における本細胞の増加が推察される。これに関連して Check ら²¹⁾、橋本ら²⁴⁾は PH-L を示すリンパ節に PHA 幼若化反応や cytotoxicity の亢進が認められることから、PH-L を細胞性免疫の亢進の形態学的表現と考えている。

他方、リンパ洞の拡張とその洞内に大型単核細胞の増生を特徴とする SH については、その本体が組織球すなわちマクロファージか、あるいは細網細胞なのか議論がある。今回の検索では、主体をなす細胞には強い ACPase 活性が認められ、活発な食作用の存在が示唆された。また洞内には中等度の ACPase 活性を示す紡錘型細胞も観察された。最近の Sakuma²⁶⁾や Fujita ら²⁹⁾の細網細胞と組織球との鑑別に関する報告によれば、ACPase 中等度活性の紡錘型細胞は細網細胞に相当し、一方、ACPase 強陽性の大型単核細胞は組織球すなわちマクロファージに相当し、SH の主体をなすものと考えられている。

SH とリンパ節転移との関係では、高度な SH を示す症例には組織学的な転移陰性例が多いこと⁴⁾、リンパ洞は原発巣からリンパ節に到達した癌細胞の最初の侵入部位であることから、SH は所属リンパ節において早期にあらわれる宿主の抗腫瘍反応の一つであると考えられる。

このように担癌生体の所属リンパ節反応形態は、単に原発巣からの感染、壊死などの二次的な影響によって生ずるものとの解釈だけでは不十分で、T、B細胞やマクロファージを主役とする宿主反応の形態学的表現であると思われた。

結 論

口腔癌患者の所属リンパ節における反応形態について酵素組織化学的検討を行った。

その結果、胚中心の過形成 germinal center hyperplasia はB細胞の、傍皮質の肥厚 paracortical area hyperplasia lymphocyte predominance はT細胞の、洞組織球症 sinus histiocytosis はマクロファージの増生を示しており、これらは腫瘍に対する宿主反応の形態学的表現と考えられた。

本論文の要旨は、第27回日本口腔外科学会総会（昭和57年9月30日）において発表した。

引 用 文 献

- 1) Sato, H.: Experimental studies on the mechanism of metastasis formation. *Acta Pathol Jap* 9 (Suppl): 685 1959.
- 2) Fisher, B., Fisher, E.R.: Studies concerning the regional lymph node in cancer. I Initiation of immunity. *Cancer* 27: 1001 1971.
- 3) Fisher, B., Fisher, E.R.: Studies concerning the regional lymph node in Cancer. II Maintenance of immunity. *Cancer* 29: 1496 1972.
- 4) 本間義郎: 口腔癌の頸部リンパ節転移に関する研究. *日口外誌* 28: 1667 1982.
- 5) Hayashi, M., et al.: The cytologic demonstration of β -glucuronidase employing naphthol AS-BI glucuronide and hexazonium pararosanilin. *J Histochem Cytochem* 12: 239 1964.
- 6) Barka, T., Anderson, P.J.: Histochemical method for acidphosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. *J Histochem Cytochem* 10: 741 1963.
- 7) Wachstein, M., Meisel, E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at physiologic pH. *Am J Clin Pathol* 27: 13 1957.
- 8) 山田英智, 他監訳: プルーム, フォーセット組織学 I. 第1版, 廣川書店, 東京, 1979, 499頁.
- 9) Arno, J.: Atlas of Lymph Node Pathology. ed 1, MTP Press Limited, Lancaster, 1980, p 15.
- 10) 飯島宗一, 他: 炎症と生体防禦. 第1版, 岩波書店, 東京, 1976, 87頁.
- 11) Kurokawa, Y.: Experiments on lymph node metastasis by intralymphatic inoculation of rat as ascites tumor cell, with special reference to lodgement, passage and growth of tumor cell in lymph node. *Gann* 51: 416 1970.
- 12) Black, M.M., et al.: Lymph node structure in patients with cancer of breast. *Am J Pathol* 29: 505 1953.
- 13) 佐藤安子, 他: 子宮癌所属リンパ節の組織像と予後. *日産婦誌* 27: 175 1975.
- 14) Patt, D.J., et al.: Mesocolic lymph node histology is an important prognostic indicator for patients with carcinoma of the sigmoid-colon: An immunomorphologic study. *Cancer* 35: 1388 1975.
- 15) Kaufman, M., et al.: Immunomorphological lymph node changes in patients with operable bronchogenic squamous cell carcinoma. *Cancer* 39: 2371 1977.
- 16) 高倉英博, 他: 肺末梢腺癌, Stage Ia の所属リンパ節における形態学的免疫応答と予後. 癌の臨床 29: 777 1983.
- 17) 加辺純雄, 他: 胃癌主病巣における細胞性間質反応. *日癌治* 18: 666 1983.
- 18) 山岸久一: ヒト胃癌におけるリンパ節防禦機構に関する研究. *京府医大誌* 86: 161 1977.
- 19) 本間義郎, 他: 口腔癌の頸部リンパ節転移に関する研究. 第3報 リンパ節反応形態について. *日口外誌* 28: 2219 1982.
- 20) Hunter, R.L., et al.: Survival with mammary cancer related to the interaction of germinal center hyperplasia and sinus histiocytosis in axillary and internal mammary lymph node. *Cancer* 36: 528 1975.
- 21) Check, I.J., et al.: The relationship between cytotoxicity and prognostic significance histologic changes in lymph node from patients with cancer of the breast. *Am J Pathol* 98: 325 1980.
- 22) Tsakrakleides, V., et al.: In vitro studies of axillary lymph node cells in patients with breast cancer. *J Nat Cancer Inst* 54: 549 1975.
- 23) 阿部力哉, 他: 癌患者における所属リンパ節の役割. *医学のあゆみ* 93: 684 1975.
- 24) 橋本 勇, 他: 担癌生体のリンパ節の抗腫瘍性に関する研究. 第3報. *京府医大誌* 84: 457 1975.
- 25) Lennert, K., Rinneberg, H.: Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens. II Adenosinetriphosphatase und 5-Nucleotidase in Lymphknotenschnitt. *Klin Wochenschr* 17: 923 1961.
- 26) Barr, R.D., Perry, S.: Lysosomal acid hydrolase in human lymphocyte subpopulation. *Brit J Haematol* 32: 565 1976.
- 27) 三方淳男, 他: 血球・免疫学——特にリンパ系腫瘍への応用. 組織細胞化学の基礎と応用. 第1版, 学際企画, 東京, 1979, 129頁.
- 28) Sakuma, H., et al.: An electron microscopic study on the reticuloendothelial cell in the

- lymph node. Acta Patol Jap 31: 499 1981.
29) Fujita, T., et al.: Scanning electron microscope observation of the dog mesenteric lymph

node. Z Zellforsch Mikrosk Anat 133: 147 1972.