原 著 II

胃癌組織における樹状細胞, マクロファージ およびリンパ球の免疫組織化学的検討

岩瀬 弘明, 森瀬 公友

名古屋大学医学部第1内科

(平成3年9月4日受付)
(平成3年12月4日受理)

Immunohistochemical study of dendritic cells, macrophages and lymphocytes in gastric cancer

Hiroaki Iwase and Kimitomo Morise

The First Department of Internal Medicine, Nagoya University School of Medicine

Infiltration of dendritic cells, macrophages and lymphocytes into tumor tissues was immunohistochemically investigated using new monoclonal antibodies ID-1 for dendritic cells and CD68 for macrophages in 68 patients with gastric cancer. A serial section technique and double staining method were used for the phenotypic analysis. In the normal mucosa, ID-1⁺ cells were located under the surface epithelium, while CD68⁺ cells were widely distributed in the lamina propria. Most of ID-1⁺ cells and CD68⁺ cells in the normal mucosa were negative for ICAM-1 and activated markers of CD25 and HLA-DR antigens. In cases of mucosal cancer, the numbers of ID-1⁺ cells and CD68⁺ cells in the cancer tissue were similar to the normal mucosa. When cancer cells invaded the submucosa, ID-1⁺ cells and CD68⁺ cells were significantly increased in the cancer tissue except for the cases of signet ring cell carcinoma. The increased ID-1⁺ cells were positive for ICAM-1, HLA-DR, CD25 and CD11c, while most of CD68⁺ cells were negative for ICAM-1 and CD25 antigens. Further, ID-1⁺ cells were predominantly distributed adjacent to the tumor tissues with a marked infiltration of CD3⁺ cells. Conversely, CD68⁺ cells were distributed in the cancer stroma and necrotic tissues without CD3⁺ cell infiltration. These findings suggested that ID-1⁺ dendritic cells play a crucial role in the immune response against the cancer tissue.

Key words: Immunohistochemical study, gastric cancer, dendritic cells, macrophages

結 言

癌の局所においてはリンパ球をはじめとして多くの単核球の浸潤がみられる。胃癌においてはBlack¹⁾らは癌組織のリンパ球浸潤の程度が予後と関連し、Watanabe²⁾らも癌組織間質におけるリンパ球および形質細胞の浸潤が長期生存に寄与している。また最近のモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検討から浸潤細胞の多くはT細胞とされている³⁾。T細胞の免疫応答には、樹状細胞およびマクロファージなどの抗原提示細胞^{4,5)}の存在が必要であり、またこの免疫反応の起点に細胞接着分子が重要な働きをしていることが示されている⁶⁾。しかし、胃癌組織内におけるTリンパ球と樹状細胞、マクロファージの分布および局在あるいは癌の進行度および組織型との関連については未だ不明な点が多い。今回我々は、樹状細胞あるいはマクロファージを認識する二つの新しいモノクローナル抗体 (ID-1⁷⁾, CD68⁸⁾) を使用し、胃癌組織内のリンパ球、マクロファージ、および樹状細胞を中心とした胃癌局所の免疫応答について免疫組織化学的に検討したので報告する。

対 象 と 方 法

1. 対象

名古屋大学第1内科および関連施設において切除された早期胃癌32例、進行胃癌36例の計68例を対象とした。68例の内訳は胃癌取扱規規約(改訂第11版)⁹⁾により、粘膜(m)癌は16例(管状腺癌 tub: 6例, 低分化腺癌 por: 5例, 印環細胞癌 sig: 例)であり、深達度が粘膜下層のsm癌は16例(tub 6例, por 5例, sig 5例), 固有筋層浸潤のpm癌は18例(tub 8例, por 5例, sig 5例), 漿膜下組織層またはそれ以上に深達したss, s癌は18例(tub 8例, por 5例, sig 5例)であった。また癌層から十分に離れた各々の正常と思われる非癌部胃粘膜を対照とした。

2. 方法

1) 手術材料

手術で得られた標本から非癌部胃粘膜, 癌先進部, 癌中心部の3箇所組織を採取し、免疫組織化学的検索の材料とした。

2) 免疫組織化学的方法

①酵素抗体間接法

採取した組織を直ちに periodate-lysine-par-

aformaldehyde (PLP) 液にて 4℃ で 6 時間固定し、sucrose 添加 PBS で洗浄した後 OCT compound に包埋し、ドライアイス・エタノール中で急速凍結した。凍結後 cryostat にて厚さ 6μm の連続切片を作製し、酸素抗体間接法で検討した。また、同時にヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、光顕的観察により胃癌の組織学的分類と深達度分類を行った。使用した一次抗体は、リンパ球サブセットの検討には Leu2a (CD8), Leu3a (CD4), Leu4 (CD3) (いずれも Becton & Dickinson 社製) を用い、樹状細胞またはマクロファージの検討には LeuM₅ (CD11c: Becton & Dickinson 社製), 抗 S-100 蛋白抗体 (DAKO 社製), M814 (CD68: DAKO 社製) および Interdigitating cell sarcoma より作製され、樹状細胞を認識する ID-1 (名古屋大学第1病理学教室より供与) を使用した。Class II MHC 抗原の検討には抗 HLA-DR 抗体 (Becton & Dickinson 社製) および interleukin 2 receptor (IL-2R, CD25) 抗体として TIA (第2回国際ヒト白血球抗原ワークショップより提供)¹⁰⁾ を用いた。また、細胞接着分子の検討には ICAM-1 抗体 (CD54: Immunotech 社製) およびそのリガンドを認識する LFA-1 抗体 (CD11a: DAKO 社製) を使用した。使用した抗体の抗体名, CD 分類, 染色時の希釈倍数等を表 1 に示した。切片上に一次抗体を載せ、4℃ の湿箱中で overnight 反応させた後、二次抗体は horseradish peroxidase (HRP) 標識ヤギ抗マウス抗体 (DAKO 社製) またはヤギ抗ウサギ抗体 (MBL 鳴海社製, 抗 S-100 蛋白抗体の二次抗体に使用) を用いて室温で 1 時間反応を行い、DAB 加 Tris-HCl 緩衝液で発色させた。対比染色は methyl green で行った。なお、内因性ペルオキシダーゼを阻止するために、一次抗体反応後 0.3% H₂O₂ 加メタノールによる 20 分間処理と、DAB 反応液中に 10mM のアジナトリウムを添加を行った。

②酵素抗体法による二重染色

酵素抗体間接法による DAB 発色後、0.1M グリシン塩酸緩衝液 (pH2.2) 中で 2 時間攪拌洗浄した後、さらにリン酸緩衝液にて洗浄を行い、再度酵素抗体間接法で一次抗体、二次抗体を用いて反応させた。なお、この場合は発色剤に 4-chloro-1-naphthol を使用した。

3) 陽性細胞の分布および細胞数の定量的測定

光学顕微鏡を用いて、連続切片に於ける各種モノクローナル抗体陽性細胞の分布を観察すると共に、

表1 使用抗体一覧表

モノクローナル 抗体名	CD 番号	染色特異性	染色時の抗体 希釈倍数	製造元
Leu2a	CD8	suppressor/cytotoxic T 細胞 NK subset	×100	Becton & Dickinson
Leu3a	CD4	inducer/helper T 細胞, 単球	×100	Becton & Dickinson
Leu4	CD3	成熟 T 細胞	×100	Becton & Dickinson
LFA-1	CD11a	leukocyte function-associated antigen	×100	DAKO
ICAM-1	CD54	樹状細胞, マクロファージ 血管内皮細胞, 線維芽細胞	×200	Immunotech
IL-2R	CD25	活性化 T 細胞, 活性化 B 細胞, NK 細胞	×100	第2回国際ヒト白血球抗原 ワークショップより供与
LeuM ₅	CD11c	単球, 顆粒球	×100	Becton & Dickinson
M814	CD68	マクロファージ, 顆粒球	×100	DAKO
ID-1	—	樹状細胞, interdigitating cell sarcoma	×100	名古屋大学第一病理より供与
S-100蛋白	—	樹状細胞, 神経組織	×1000	DAKO
HLA-DR	—	class-II MHC 抗原	×1000	Becton & Dickinson

各陽性細胞のうち, CD8⁺, CD4⁺, CD3⁺, ID-1⁺, CD68⁺細胞については定量的に分布密度の測定を行った。すなわち, 各陽性細胞を oculometer を用いて200倍の視野で癌組織中心部, 先進部および非癌部胃粘膜の各部位において3視野をcountして平均を算出し, 切片表面1mm²当りの細胞数として表わした。

なお, 対照群および癌組織において各陽性細胞数とCD4/CD8比は, すべて平均値±標準偏差で表わした。また陽性細胞数の有意差検定はt検定(t-test for matched pairs)を用いた。

4) 二重染色による ID-1⁺および CD68⁺細胞の phenotype の検索

ID-1⁺および CD68⁺細胞の phenotype を検討するために, それぞれ LeuM₅, HLA-DR, TIA, S-100, ICAM-1, LFA-1抗体との二重染色を行った。ID-1⁺および CD68⁺細胞に対する double positive cell の比率を求め以下のように定性的に表示した。

—: 0%, ±: 1/10未満, +: 1/10以上~1/3未満,
++: 1/3以上~2/3未満, +++: 2/3以上

結 果

1. 各陽性細胞の分布

1) 非癌部胃粘膜について

胃粘膜に浸潤するリンパ球は主に CD3⁺細胞であり, また ID-1⁺細胞は上皮直下に限局していたが, CD68⁺細胞は上皮直下から粘膜固有層にわたり比較的均等に分布していた。ミラー切片による検索では ID-1⁺細胞と CD68⁺細胞の分布の差異が認められた(図1)。また粘膜固有層のリンパ小節周囲には ID-1⁺細胞が多数みられたが, CD68⁺細胞はリンパ小節中心部に散在していた。ICAM-1は血管内皮のみ陽性で, LFA-1⁺細胞はほとんどみられなかった。

2) 胃癌組織について

ID-1⁺, および CD68⁺細胞は m 癌においては非癌部胃粘膜と比較して分布の様式に差異はなかった。ICAM-1は血管内皮のみ陽性で, LFA-1⁺細胞は少数みられた(図2)。癌細胞が粘膜下層より深部に浸潤した場合, 癌組織の先進部では ID-1⁺細胞は癌細胞周囲で増加し, CD68⁺細胞は癌組織間質に均等に増加していた。ICAM-1⁺細胞は血管内皮のみならず

図1 胃粘膜における ID-1⁺, CD68⁺細胞浸潤
ID-1⁺細胞は上皮直下に限局していたが、
CD68⁺細胞は上皮直下から粘膜固有層にわた
り比較的均一に分布していた。

ID-1⁺細胞とはほぼ同様に分布し、その周囲には LFA-1⁺リンパ球が増加していた(図3)。進行胃癌先進部における ID-1 と CD 3 抗体の二重染色では、癌細胞巣周囲に ID-1⁺細胞浸潤が著明であり、また ID-1⁺細胞の周囲に CD3⁺細胞が多数集まっていた(図4)。組織型別の検索では、管状腺癌と低分化腺癌の癌組織の先進部に ID-1⁺, CD68⁺, TIA⁺, HLA-DR⁺細胞の浸潤が高度にみられた。癌組織中心部においては先進部に比べ CD68⁺細胞はさらに増加していた(図5)が、ID-1⁺細胞の浸潤は軽度であった。一方、印環細胞癌においては、癌組織の先進部と中心部はともに ID-1⁺と CD68⁺細胞の浸潤は少なく、また ICAM-1⁺, LFA-1⁺, TIA⁺, HLA-DR⁺細胞もほとんどみられなかった(図6)。

3) 二重染色による ID-1⁺, CD68⁺細胞の phenotype の検索(表2)

非癌部胃粘膜における ID-1⁺細胞は、多数(卅)が

CD11c (LeuM₅) 陽性で、一部(+)が HLA-DR 陽性であったが、TIA, S-100蛋白の陽性率はわずか(±)であった。細胞接着分子の ICAM-1およびそのリガンドの LFA-1の発現はみられなかった。CD68⁺細胞も多数(卅)が CD11c 陽性で、一部(+)が HLA-DR 陽性であったが、TIA, S-100蛋白, ICAM-1, LFA-1の発現はなかった。

癌組織の先進部では ID-1⁺細胞は HLA-DR, TIA を発現する細胞が多く(卅)みられ(図7 a, 7 b), ICAM-1はほとんど(卅)の細胞が陽性であった(図8)。また CD68⁺細胞は癌組織間質で主に増加しており、約半数(卅)が HLA-DR⁺であったが、LFA-1の発現は陰性で、ICAM-1の発現は軽度(±)であった。連続切片による検討でも CD68⁺細胞の局在部位に LFA-1⁺細胞はみられず、一部の細胞が ICAM-1陽性を示した(図9)。癌組織の中心部では ID-1⁺細胞の HLA-DR と TIA の発現の比率は各々(卅), (±)に減少していた。また、ICAM-1と LFA-1を発現するものはほとんどみられなかった。CD68⁺細胞は癌組織の先進部に比べ HLA-DR の発現が増加(卅)していたが、TIA の発現は減少(±)していた。ICAM-1 の発現は一部(±)の細胞にみられたが、S-100蛋白と LFA-1はすべて陰性であった。

2. 各陽性細胞の分布密度

1) ID-1⁺細胞数(図10)

管状腺癌と低分化腺癌の癌組織の先進部および中心部に浸潤する ID-1⁺細胞数は m 癌においては対照の非癌部に比較して統計上で有意の差はなかった。管状腺癌の sm 癌では、癌組織の先進部では $474 \pm 68/\text{mm}^2$, 中心部では $450 \pm 70/\text{mm}^2$ であり、非癌部 $240 \pm 78/\text{mm}^2$ に比して有意に増加していた。pm および ss, s 癌では癌組織の先進部は各々 $472 \pm 97/\text{mm}^2$, $480 \pm 122/\text{mm}^2$ で、中心部では $384 \pm 57/\text{mm}^2$, $289 \pm 60/\text{mm}^2$ であり、対照の非癌部 $187 \pm 60/\text{mm}^2$, $209 \pm 95/\text{mm}^2$ に比較して有意な増加がみられた。低分化腺癌は、sm 癌では、癌組織の先進部で $446 \pm 59/\text{mm}^2$ で、中心部で $425 \pm 66/\text{mm}^2$ であり、非癌部 $281 \pm 56/\text{mm}^2$ に比して増加していた。pm および ss, s 癌では、癌組織の先進部は各々 $377 \pm 69/\text{mm}^2$, $355 \pm 104/\text{mm}^2$ で中心部は $293 \pm 57/\text{mm}^2$, $251 \pm 96/\text{mm}^2$ であり、非癌部 $233 \pm 48/\text{mm}^2$, $222 \pm 76/\text{mm}^2$ に比較して先進部のみに有意な増加がみられ、中心部で差はなかった。

印環細胞癌では m, sm, pm, ss, s 癌の先進部組織と中心部に浸潤する ID-1⁺細胞の数は各々非癌部

図2 m 癌組織における ID-1⁺, CD68⁺, ICAM-1⁺, LFA-1⁺細胞浸潤
ID-1⁺, CD68⁺細胞は散在し, ICAM-1は血管内皮のみ陽性で LFA-1⁺リンパ球は少数みられた。

図3 sm 癌組織における ID-1⁺, CD68⁺, ICAM-1⁺, LFA-1⁺細胞浸潤
ID-1⁺細胞は癌組織周囲にまた CD68⁺細胞は癌組織の間質を主に増加していた。
ICAM-1⁺細胞は ID-1⁺細胞とほぼ同様に分布し, 周囲には LFA-1⁺細胞が増加していた。

図4 進行胃癌先進部における ID-1⁺, CD3⁺細胞浸潤 (二重染色)
胃癌先進部においては ID-1⁺細胞浸潤 (茶▲) が著明で, 周囲には CD3⁺細胞 (青▲) 浸潤を伴っている。

図5 癌中心部における CD68⁺細胞浸潤
癌中心部では先進部に比べ CD68⁺細胞浸潤は増加していた。

に比べ統計上の有意な差はみられなかった。

2) CD68⁺細胞数 (図11)

管状腺癌と低分化腺癌の m 癌においては, 癌組織の先進部および中心部に浸潤する CD68⁺細胞数は

非癌部に比して変化はなかった。管状腺癌の sm および pm 癌では, 各々, 癌組織の先進部では $505 \pm 83/\text{mm}^2$, $635 \pm 105/\text{mm}^2$ で, 中心部では $771 \pm 70/\text{mm}^2$, $834 \pm 103/\text{mm}^2$ であり, 非癌部 $301 \pm 63/\text{mm}^2$, $233 \pm$

図 6 印環細胞癌組織における ID-1⁺, CD68⁺, ICAM-1⁺, LFA-1⁺細胞浸潤
印環細胞癌組織においては ID-1⁺, CD68⁺細胞浸潤は著明でなく, ICAM-1⁺, LFA-1⁺細胞もほとんどみられなかった。

表 2 二重染色による ID-1および CD68陽性細胞の phenotype

	部位	LeuM ₅	HLA-DR	TIA	S-100	ICAM-1	LFA-1
ID-1	非癌部	卅	+	±	+	—	—
	先進部	卅	卅	卅	+	卅	+
	癌	卅	卅	±	±~+	±	—
CD68	非癌部	卅	+	—	—	—	—
	先進部	卅	卅	+	—	±	—
	癌	卅	卅	±	—	±	—

Double positive cell の比率
— 0, ± 1/10未満
+ 1/10以上~1/3未満
卅 1/3以上~2/3未満
卅 2/3以上

48/mm²に比して有意に増加していた。低分化腺癌の sm および pm 癌は, 癌組織の先進部では543±145/mm², 542±203/mm²で, 中心部では742±88/mm², 737±188/mm²であり, 非癌部369±89/mm², 335±87/mm²に比して有意に増加していた。この変動は管状腺癌, 低分化腺癌ともに ss, s 癌でも同様で, 癌組織の先進部から中心部に移るに従い CD68⁺

細胞は増加していた。
印環細胞癌では, m, sm, pm, ss, s 癌の癌組織の先進部と中心に浸潤する CD68⁺細胞数は, 各々非癌部に比べ進行癌の中心部のみに増加がみられ, 他に差はなかった。
3) CD3⁺細胞数 (図12)
管状腺癌, 低分化腺癌の m 癌では, 癌組織の先進

図7 癌先進部におけるID-1+細胞浸潤(二重染色)
a: ID-1+細胞のほとんどはHLA-DR陽性(▲)であった。
b: ID-1+細胞の多くはCD25陽性(▲)であった。

部と中心部に浸潤するCD3+細胞数は非癌部と差違はなかった。管状腺癌のsm癌では、癌組織の先進部は $1239 \pm 344/\text{mm}^2$ で、中心部は $1083 \pm 291/\text{mm}^2$ であり、非癌部 $921 \pm 304/\text{mm}^2$ に比して有意に増加していた。低分化腺癌のsm癌では、癌組織の先進部は $1326 \pm 295/\text{mm}^2$ で、中心部は $1272 \pm 263/\text{mm}^2$ であり、非癌部 $1002 \pm 229/\text{mm}^2$ に比して増加していた。管状腺癌のpmまたはss、s癌では癌組織の先進部では各々 $1341 \pm 428/\text{mm}^2$ 、 $1350 \pm 331/\text{mm}^2$ で、中心部では $919 \pm 251/\text{mm}^2$ 、 $702 \pm 193/\text{mm}^2$ であり、非癌部に比較して癌組織の先進部のみに増加がみられた。低分化腺癌のpm癌またはss、s癌では癌組織の先進部は各々 $1186 \pm 180/\text{mm}^2$ 、 $1259 \pm 421/\text{mm}^2$ で、中心部では $880 \pm 277/\text{mm}^2$ 、 $659 \pm 241/\text{mm}^2$ であり、非癌部に比較して先進部のみで増加がみられたが、ss、s癌では中心部は減少していた。

印環細胞癌では、m、sm、pm、ss、s癌の癌組織の先進部と中心部に浸潤するCD3陽性細胞数は各々非癌部に比べm、ss、s癌の中心部のみ減少し、他は差違がなかった。

4) CD4/8比の変動(図13)

管状腺癌、低分化腺癌ともに非癌部粘膜、癌先進部、中心部におけるCD4/8比はm癌においては変動はなかったが、smより進行した癌組織の先進部

図8 癌先進部におけるID-1+細胞(二重染色)
ID-1+細胞はICAM-1陽性(▲)であった。

図9 癌先進部における CD68⁺, ICAM-1⁺細胞

a: CD68⁺細胞, b: ICAM-1⁺細胞

連続切片の検討では, CD68⁺細胞(▲)は多数の樹状形態を呈する細胞に染色されたが, ICAM-1⁺細胞(↑)は血管内皮と一部の樹状形態を呈する細胞に陽性所見を示すのみであった。

と中心部では CD4/8比が低下していた。CD4/8比の低下は管状腺癌の方が低分化腺癌よりも著明であった。

印環細胞癌では癌組織の先進部および中心部における CD4/8比は m, sm, pm, ss, s 癌において差はなかった。

考 察

近年, 樹状形態を持つ細胞が多く免疫応答の始動に重要な役割を果たすことが明らかになり, 抗原提示細胞として注目されている⁴⁾⁵⁾。以前は単球/マクロファージ系がその実態であるとされていたが, 最近の研究により単球/マクロファージ系は二つの

グループに分かれ, 一つはクッパー細胞, 肺泡マクロファージなどに代表される貪食能を持つ組織マクロファージであり, 他方は貪食能はないが抗原提示能をもつ樹状細胞であると考えられている。特に樹状細胞が抗原提示細胞として T 細胞との免疫反応に中心的な役割を果たしていることが強く主張されている¹¹⁾。本邦における樹状細胞の免疫組織学的検討は S-100 蛋白抗体を使用した報告¹²⁾¹³⁾が主であったが, 樹状細胞すべてが S-100 蛋白陽性とはいえず, また部位によっては S-100 蛋白陽性の樹状細胞と神経細胞あるいは神経線維が区別できないこともある。今井¹⁴⁾も S-100 蛋白は樹状細胞のマーカーとしては必ずしも特異性があるとは限らないことを報告している。

今回, 我々は新しい 2 つの抗体 (ID-1, CD68) を使用して胃組織の癌部および非癌部における樹状細胞とマクロファージの免疫組織化学的検討を行った。ID-1 抗体は Interdigitating cell sarcoma より作製され, 各臓器組織に分布する Interdigitating cell を認識するモノクローナル抗体であり⁷⁾, 我々の検索では ID-1⁺細胞は非癌部胃粘膜においては上皮直下に散在し, また粘膜固有層のリンパ小節周囲に S-100 蛋白⁺樹状細胞と同様に多数が分布していた。非癌部胃粘膜では ID-1⁺細胞の大部分 CD11c 陽性で, 一部は HLA-DR, TIA を発現していた。CD68 抗体は肺泡マクロファージのリゾチームを抗原として作られた抗体であり, 幅広い組織マクロファージを認識するが樹状細胞とは反応をしない特異性の高い抗体とされている⁸⁾。我々の検索では, CD68⁺細胞は非癌部胃粘膜においては, 上皮直下から粘膜固有層にわたり比較的均等に分布し, 粘膜固有層のリンパ小節では CD68⁺細胞は中心部に散在していた。非癌部胃粘膜では CD68⁺細胞も大部分が CD11c 陽性で, HLA-DR 抗原を発現している細胞も少数みられた。胃粘膜において ID-1⁺および CD68⁺細胞は分布, 局在が異なり, また HLA-DR 抗原, TIA 抗原の発現も異なっているが, ともに CD11c 陽性であることから両者には類似性もあると考えられた。早期胃癌, 特に癌組織が粘膜固有層に局限している場合の局所の免疫応答に関する詳細な研究は少ない。今回, 我々は癌の組織型に加え, 深達度と局所の免疫応答の変化について免疫組織化学的に検討した。癌組織が粘膜固有層に局限している場合, CD68⁺, ID-1⁺細胞の浸潤の程度は非癌部の粘膜と大きな差はなかった。また HLA-DR, TIA, S-100, ICAM-1,

図10 ID-1陽性細胞の変動

LFA-1の発現も非癌部と大きな差はなく、Tリンパ球浸潤の増加もみられなかった。一方粘膜下層以下に進行した管状腺癌および低分化腺癌の癌組織部ではID-1⁺細胞が癌組織周囲に多数浸潤していた。ID-1⁺細胞は癌組織の中心部より先進部に多く浸潤し、HLA-DR, TIAともに陽性で、この細胞の周囲にCD3⁺細胞が多数浸潤していた。さらにHLA-DR, TIA抗体との二重染色による検索からID-1⁺細胞はclass II MHC抗原およびIL-2R抗原を発現し、活性化された状態であると考えられた。稲垣ら¹⁵⁾も胃癌リンパ節の検討でTIA陽性の樹状細胞は活性化された抗原提示細胞と報告している。この様な研究結果から癌組織、特に先進部においてはID-1⁺細胞を中心とした免疫応答がみられ、また深達度あるいは癌の絶対量の違いにより胃癌局所において生体は異なる免疫反応を示すものと考えられた。

癌の組織型の違いによる局所免疫応答の違いは過去にいくつか報告されている¹⁶⁾¹⁷⁾。Furukawaら¹⁶⁾

は、肺癌ではT-zone histiocytesが未分化型腺癌に比して分化型腺癌に多く浸潤しており、癌の組織型の違いにより担癌宿主が異なった反応を示すと報告している。Paplaら¹⁷⁾も、気管支癌において樹状細胞が腺癌に多く、扁平上皮癌にはみられないと報告している。筆者らの今回の胃癌組織の検索では、非癌部胃粘膜と比較して管状腺癌と低分化腺癌の癌組織先進部にはID-1⁺, CD3⁺細胞の著明な浸潤がみられたが、その程度は管状腺癌の方が著明であった。また印環細胞癌では癌組織にID-1⁺, CD3⁺細胞浸潤の増加がみられなかった。柳沢ら¹⁸⁾は印環細胞癌と低分化腺癌では発生母地は異なるとし、また印環細胞癌は粘膜内癌の場合は癌巢内に非癌腺管を多く含みながら浸潤していくと報告している。この様な発生、発育の違い、また生物学的悪性度の違いから、同じ未分化型癌でありながら印環細胞癌と低分化腺癌においては生体の免疫応答が異なると考えられた。

最近になり、T細胞が活性化され、分化、増殖し、

図11 CD68陽性細胞の変動

その機能を発現するには、また effector 細胞として機能するには、T 細胞と樹状細胞および標的細胞とが直接接触することが必須とされ、細胞接着に関する因子として ICAM-1 またそのリガンドとしての LFA-1 が注目を浴びている⁶⁾¹⁹⁾。In vitro の T 細胞活性化に関して抗原提示細胞が MHC 分子だけ発現しているものより MHC 分子と ICAM-1 分子両方を発現している方が活性化の度合いが高いと報告されている²⁰⁾。筆者らの研究でも癌組織の先進部の ID-1⁺細胞は ICAM-1 を発現し、この細胞の周囲には LFA-1 陽性リンパ球が多数集簇しており、癌の局所の免疫反応には接着分子が重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。また、癌組織では非癌部に比して CD4/8 比が減少し CD8⁺細胞が優位になっていた。稲葉¹¹⁾は CD4⁺細胞の関与がなくとも、樹状細胞と CD8⁺細胞が cluster を形成することで

CD8⁺細胞の増殖や cytotoxic T cell への分化が誘導されると述べており、ID-1⁺細胞の増加が CD8⁺細胞浸潤に関連する可能性が考えられた。

ID-1⁺細胞は癌組織の先進部では癌細胞の浸潤が進むに連れ増加していたが、癌組織の中心部では減少し、HLA-DR、TIA、ICAM-1、LFA-1 の発現も減少または消失し、CD3⁺細胞の浸潤も低下していた。一方、CD68⁺細胞は癌組織の間質に多くみられ癌組織の先進部より中心部に多く浸潤していた。これらの増加した CD68⁺細胞は HLA-DR 抗原は陽性であったが、TIA、ICAM-1 の発現はごくわずかであり、周囲に CD3⁺細胞および LFA-1⁺リンパ球の浸潤を伴うことはなかった。この様な分布、発現系の違いから ID-1⁺細胞と CD68⁺細胞は胃癌組織の免疫応答における役割が各々異なると考えられ、癌組織の中心部は潰瘍、細菌感染などの非特異的な炎症がみられるために貪食能を持つ活性化された CD-68⁺細胞(マクロファージ)が増加していると考えられた。Allen²¹⁾らも大腸癌の研究で、癌が進行するにつれ癌組織の中心部に浸潤する細胞は monocyte が主体であり、リンパ節転移のある Dukes 分類 C において最も著明にみられるとし、Seldenrijk ら²²⁾の腸管の研究でも潰瘍などの非特異的な炎症部位には樹状細胞よりマクロファージが多く存在すると報告している。また三宅ら²³⁾の胃癌の研究でも癌の進行とともに樹状細胞は減少しマクロファージが有意に増加すると報告している。

癌巣内においては、樹状細胞、マクロファージ以外にも腫瘍細胞の一部が HLA-DR 抗原あるいは ICAM-1 が陽性になることが報告されている。Sasaki ら²⁴⁾は in vitro において HLA-DR 陽性胃癌細胞がリンパ球を活性化する報告をしており、HLA-DR 陽性胃癌細胞周囲には宿主の癌に対する免疫応答が存在する可能性を示唆している。岡本²⁵⁾は子宮癌の免疫組織化学的検討から癌局所の免疫応答に癌細胞の HLA-DR 抗原の発現が重要な役割を果たすと述べている。また、金井ら²⁶⁾は癌の増殖、転移に癌細胞における ICAM-1 を含めた接着因子の発現が関与している可能性を述べている。一方、血管内皮細胞も多彩な免疫機能を有し、HLA-DR 抗原あるいは ICAM-1 が陽性になることが明らかにされている²⁷⁾。Ohtani ら²⁸⁾は胃癌間質における血管内皮の免疫組織化学的検討で癌の組織型により間質血管の形態と機能状態が異なることから、血管内皮細胞と癌細胞との相互作用に注目をおいている。今後、癌組

図12 CD3陽性細胞の変動

図13 CD4/8比の変化

織内の樹状細胞およびマクロファージと、腫瘍細胞における HLA-DR 抗原あるいは ICAM-1 の発現、さらに腫瘍組織内の血管内皮細胞との関連についての検討が癌と宿主の免疫応答を解明する上で重要であると考えられた。

最近になり、癌組織における樹状細胞の浸潤の程度が予後に反映する報告が多くみられる^{13),16),29)}。Tsujiyama ら¹³⁾は S-100蛋白+樹状細胞が癌に対する宿主の免疫応答に重要な働きがあり、胃癌組織の中に様々な数で存在し、Stage IIIの胃癌においては S-100蛋白+の樹状細胞浸潤の程度の差が予後を反映すると報告している。また同様な報告を Furukawa ら¹⁶⁾も肺癌の Stage Iaにおいて、また Ambe ら²⁹⁾は転移のない大腸癌において報告している。この様な研究結果から樹状細胞を介した免疫防御機構が癌

の発育のある時期に予後に関して有効に働いていることが考えられる。ID-1+細胞は、癌組織の樹状細胞の指標として有用であり、S-100蛋白+樹状細胞と同様に ID-1+細胞の浸潤程度が予後を反映する可能性があると考えられた。今回の検討において胃癌局所に樹状細胞、マクロファージを介した癌に関連した免疫応答の存在が示唆されたが、樹状細胞、マクロファージの実際の機能に関してはまだ不明な点が多い。今後 in vivo, in vitro 含めた詳細な検討が胃癌に対する宿主の免疫応答の解明に必要と考えられた。

結 語

早期胃癌32例、進行胃癌36例の計68例を対象として胃癌組織のリンパ球、樹状細胞、およびマクロフ

フェージを中心とした免疫組織化学的検討を行い、以下の結論を得た。

1) m 癌または印環細胞癌においてはリンパ球、樹状細胞、マクロファージの変動は非癌部胃粘膜と比較して特に変化はみられなかった。

2) 癌組織の中心部ではリンパ球、樹状細胞は減少し、マクロファージが増加していた。

3) 管状腺癌および低分化腺癌の癌組織先進部は TIA⁺, HLA-DR⁺, ICAM-1⁺の ID-1⁺細胞と LFA-1⁺の T 細胞とが増加していた。これらの結果から胃癌局所、特に癌組織の先進部において癌に密接に

関連した免疫応答の存在が示唆された。

本論文の要旨は、第31回日本網内系学会総会において報告した。

稿を終えるに臨み、本研究に御指導を賜りました名古屋大学第一内科斎藤英彦教授に感謝の意を表し、同時に御助言、御校閲をいただきました第一病理学浅井淳平教授に深謝致します。また御協力をいただいた名古屋大学病理学第一講座の諸先生、技術員の皆様ならびに名古屋大学第一内科の医療機関の諸先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- Black MM, Freeman C, Mork T, Harvei S, Cutler J: Prognostic significance of macroscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymph nodes. *Cancer* 27: 703-711 1971
- Watanabe H, Enjoji M, Imai T: Gastric carcinoma with lymphoid stroma. *Cancer* 38: 232-243 1976
- 笠井潔, 今村正克, 平塚博義: 人胃癌組織に浸潤する細胞および細胞亜群の免疫組織学的検索. *癌の臨床* 29: 981-985 1983
- Unanue ER: Antigen-presenting function of the macrophage. *Ann Rev Immunol* 2: 395-423 1984
- Tew JG, Thorbecke GJ, Steinman RM: Dendritic cells in the immune response. *J Reticuloendthel Soc* 31: 371-380 1982
- Springer TA: Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346: 425-430 1990
- Nakamura S, Suchi T, Suzuki R, Takagi N, Kitoh K, Osada H, Ueda R, Takahashi T, Hiai H, Kato K, Nakayama A, Asai J: Interdigitating cell sarcoma(ICS) Evidence of interdigitating cell origin, immunocytochemical studies with monoclonal anti-ICS antibodies. *Virchows Archiv A pathol Anat* 415: 447-457 1989
- Pulford KAF, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, Mason DY: KP1-a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. *J Clin Pathol* 42: 414-421 1989
- 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約改訂11版. 金原出版 東京 pp41-75 1985
- Morisima Y, Noumi T, Ohya K: The diversity of T cell activation antigens Serological analysis including their expression on non-T acute lymphoblastic leukemia patients. In *Leucocyte Typing II* 1: 167-172 1986
- 稲葉カヨ: 樹状細胞と免疫応答. *臨床免疫* 21: 264-283 1989
- Takahashi K, Yamaguchi U, Ishizeki J, Nakajima T, Nakazato Y: Immunohistochemical and immunoelectron microscopic localization of S-100 protein in the interdigitating reticulum cells of the human lymph node. *Virchows Arch* 37: 125-131 1981
- Tsujitani S, Kakeji Y, Watanabe A, Kohnoe S, Maehara Y, Sugimachi K: Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 66: 2012-2016 1990
- 今井大: 消化器と網内系. *消化器と免疫* 17: 1-17 1986
- 稲垣貴史, 森瀬公友, 森島泰雄, 原一夫: 胃癌所属リンパ節の免疫組織学的検討. *日消病会誌* 84: 840-850 1987
- Furukawa T, Watanabe S, Kodama T, Sato Y, Shimosato Y, Suematsu K: T-Zone histiocytes in adenocarcinoma of the lung in relation to postoperative prognosis. *Cancer* 56: 2651-2656 1985
- Papla B, Dubiel-Bigaj M, Stachura J: Dendritic cells in bronchial adenocarcinoma. *Folia Histochemica* 26: 99-104 1988
- 柳沢昭夫, 加藤洋, 菅野晴夫: 微小未分化型胃癌の発

- 生母地と発育進展形式. 胃と腸 24 : 1335-1343 1989
- 19) Dustin ML, Springer TA : T-cell receptor cross-linking transiently stimulates adhesiveness through LFA-1. *Nature* 341 : 619-624 1989
 - 20) Altmann DM, Hogg N, Trouwdsale J : Cotransfection of ICAM-1 and HLA-DR reconstitutes human antigen-presenting cell function in mouse L cells. *Nature* 338 : 512-514 1989
 - 21) Allen C, Hogg N : Monocytes and infiltrating cells in human colorectal tumours indentified by monoclonal antibodies. *Immunology* 55 : 289-299 1985
 - 22) Seldenrijk CA, Dreyhage HA, Meuwissen SGM, Pals ST, Meijer CJ : Dendritic cells and scavenger macrophages in chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 30 : 484-491 1989
 - 23) 三宅規之, 岡林孝弘, 竹田巧, 丁野真太郎, 田中出, 金田道弘, 下山均, 折田薫三, 堀見忠司, 近藤慶二, 小林省二 : 胃癌組織における抗原提示細胞の免疫組織学的解析. *消化器外科* 11 : 89-94 1988
 - 24) Sasaki K, Takiguchi M, Mori S, Kobori O, Morioka Y, Inoko H, Sekiguchi M, Kano K : Expression and function of class II antigen on gastric carcinoma cells and gastric epithelia : differential expression of DR, DQ, and DP antigens. *JNCI* 79 : 923-931 1987
 - 25) 岡本吉明 : 子宮頸癌病巣局所免疫応答に関する免疫組織化学的研究. *日産婦誌* 42 : 456-462 1990
 - 26) 金井隆典, 高島純哉, 塩沢昌英, 安田健次郎, 日比紀文, 土屋雅春 : 癌細胞の接着機序. *臨床免疫* 23 : 1249-1254 1991
 - 27) 名倉宏, 血管内皮細胞の免疫機能. *病理と臨床* 9 : 26-32 1991
 - 28) Ohtani H, Nagura H : Differing microvasculature in the two major types of gastric carcinoma : a conventional, ultrastructural and ultrastructural immunolocalization study of von Willebrand factor. *Virchows Arch A* 417 : 29-35 1990
 - 29) Ambe K, Mori M, Enjoji M : S-100 Protein positive dendritic cells in colorectal adenocarcinomas. *Cancer* 63 : 496-503 1988