

大腸癌組織発生、増殖、進展の過程における局所免疫の
関与についての免疫組織化学的研究

久保田 芳 郎

大腸癌組織発生、増殖、進展の過程における局所免疫の 関与についての免疫組織化学的研究

久保田 芳郎

緒言

発癌要因が働いて細胞が癌化し、癌化した細胞が増殖し始める初期段階において、癌細胞は生体の恒常性維持機構の1つである免疫系の制御をうけていると考えられる。ごく早期の癌にみられる血管新生を伴わない組織像や発癌部位の粘膜上皮内にとどまっている微小癌は局所の生体維持のコントロールをうけている状態とも考えられ、浸潤し転移することがないので臨床的には良性として捉えられている。この微小癌が浸潤していく過程こそ癌の生物学的悪性を示す本質といえる。担癌生体の腫瘍に対する局所免疫反応があるとするれば、腫瘍と生体との接点である増殖局所において表現されと考えられる。実際ほとんどの腫瘍の増殖先進部や固間質には様々な細胞反応がみられ、また癌組織において細胞浸潤の程度が強いほどその宿主の予後はよいとされている^{1)~6)}。一方、大腸癌の組織発生に関しては従来から様々な研究が行なわれ、腺腫を母地にして発生するものが多いという考えが最も広く支持されている^{6)~7)}。この大腸癌組織発生、増殖、進展の過程において腫瘍と生体との反応はどのように行なわれ、またどのように変化していくのであろうか。特にヒト大腸癌の発生初期における局所免疫反応に関する報告は皆無である。また大腸腫瘍免疫に関する研究は多数行なわれてきたが、そのほとんどは動物実験あるいはin vitroによるものであり、実際の局所免疫の場である生体を用いた研究は極めて少ない。そこで大腸癌組織発生、増殖、進展の過程における腫瘍と生体との局所免疫反応を直接観察し、癌の発生、進展に伴う局所の変化を明らかにし、組織標本上で腫瘍細胞と炎症性浸潤細胞が直接接触し反応する過程を形態学的に明らかにする目的で以下の2つの研究を行なった。

- I 腫瘍局所浸潤リンパ球サブセットの免疫組織化学的染色と定量的解析
- II 大腸腫瘍における腺管内壊死様物質(debris)の組織発生と腫瘍異型度に伴う変化

本研究の目的は in vivo において大腸腺腫から大腸癌、さらに転移形成に至る局所免疫反応の変化を明らかにし、また腫瘍細胞を壊死に至らしめる免疫担当細胞の同定を形態学的、免疫組織化学的に明らかにすることである。

I 腫瘍局所浸潤リンパ球サブセットの免疫組織化学的染色と定量的解析

担癌生体の腫瘍に対する直接の免疫応答は腫瘍増殖先進部の細胞反応であると考えられる。大腸癌の組織発生、浸潤、転移形成に伴ってこの局所免疫反応がどのように変化するかを明らかにする目的で、大腸腺腫、早期癌、進行癌における組織浸潤リンパ球サブセットを免疫組織化学的に染色し、定量的に解析した。

1 対象と方法

対象：手術およびポリペクトミーで切除された正常大腸粘膜（対照）9病変、大腸腺腫32病変（軽度異型腺腫 24病変、中等度異型腺腫 8病変）、早期癌（mucosal and submucosal cancer）9病変、リンパ節転移および肝転移のない進行癌（進行癌転移（-）と略す）11病変、リンパ節転移または肝転移のある進行癌（進行癌転移（+）と略す）11病変である。

本論文において腺腫、早期癌においては腫瘍増大に伴う虚血性壊死の影響を除外するため、潰瘍形成のない直径 1 cm 以下の腫瘍のみを対象とした。しかし進行癌についてはこの限りでなく、すべて 1 cm 以上の病変であった。

大腸腺腫の組織学的異型度（軽度異型、中等度異型）は WHO 分類⁸⁾ に従い、早期癌は粘膜内癌（mucosal cancer）— WHO の分類の severe dysplasia に相当、と粘膜下層浸潤癌（submucosal cancer）を含めることとした。

軽度異型腺腫：濃染した細長い核が基底膜上に並び、核の大小不同、核分裂像はほとんど認められず、粘液産生が認められる。

中等度異型腺腫：核は楕円形で核濃染性が著名で重層化を示し、核の大小不同も著しく、核分裂像がしばしば認められる。粘液産生は著しく減少し、ほとんど認められないこともある。構造異型は見られない。

早期癌：粘膜内癌（mucosal cancer）— WHO 分類の severe dysplasia
粘膜下層浸潤癌（submucosal cancer）

方法：これらの新鮮凍結標本を用いて、酵素抗体間接法によって腫瘍増殖先進部の浸潤リンパ球サブセットを免疫組織化学的に染色した。リンパ球サブセットに対するモノクローナル抗体として、Leu series (Leu 1: pan T cell, Leu 2a: cytotoxic/suppressor T cell, Leu 3a: helper/inducer T cell, Leu 10: B cell, Leu 11b: natural killer cell/leukocyte; Becton-Dickinson 社)を用いた。

リンパ球サブセット染色方法

1. 手術時又はボリペクトミー時大腸腫瘍組織を採取し、ただちに PLP (periodate-lysine-paraform aldehyde) 液に4℃で 6~12時間固定した。
2. つぎに sucrose 添加 phosphate buffered saline (PBS) 液で sucrose 濃度を 10%, 15%, 20% と上げながら洗浄し、OCT compound で包埋後、アセトンドライアイス-n-ヘキサンで急速凍結させた。
3. クリオスタットで連続に6μの凍結切片を作製し、風乾後 0.5%過沃素酸酸化(10分)処理にて内因性ペルオキシダーゼを阻止した。
4. PBSで洗浄後、正常ヤギ血清(40倍希釈)を組織切片に重層し30分間室温で反応させ 非特異的反応をブロックした。
5. 1次抗体としてモノクローナル抗体 Leu series (Leu 2a, Leu 3a のみ 40倍希釈で、Leu 1, Leu 10, Leu 11b は 100 倍希釈、Becton-Dickinson 社)を用い4℃湿室中で1晩反応させた。
6. 洗浄後、二次抗体として horseradish peroxidase 標識抗マウス-ヤギ F(ab')₂ (Cappel 社、20倍希釈)を用い、室温湿室中にて4時間反応させた。
7. 発色は 5 mM 3-3'-diaminobenzidine-H₂O₂溶液 (Sigma社)で行った。この際、10 mM NaN₃を加えて内因性ペルオキシダーゼ阻止の強化を図った。
8. 核染色は 1% methyl green (PH4.0)を用いた。

リンパ球数の計測は腫瘍増殖先進部の間質内のみ測定し、腫瘍内へのリンパ球浸潤は測定しなかった。

陽性細胞数の算定は 400倍拡大の顕微鏡下で objective micrometer を用い、250×250 μm²の面積当り(間質面積のみで腫瘍面積は含まない)の各リンパ球サブセットの陽性細胞数を定量的に5視野計測して平均値を求めた。有意差検定は one-way analysis of variance(multiple comparison; significant at 95%)による統計的処理により行った。

2 成績 (表1)

(1) Leu 1 陽性細胞数 (pan T cell) (図1)

Leu 1 陽性細胞数 (mean \pm SD/250 \times 250 μ m²) は

対照	89 \pm 28
軽度異型腺腫	142 \pm 57
中等度異型腺腫	193 \pm 127
早期癌	269 \pm 112
進行癌転移(-)	183 \pm 80
進行癌転移(+)	76 \pm 42

であり、対照と比較して腫瘍では T cell 数が進行癌転移(+)を除いて有意に増加していた ($p<0.01$, $p<0.05$)。また腺腫の異型度で比べると中等度異型腺腫では軽度異型腺腫より pan-T cell の絶対数が増加していた ($p<0.01$)。しかし中等度異型腺腫と早期癌との間には差はなかった。癌の進展、転移形成と pan-T cell 数との関係を見ると早期癌で組織浸潤 pan-T cell 数は最も多く、癌の進行とともに減少しており、進行癌では転移が出現すると転移のない病変よりさらに減少していた ($p<0.01$, $p<0.05$) (写真1-6)。

(2) Leu 2 a 陽性細胞数 (cytotoxic/suppressor T cell) (図2)

Leu 2 a 陽性細胞数 (mean \pm SD/250 \times 250 μ m²) は

対照	36 \pm 10
軽度異型腺腫	79 \pm 42
中等度異型腺腫	111 \pm 57
早期癌	186 \pm 49
進行癌転移(-)	88 \pm 55
進行癌転移(+)	67 \pm 47

であり、対照と他の群間に有意差がみられた ($p<0.01$)。腺腫、早期癌、進行癌の転移の有無では差がなかった。(写真7)

(3) Leu 3 a陽性細胞数(helper/inducer T cell) (図3)

Leu 3 a陽性細胞数(mean \pm SD/250 \times 250 μ m²)は

対照	44 \pm 22
軽度異型腺腫	90 \pm 49
中等度異型腺腫	106 \pm 62
早期癌	156 \pm 44
進行癌転移(-)	88 \pm 59
進行癌転移(+)	56 \pm 31

であり、対照と比較して腫瘍では helper/inducer T cell 数が進行癌転移(+)を除いて有意に増加していた($p<0.01$, $p<0.05$)。また癌の進展、転移形成と helper/inducer T cell 数との関係を見ると腺腫、早期癌、進行癌転移(-)との間には差はなかったが転移が出現すると helper/inducer T cell 数は有意に減少していた($p<0.05$)。

(4) Leu 1 0陽性細胞数(B cell) (図4)

Leu 1 0陽性細胞数(mean \pm SD/250 \times 250 μ m²)は

対照	27 \pm 11
軽度異型腺腫	32 \pm 15
中等度異型腺腫	36 \pm 18
早期癌	38 \pm 16
進行癌転移(-)	34 \pm 21
進行癌転移(+)	30 \pm 21

であった。すなわち B cell 数は T cell 数にくらべて少なく、いずれの群間にも有意差がみられなかった。

(5) Leu 1 1 b 陽性細胞(natural killer cell/leukocyte) (図5)

Leu 1 1 b陽性細胞数(mean \pm SD/250 \times 250 μ m²)は

対照	6 ± 4
軽度異型腺腫	43 ± 49
中等度異型腺腫	38 ± 38
早期癌	76 ± 56
進行癌転移 (-)	56 ± 59
進行癌転移 (+)	26 ± 21

であり、対照と他の群間に有意差がみられた ($p < 0.01$)。また腺腫、早期癌、進行癌転移 (-) と進行癌転移 (+) との間にも統計的に有意差がみられた ($p < 0.05$)。すなわち natural killer cell/leukocyte は T cell より絶対数としては少なく、とくに正常大腸粘膜ではほとんど見られなかった。腫瘍化すると増加するが腺腫、早期癌、転移のない進行癌では有意差を認めなかった。しかし転移のある進行癌では有意に減少していた。(写真 7)

(6) 大腸癌進行度と組織 Leu 2a/Leu 3a 比 (図6)

組織 Leu 2a/Leu 3a 比 (mean ± SD) は

対照	0.90 ± 0.23
軽度異型腺腫	1.14 ± 0.74
中等度異型腺腫	1.28 ± 0.69
早期癌	1.29 ± 0.40
進行癌転移 (-)	1.24 ± 1.00
進行癌転移 (+)	1.06 ± 0.66

であり、対照と他の群間に有意差がみられた ($p < 0.01$)。すなわち腫瘍化すると正常大腸粘膜に比較して Leu 2a 陽性細胞の比率が高くなったが、腺腫、早期癌、進行癌の間に一定の傾向は見られなかった。

以上の成績から、癌増殖先進部における炎症性細胞浸潤は主として T cell、なかでも対照に比し cytotoxic/suppressor T cell が helper/inducer T cell より優位で、しかも早期癌において最も強くみられ、転移の有る例で有意に減少していた。さらに腺腫と転移のない癌との間には浸潤リンパ球の質的变化はみられなかったが、中等度異型腺腫、早期癌、進行癌転移 (-) では軽度異型腺腫に比し T cell の絶対数の増加が認められた。

NK cell は少なく、転移の有る例で減少していた。

Ⅱ 大腸腫瘍における腺管内壊死様物質 (debris) の組織発生と腫瘍異型度に伴う変化

大腸腫瘍においては腫瘍腺管内腔に eosin 好性で細胞成分を含んだ壊死様物質が認められ、debris と呼ばれている。この debris の免疫組織学的特性とその本態を明らかにするため、その出現頻度と組織異型度に伴う変化について検討した。この検討により debris と生体の局所免疫反応との関連を明らかにすることを目的とした。

1 対象と方法

対象：手術およびポリペクトミーで切除された大腸腺腫 114 病変（軽度異型腺腫 85 病変、中等度異型腺腫 29 病変）、大腸早期癌 71 病変（粘膜内癌；m 癌 36 病変、粘膜下浸潤癌；s m 癌 35 病変）、進行癌 21 病変である。

方法：これらについて hematoxylin-eosin (HE) 標本を用いて腫瘍組織内あるいは増殖先進部に認められる debris について 1 切片につき以下の 3 群に分けて検討した。

陰性（－）群：debris が認められないもの

陽性（＋）群：10 ヶ以下の腫瘍腺管に debris が認められるもの

強陽性（＋＋）群：10 ヶ以上の腫瘍腺管に debris が認められるもの

大腸腺腫の組織学的異型度は WHO の分類¹⁾に従った。

さらにこれらのうち大腸腺腫 91 病変（軽度異型腺腫 74 病変、中等度異型腺腫 17 病変）、大腸早期癌 7 病変、進行癌 12 病変に対しては抗 CEA (carcinoembryonic antigen) モノクローナル抗体 (CM-010；持田製薬) を用いた酵素抗体間接法により CEA を免疫組織化学染色し、その組織内局在及び debris の染色性について検討した。

CEA染色方法

1. 10% 緩衝ホルマリン液に固定のうえパラフィン包埋を行って $4\mu\text{m}$ 切片を作製した。
2. 脱パラフィン後 1%メタ過ヨウ素酸ナトリウム液で 10分間処理し、0.3% H_2O_2 -メタノール液に 30分間浸漬し内因性ペルオキシダーゼを不活化した。
3. PBS 洗浄後 正常ヤギ血清 (40倍希釈) を組織切片に重層し 30分間室温で反応させ 非特異的反応をブロックした。
4. PBS で洗浄した後 抗ヒト CEA モノクローナル抗体、CM-010 (マウスIg-G 100倍希釈、持田製薬) を組織に重層し、30分間室温で反応させた。
5. PBS 洗浄後 ペルオキシダーゼ標識抗マウス Ig-G ヤギ抗体 (40倍希釈; Cappel社) を室温湿室中にて 30分間反応させた。
6. 発色は 5 mM 3-3'-diaminobenzidine- H_2O_2 溶液 (Sigma社)で行った。
7. 核染色は Meyer's hematoxylin にて1分間おこなった。

また、periodic acid-thionin Schiff (PAS) 染色、periodic acid-thionin Schiff/potassium hydroxide/periodic acid Schiff (PKP) 染色、naphtol-ASD 染色、Giemsa 染色を施行し、debris の性状および炎症性細胞浸潤との関係を形態学的に検討した。有意差検定は Chi-square test による統計的処理により行った。

2 成績

(1) debris の光顕所見

debris は HE 標本で eosin 好性に染まり、その発生初期には naphtol-ASD 染色で esterase 陽性の顆粒を有する好中球、好酸球 を主体とする granulocyte が基底膜側で腫瘍細胞に接する像がみられ、さらに腺管内腔へ浸出し、腫瘍細胞、granulocyte とともに necrobiotic となり 次第に debris が形成される像が観察された (写真 8, 11, 12, 14, 17, 20, 21, 22)。すなわち debris は granulocytes と tumor cells の両方から成り、いわゆる炎症反応によって形成されてくると考えられた。

(2) debrisの組織化学的染色性

debris は PAS 染色では赤に (写真9)、PKP 染色では青に染色された (写真16,17)。この物質は PAS 染色及び PKP 染色で不均一で部分的に顆粒状に染色されることから、goblet mucin の腺管内分泌粘液とは明らかに異なっていた。

CEA 免疫組織化学的染色では debris は CEA 陽性を呈した (写真14)。

debris は T cell (Leu 1)染色では陰性であった (写真19)。

(3) 腫瘍組織内での debris の分布

腫瘍組織内での debris の分布を PAS 染色及び PKP 染色でみると debris は腫瘍組織の底部および増殖先進部で強く現れ、その外側には mononuclear cell layer が取り囲む様に出現していた (写真9)。

(4) debris の出現と組織異型度との関係 (表2、図7)

debris の出現率は

軽度異型腺腫	5/85 (6%)
中等度異型腺腫	18/29 (60%)
m癌	32/36 (89%)
s m癌	32/35 (91%)
進行癌	15/21 (71%)

であった。

また debris の程度をみると強陽性群の頻度は

軽度異型腺腫	2/85 (2%)
中等度異型腺腫	1/29 (2%)
m癌	10/36 (28%)
s m癌	18/35 (54%)
進行癌	7/21 (33%)

であった($\chi^2=138.0, p<0.01$)。すなわち debris は軽度異型腺腫ではほとんどみられず(写真10)、中等度異型腺腫から出現し(写真11)、早期癌の増殖先進部で最も出現率が高く、またその程度は早期癌から強陽性の頻度が高くなることが明らかとなった(写真12)。また同一の標本においても腺腫内癌では debris は癌巣に多く、腺腫巢の出現頻度は癌巣に比して低かった(写真13)。

(5) 組織異型に伴う腫瘍内CEA染色性の変化とdebrisのCEA染色性(表3)

CEAの染色陽性率は

軽度異型腺腫	29/14 (39%)
中等度異型腺腫	15/17 (88%)
早期癌	5/7 (72%)
進行癌	12/12 (100%)

であった($\chi^2=25.7, p<0.01$)。CEA は軽度異型腺腫では腺腫上皮細胞自由縁に CEA 反応がみられるのみであった(写真15)が、中等度異型腺腫、癌と組織異型度が増加するにつれその反応が増加するとともに腫瘍細胞質内にも CEA 反応が出現した(写真14、16、17)。また中等度異型腺腫からは CEA 陽性の debrisが出現し、腫瘍腺管内腔にも CEA が染色された(写真14、16、17)。潰瘍性大腸炎における crypt abscess は CEA 陰性であった(写真18)。

Ⅲ 考察

(1) 大腸腺腫、早期癌の組織分類

大腸腺腫は様々な程度の異形成を示し、Morsonらはその程度により軽度異型腺腫 (mild dysplasia)、中等度異型腺腫 (moderate dysplasia)、高度異型腺腫 (severe dysplasia) に分類している⁸⁾。しかし高度異型腺腫は組織学的に粘膜内に留まる癌 (粘膜内癌 focal carcinoma) であり、この点で本邦で通常用いられる軽度異型腺腫、中等度異型腺腫、高度異型腺腫、粘膜内癌、粘膜下層浸潤癌との分類⁹⁾とは組織学的に明かに異なる。この境界領域の異型度 (一般には高度異型と呼ばれ、筆者は WHO の規約に従って moderate dysplasia と呼んでいる。) の判定には本邦の病理学者の間で判定基準が異なっている。筆者は moderate dysplasia の腺管には杯細胞はほとんどなく、核は円～楕円形で核分裂像が多いが構造異型は認められない腺腫と定義している。わが国では早期胃癌の定義に準じて粘膜内癌 (mucosal cancer, m 癌)、粘膜下層浸潤癌 (submucosal cancer, sm 癌) が早期癌とされることが多く¹⁰⁾ 一方、欧米とくにイギリスでは sm 癌のみが早期癌と呼ばれていた。この意味において WHO 分類の高度異型 = m 癌であるが、本論文においては軽度異型腺腫、中等度異型腺腫は WHO 分類に従い、高度異型 = m 癌は 早期癌とすることとした。このような組織分類に基づいて大腸腺腫の異型度によって、また腺腫から早期癌へ変化するに従って、さらに早期癌から進行癌に進展していく過程で生体は腫瘍に対してどのように反応しているかを明かにするのが本研究の目的である。

(2) 大腸癌の組織発生と局所免疫反応

本研究での大腸腫瘍の組織学的変化に伴う局所免疫反応の変化をみると、T cell においては正常大腸粘膜では helper/inducer T cell (Th/i) (CD4) が優位であるのに、腫瘍化すると cytotoxic/suppressor T cell (Tc/s) (CD8) との比率が逆転するとともに T cell 数の増加がみられた。しかし軽度異型腺腫と中等度異型腺腫を比べると T cell 数は増加するが、T cell subset には変化は見られなかった。そして腫瘍に構造異型が出現して癌になっても T cell の絶対数は増加したが、T cell subset には変化は見られなかった。即ち、正常粘膜から腫瘍化すると T cell subset の変化が出現するが、腺腫と癌では T cell subset には大きな差異は見られないという結果であった。しかし興味ある事実は T cell の絶対数には差があり、中等度異型腺腫の T cell 数は軽度異型腺腫より早期癌の T cell 数により類似していたことである。この事実は T cell も軽度異型腺腫と中等度異型腺腫

を識別し、その組織異型度に応じて出現してくる可能性を示唆していると考えられる。

腺腫の異型度に伴う T cell subset の変化に関する報告は本邦においても欧米においても見当たらないが、癌化に伴うリンパ球 subset の変化についてはいくつかの報告がある。それらは胃癌^{11)~14)}、乳癌^{15)~16)}、子宮頸癌¹¹⁾ のいずれにおいても非癌部粘膜は B cell の浸潤が大部分であるのに癌組織ではリンパ球反応のある場合に T cell が圧倒的に多く、しかも初期癌ですでに T cell が B cell より多いばかりでなく^{17)~18)}、癌組織内 T 細胞浸潤の強さは臨床病期の進行するほど弱い傾向があるとの報告である^{15)~16)}。T cell subset については、癌組織では Tc/s (CD8) が Th/i (CD4) と同じか多いめであり、正常では Th/i がはるかに多いのに比し、癌にかなり特徴的な所見であるとされ^{11)~19)~20)}、さらに二重染色による flow-cytometry を用いた分析の結果では、Tc/s の亜群では Tc (Leu 2a⁺Leu 5⁻) が、Th/i の中では Th (Leu 3a⁺Leu 8⁻) がほとんどを占めたと報告されている^{21)~22)}。癌組織においては cytotoxic/suppressor T cell が helper/inducer T cell と同じかまたはより多く、正常粘膜の比率と逆転している所見は多くの癌で認められる事実と考えられる^{23)~27)}。今回の筆者の大腸癌における検索でも癌組織浸潤リンパ球は T cell 優位であり、しかも早期癌でもっとも多かった。T cell の浸潤が増殖先進部で最も強く、しかも初期の癌にいちじるしいという報告²⁵⁾や、子宮頸部の cancer in situ や皮膚の前癌状態では基底膜に泊ったリンパ球浸潤が認められ、これらは T cell であるとの報告もあり¹¹⁾、癌発生の初期に T cell 浸潤が最も著しいという所見は大腸癌に限らず多くの固型癌で出現する現象と考えられる。しかしこのような現象が前癌病変と考えられる中等度異型腺腫においてもみられ、正常大腸粘膜では helper/inducer T cell (Th/i) (CD4) が優位であるのに、腺腫になると cytotoxic/suppressor T cell (Tc/s) (CD8) の比率が増加するとともに、組織異型度に応じて T cell 絶対数の増加がみられるとする本研究の結果は新知見と考えられる。

一方、B cell は T cell と異なり腫瘍化に伴う変化は認められなかった。B cell の腫瘍免疫への関与については、癌に対する間質反応の主役は T cell であり B cell の関与はほとんど否定的といった論文が大半を占めている^{11)~16)}。本研究において B cell に関して Leu 10 陽性細胞数のみ検索したのはこの様な文献報告から B cell の関与は少ないと判断したからであるが、現に腺腫、早期癌、進行癌には差は見られず、B cell 系の腫瘍における局所免疫への関与は少ないと考えられる結果であった。しかし B cell 由来の形質細胞も担癌生体の抗癌性免疫反応に何らかの意義を有するものと想定され、大腸癌辺縁における局所免疫グロブリン含有細胞の分布及び secretory component の分泌と予後について、予後の良い症例ほど Ig A 含有細胞浸潤が多く、液性免疫、特に Ig A system は何らかの形で癌の免疫に関与しているとの報告もみられる²⁸⁾。

(3) 局所免疫反応とdebris

このような癌発生初期の T cell浸潤は実際に抗腫瘍活性を有しているのであろうか。

ヒト腫瘍組織浸潤リンパ球の機能的検索に関して多数の報告がみられるが、それらは①自家腫瘍細胞に対する細胞障害に乏しい。②NK活性に乏しい。③自家腫瘍細胞からの刺激には不応であるが、リンパ球混合培養ないし mitogenに対してはよく反応する。④自家末梢リンパ球の mitogenおよび腫瘍への反応性を抑制するなどの特性があると報告されている^{17) 18)}。もし局所浸潤炎症性細胞に抗腫瘍活性があるならば、in vivoであるヒト大腸癌切除標本の増殖先進部に実際に腫瘍が壊死に陥っている像が観察されるはずである。そのような壊死に至る過程こそ癌増殖局所での抗腫瘍能の直接的表現であり、結果であると考えられる。そこで本研究ではヒト大腸腫瘍切除標本で腫瘍壊死の所見について検討を加えた。今回の検索で従来より腫瘍腺管内壊死様物質(debris)としてみとめられていた所見の初期像として炎症性細胞が腫瘍細胞の基底膜側で接する像が見られ、さらに腫瘍腺管内腔へ浸出し、腫瘍細胞、炎症性細胞ともに necrobioticとなり、debrisが形成される像が観察された。debrisの発成機序に関しては従来より炎症に伴う二次的感染あるいは癌細胞の増殖に続く変性壊死脱落と考えられてきた⁶⁾。しかし本研究で大腸腫瘍における debrisが軽度異型腺腫ではほとんどみられず中等度異型腺腫から出現し、早期癌の増殖先進部で最も出現率が高かったその程度も強いことが明らかとなった。さらに腺腫内癌では debrisは癌巣に多く、腺腫巣における出現頻度が癌に比べ低かった事実は、debrisが二次的感染あるいは腫瘍壊死による変化ではなく、組織異型の変化に伴って出現した生体の局所反応であることを示唆していると考えられる。さらにdebrisが中等度異型腺腫から出現する事実は大腸癌の組織発生視点からも極めて興味深い事実である。即ち、debrisが中等度異型腺腫から出現することは、生体が局所生体反応として中等度異型腺腫をnot selfとして認識していることを示唆すると考えられるからである。武藤らは中等度異型腺腫のなかには、構造異型を示す以前の段階の、癌の初期のものが含まれていると考え、その理由としては、①腺腫の連続切片標本の検索により癌は常に中等度異型腺腫の腺管に囲まれており、ルチン検査で中等度異型腺腫と診断された腺腫の46%に、他の部位に微小癌巣が認められること²⁹⁾、②電子顕微鏡的に癌と同じ性状を示す腺管が認められること³⁰⁾、③シアル酸組成の変化が癌に類似していること³¹⁾、④DNAパターンの分析からpolyploid、aneuploidを示すものがみられること^{32) 33)}をあげている。debrisが中等度異型腺腫から出現するという本研究の結果は生体が局所反応として中等度異型腺腫をnot selfとして認識していることを示唆するものであり、中等度異型腺腫のなかに構造異型を示す以前の段階の、癌の初期のものが含まれているとする武藤らの癌化中間病変説を生体反応の面から支持する新知見と考えられる。

debrisが発生してくる機序に関しては潰瘍性大腸炎や感染性大腸炎でも同様の所見が

見られることから、生体の not self に対する初期反応としての炎症反応に起因すると考えられる。言い換えれば生体の癌発生初期には組織異型度の変化に応じて腫瘍先進部の間質に炎症反応が起こり、それは腫瘍それ自体が引き起こすと考えられる。

(4) debris と CEA 染色性

腺腫と癌について CEA 陽性率でみると軽度異型腺腫、中等度異型腺腫、早期癌、進行癌と組織学的異型度が増すにつれ CEA 出現率は上昇しており、また CEA 反応は軽度異型腺腫では上皮細胞刷子縁にのみみられるが、中等度異型腺腫では細胞質内にも CEA 反応がみられ、その反応は高分化型腺癌の細胞異型の少ない癌細胞にみられるものと類似していた。この細胞質内 CEA 反応は悪性化を示唆する重要な所見の一つと考えられ、浜田も同様の所見を観察している³⁴⁾。また腺腫と高分化腺癌との関係が極めて密接な関係にあることを示す指標と考えられる。

debris が CEA 陽性を示すのは中等度異型腺腫から出現する細胞質内 CEA が顆粒球系細胞と炎症反応を起こした結果に由来すると考えられる。なぜならば潰瘍性大腸炎に見られる crypt abscess は形態学的に debris と似ているが CEA 陰性であり、それは潰瘍性大腸炎における大腸上皮が CEA 陰性であることに由来すると考えられるからである(写真18)。すなわち生体反応の観点からも中等度異型腺腫の中には前癌状態としてヒトの自然免疫系に認識され、炎症反応を起こしてくるものが存在すると推測される。このような debris の出現と CEA 出現との関係を生体反応の観点から考察した報告は見られない。

(5) 癌発生早期における炎症反応と debris の意義

さらに、重要な所見は腫瘍と接触し debris を形成させるに至る炎症性細胞は naphthol-ASD 染色で陽性を呈する顆粒球系の細胞で好中球、好酸球が主体であると考えられたことである。そしてリンパ球サブセットの免疫染色で最も数の多かった T cell はこの debris を形成する腫瘍腺管の外側を取り巻く様に浸潤していたが、標本上で腫瘍壊死に陥っている部位にはほとんど染色されなかった(写真19)。Svennevig も腫瘍に浸潤する mononuclear cell はリンパ球、形質細胞、マクロファージであるが、腫瘍の周囲には多核白血球が多いことを single cell suspension³⁵⁾、in situ³⁶⁾ の2つの方法で明らかにしており、さらに癌周囲浸潤リンパ球数と腫瘍壊死の程度は相関しなかったと報告している³⁷⁾。この事実は顆粒球系細胞の腫瘍免疫の、とくに癌発生早期における重要性を示唆する所見と考えられる。即ち、癌発生早期に起こる生体反応はいわゆる炎症反応と考えられ、しかも一定の刺激に対する生体の反応はその原因が異物であれ、細菌であれ、癌細胞であ

れ、血管の拡張、好中球、マクロファージの浸潤、cytokineの放出、それに続くリンパ球の浸潤と一連の炎症反応—免疫反応がおこる可能性が考えられる。言い換えれば腫瘍発生の早期、特に中等度異型腺腫から炎症反応が起こり debris が形成されること、また debris は免疫反応の結果というより炎症反応の結果であると考えられる。そして腺腫を経由する大腸癌組織発生の過程で生体の局所免疫機構は中等度異型腺腫から not-selfと認識し、初期反応としての炎症反応とひき続いておこる免疫反応が惹起され、腫瘍増殖に対し抑制的に、あるいは促進的に作用すると推測される。

(6) 腫瘍免疫における顆粒球系細胞の関与

腫瘍免疫における顆粒球系細胞の関与については、好酸球浸潤が良好な予後を示すこと³⁸⁾が、胃癌^{39) 40)}、大腸癌^{39) 41)}、肺癌⁴²⁾で報告されており、また好酸球浸潤の著名な子宮頸癌症例は早期の癌に多く、リンパ球浸潤を伴っており予後良好であったとの報告もみられる⁴³⁾。腫瘍組織への好酸球の出現と組織異型に関して、皮膚腫瘍で良性の kerato acanthomaでの好酸球浸潤は少なく、squamous cell carcinomaで顕著であり、鑑別診断の参考となりうるとの報告もある⁴⁴⁾。本研究の結果でも径 4mmの微小腺腫内癌で naphtol-ASD 染色陽性の顆粒球系細胞が癌巣で多く、腺腫巣ではほとんどみられなかった事実は顆粒球系細胞が組織異型度に反応して出現していることを示唆しており、二次的感染あるいは癌細胞の増殖に続く変性壊死脱落に伴う炎症のために浸潤しているのではない可能性を推測させる。潰瘍性大腸炎においても一部の症例では強い好酸球浸潤を伴い、特に活動期に多く認められるが、その存在が炎症を遅延させる方向に働いているという報告と、反対に炎症を消退させる方向に働いているとする報告とがあり、本体は明らかではない^{45) 46)}。潰瘍性大腸炎の病態成立には免疫学的異常が強く関係していると考えられており^{47) 48)}、癌発生の初期と潰瘍性大腸炎の組織所見が類似していることは not-self に対する炎症の初期反応として好酸球が浸潤してくる可能性も推測される。

癌組織に浸潤する好中球についても *C. pavum*、チオグリコレート、ある種のペプトン、BRM 等により活性化された好中球には種を越えた、また MHC に拘束されない抗腫瘍活性が認められるとの報告⁵⁰⁾や、癌細胞の 3H-thymidine の取込が多核白血球によって強く抑制され、刺激された多核白血球が癌細胞に cytostatic に作用しているとの報告⁵¹⁾、また多核白血球が癌細胞に対して細胞障害性を示めすが線維芽細胞、PHA 芽球などの正常細胞に対しては細胞障害を示さないかあるいは弱いものであり、現象として多核白血球は癌、非癌を識別するごとくである^{52) 53)}との報告がみられる。つまり多核白血球は外界からの一定の刺激によって、癌に対する自然抵抗性の亢進が起こる場合、初期反応に位置するものであると考えられる。本研究において debris を形成させるにいたる好中球、好酸球などの顆粒球系細胞が中等度異型腺腫から腫瘍内に出現する事実は癌発生の早期における初

期反応をin vivo で組織学的に捉えた所見であり、癌発生の早期には免疫反応に先立って炎症反応が起こることを示唆するものであり、前述した in vitro の所見を直接的に証明したものといえる。

好中球が癌細胞を障害することがあるならばその機序としては、近年、活性酸素の関与が指摘されている⁽⁵⁴⁾⁻⁽⁵⁶⁾。沢口らは胃癌、大腸癌で単球、好中球の活性酸素産生能は腫瘍流入動脈血中で流出静脈血中よりも亢進しており、これは単球、好中球が癌病巣を通過するに伴い、機能的な変化を生じたためであろうと推測している⁽⁵⁷⁾。この結果は好中球を主体とする顆粒球系細胞が癌病巣に捕捉され H_2O_2 などの活性酸素を遊離し、腫瘍細胞を障害し、その結果静脈中に活性の低下した顆粒球が流出した可能が考えられる。

(7) 腫瘍局所での顆粒球系細胞とリンパ球との関連について —debris と T cell の存在との関係

本研究において好中球、好酸球を主体とする顆粒球系細胞が癌発生初期に腫瘍細胞と基底膜側で接する像が見られ、さらに腫瘍腺管内腔へ浸出して debris を形成すること、すなわち中等度異型腺腫から腫瘍先進部に炎症反応が起こりその結果 debris が形成されてくると考えられたわけであるが(写真 20, 21, 22) 癌増殖先進部を取り巻くように浸潤している T cell を中心とするリンパ球との関係はどうなっているのだろうか。言い換えれば、腫瘍局所での炎症反応と免疫反応との関連はいかなるものか推察してみたい。

既述のごとく癌の増殖に伴って T cell を中心とする免疫細胞の浸潤が認められるが、それに先立って炎症反応が起こり、なかでも多形核白血球の浸潤は他の免疫細胞に比べ早い。ため癌増殖の早期に関与していると推定されたわけであるが、この白血球浸潤は走化因子がその部位から分泌されていることが不可決である⁽⁵⁸⁾。そこで癌細胞自身が走化因子を産生、分泌しているかどうかが問題となる。Suzuki は白血球浸潤が認められる組織像を示すヒト肺巨細胞癌よりクローン化した細胞が産生する多形核白血球走化性物質を単離精製し、そのアミノ酸配列を決定し、癌増殖の早期における多形核白血球の浸潤の重要性を強調している⁽⁵⁹⁾。Uedaらは同系腫瘍を移植したラットの局所炎症は 2つに大別され、正常動物の場合、移植後 6-12時間で局所に好中球、マクロファージの浸潤が観察されるが、その炎症反応の持続は短く、腫瘍の増殖と共に消失するのにに対し、あらかじめ腫瘍細胞で感作された動物では初期の好中球、マクロファージの浸潤に引き続き一連の細胞反応がみられ、移植後 2-4日目には CD 4 陽性細胞が、4-6日目には CD 8 陽性細胞が局所へと浸潤し、腫瘍の拒絶が進行することを観察している⁽⁶⁰⁾⁻⁽⁶²⁾。すなわち炎症反応に引き続き免疫反応が惹起される場合にのみ抗腫瘍活性が働くことを示唆する所見と考えられる。このような観点から大腸癌発生初期の顆粒球系細胞とリンパ球との関係を考察すると、腫瘍細胞というnot-selfに対する最初の反応としてまず炎症反応が起こり好中球、マクロフ

アージが浸潤し、これから産生されるサイトカインがリンパ球反応を引き起こすと推測される。すなわち T cell の出現は debris の出現＝炎症反応の結果に引き続いて起こると考えられ、さらに debris の出現と T cell の出現とが中等度異型腺腫からあい伴って見られることは、局所においてこのような炎症反応と免疫反応が一連の生体防御反応として出現していることを示唆している。

近年の基礎免疫学の進歩は、免疫応答機構を従来のように外来抗原に向けられた防御機構として把握する考え方から、突然変異やウイルスなどの外来抗原によって変化、修飾を受けた自己を正常な本来の自己から識別し、前者を排除することにより自己の恒常性を維持する抑制、調節機構としてとらえる考え方へ変化しつつある^{58) 63) 64)}。この理論にたてば、自己由来の変異細胞である腫瘍細胞に対しても、感染、異物などの外来抗原が生体に侵入した場合と全く同様に、その発生初期の段階で炎症反応が起こり自然免疫系の顆粒球系細胞によって排除される機構が大腸腫瘍標本上で実際に認められても当然のことかもしれない。径4mmの微小ポリープの癌巣と腺腫巣で腫瘍組織に浸潤する顆粒球系細胞数が癌巣で多く腺腫巣でほとんど認められない事実は、癌発生初期の顆粒球系細胞の果たす役割の重要性を何よりも明確に示している所見と考えられる(写真22a-22d)。ほとんどの腫瘍免疫の研究が進行期の癌のみを対象としてきた。その結果リンパ球を中心とする獲得免疫系の問題に焦点があてられているが、癌の発生早期においては自然免疫系＝炎症反応の役割が重要であり、癌の進行度による生体の局所生体反応の相違に焦点をあてる必要があると考えられる。

IV 結語

大腸腫瘍組織に浸潤する免疫担当細胞及び腫瘍腺管内壊死様物質(debris)を形態学的、免疫組織化学的に検討した結果、以下の結論を得た。

1. 大腸腫瘍への浸潤 T cell subsetは正常大腸粘膜では helper/inducer T cell(CD4)が優位であるのに、腫瘍化すると cytotoxic/suppressor T cell(CD8)の比率が増加していた。
2. 大腸腫瘍への浸潤 T cell数は腺腫では組織異型度に応じて増加しており、軽度異型腺腫より中等度異型腺腫で T cellの絶対数の増加がみられた。
3. 大腸癌においては浸潤 T cell数は早期癌で最も多くみられ癌の進行とともに減少しており、進行癌では転移のない病変の浸潤 T cell数が転移のあるものより多かった。
4. 腺腫と癌の間には浸潤細胞の質的变化は見られず、T cell subsetには差はなかった。
5. 腺腫を経由する大腸癌組織発生において、生体の局所免疫反応は中等度異型腺腫から not-selfとしての反応が始まっていると考えられた。
6. debris は中等度異型腺腫から出現し、早期癌での出現頻度が最も高くその程度も最も強かった。この debris は組織異型度に伴って出現していることから、生体の腫瘍への局所反応の結果出現してくると考えられた。
7. debris の形成は、好中球、好酸球などの顆粒球系細胞が腫瘍細胞と反応した炎症反応に由来すると考えられ、癌発生早期における顆粒球系細胞を中心とする自然免疫系の重要性が示唆された。
8. 大腸癌発生初期には腫瘍と接する間質に炎症反応が惹起されると考えられた。

文献

- 1) Moore DS, Foote FW. The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. *Cancer* 1949;2:635-642.
- 2) Black MM, Opler SR, Speer FD. Microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymph nodes in relation to survival. *Surg Gynecol Obstet* 1954;98:725-734.
- 3) Berg JW. Inflammation and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1952;12:714-720.
- 4) Underwood JCE. Lymphoreticular infiltration in human tumors: Prognostic and biological implications. *Br J Cancer* 1974;30:538-548.
- 5) 三輪恕昭. 腫瘍内浸潤リンパ球について. その分類と予後への影響を中心に. *癌の臨床* 1984;30:753-756.
- 6) Morson BC, Dawson IMP. *Gastrointestinal pathology* 2nd ed., Blackwell Scient. Publ., Oxford, 1979.
- 7) Muto T, Bussey HJR, Morson BC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1975;36:2251-2270.
- 8) Morson BC. Histological typing of intestinal tumors. *International Histological Classification of Tumors, No.15, Geneva, WHO, 1976.*
- 9) 佐藤栄一, 大内明夫. 大腸ポリープの病理学的研究—一部検例と外科切除例腺腫の組織学的比較を中心として—. *癌の臨床* 1973;19:1159-1167.
- 10) 武藤徹一郎, 上谷潤二郎. 早期癌の病理. *癌の臨床* 1979;25:461-467.
- 11) Kikuchi K, Kasai K, Hiratsuka H. Significance of local T cell response to human cancer. In *Basic Mechanisms and Clinical Treatment of Tumor Metastasis*. Torisu M and Yoshida Y (eds.), Academic Press, New York, 1985, pp143-161.

- 12) 菊地浩吉. 癌組織におけるリンパ球浸潤の臨床的意義. 日臨外会誌 1979;40:1-6.
- 13) 菊地浩吉、笠井潔、坂井洋一. 癌免疫をめぐる問題、胃・腸癌と局所免疫. 消化器外科 1981;4:133
- 14) 笠井潔、今村正克、平塚浩義、臼井朋明、神谷博文、室谷光三、成松英明、水無瀬昂、戸塚守夫、菊地浩吉. ヒト胃癌組織に浸潤するT細胞およびT細胞亜群の免疫組織学的検索. 癌の臨床 1983;29:981-986.
- 15) Shimokawara I, Imamura M, Yamanaka N, Ishii Y, Kikuchi K. Identification of lymphocyte subpopulation in human breast cancer tissue and its significance: An immunoperoxidase study with anti-human T-and B-cell sera. Cancer 1982;49:1456-1464.
- 16) 臼井朋明、下川原出、平田公一. 乳癌組織内浸潤T細胞と予後との関係. 癌の臨床 1983;29:1634-1637.
- 17) Whiteside TL. Quantitative and functional study of lymphoid cells infiltrating solid tumors. J Natl Cancer Inst 1984;5:146-150.
- 18) Bahn AK, DesMarais CL. Immunohistologic characterization of major histocompatibility antigens and inflammatory cellular infiltrate in human breast cancer. J Natl Cancer Inst 1983;71:507-516.
- 19) 愈孝一. 肝悪性腫瘍におけるNK cell および Cytotoxic T lymphocyte の同定. 日消誌 1984;116:414.
- 20) Fernandez-bussy R, Cambazard F, MauduitG, Schmitt D, Thivolet J. T cell subsets and Langerhans cell in skin tumors. Eur J Cancer Clin Oncol 1988;19:907-913.
- 21) 田原秀晃、塩崎均、矢野外喜治、矢野浩司、田村茂行、桜井幹己、森武貞. 食道癌における腫瘍浸潤リンパ球亜群構成のFlow-cytometryを用いた検討—末梢血、非癌部組織内リンパ球との比較—. 日外会誌 1988;89:2031.

- 22) Takeda I, Horii T, Okabayashi T, Hiramatsu S, Gohchi A, Kagawa S, Ninomiya M, Yoshida E, Nagae S, Mukai K, Kaneda M, Orita K. Double staining using monoclonal antibodies cancer bearing tissues. 日癌治 1986;21:345
- 23) Itoh K, Fildes AB, Balch CM. Interleukin 2 activation of cytotoxic T-lymphocytes infiltrating into human metastatic melanomas. Cancer Res 1986;46:3011-3017.
- 24) Muul LM, Spiess J, Director EP, Rosenberg A. Identification of specific immune responses against autologous tumor in humans bearing malignant melanoma. J Immunol 1987;138:989-995.
- 25) Micscher S, Whiteside TL, Carrel S, Von Flidner V. Functional properties of tumor infiltrating and blood lymphocytes in patients with solid tumors: effects of tumor cells and their supernatants on proliferative responses of lymphocytes. J Immunol 1986;136:1899-1907.
- 26) Rabinowich H, Cohen R, Bruderman I, Steiner Z, Klazima A. Functional analysis of monoclonal cells infiltrating into tumor: Lysis of autologous human tumor cells by cultured infiltrating lymphocytes. Cancer Res 1987;47:173-177.
- 27) Ioachim HL. The stromal reaction of tumors: An expression of immune surveillance. J Natl Cancer Inst 1976;57:465-475.
- 28) 宇佐見詞津夫、佐藤幹則、松本幸三、西脇慶治、大久保憲、小谷彦蔵、由良二郎。大腸癌の間質の組織反応について。日外会誌 1990;91:667-676。
- 29) 武藤徹一郎、上谷潤二郎、小西文雄、沢田俊夫、杉原健一、草間悟。大腸ポリープの病理と腺腫の癌化。最新医学 1981;36:80-87。
- 30) 沢田俊夫、武藤徹一郎、森岡恭彦。大腸腺腫の異形成と電子顕微鏡の特徴について。Progress Dig Endoscopy 1981;19:28-34。
- 31) 久保田芳郎、武藤徹一郎、阿川千一郎、沢田俊夫、森岡恭彦。CEAモノクローナル抗体を用いた大腸腺腫、腺腫内癌、進行癌の免疫組織化学的研究。特に大腸粘液組成との対比について。胃と腸 1985;20:183-189。

- 32) 武藤徹一郎、正木忠彦、鈴木公孝、森岡恭彦. DNA定量による大腸腺腫の異型度判定. 病理生理 1988;7:985-987.
- 33) 正木忠彦、武藤徹一郎、鈴木公孝、森岡恭彦. 大腸腺腫とDNA. 胃と腸 1989;24:308-316.
- 34) 浜田修二. 大腸のポリープと癌におけるCEAに関する免疫組織学的研究. 福大医紀 1983;10:145-155.
- 35) Svennevig JR, Lovig M, Svaar H. Isolation and characterization of lymphocytes and macrophages from solid malignant human tumors. *Int J Cancer* 1979;23:626-631.
- 36) Svennevig JL, Lunde OC, Holter J. In situ analysis of the inflammatory cell infiltrates in colon carcinomas and in normal colon wall. *Acta Pathol Microbactol Scand* 1982;90(SectA):131.
- 37) Svennevig JL, Lunde OC, Holter J, Bjorgsik D. Lymphoid infiltration and prognosis in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1984;49:375-377.
- 38) Lahm W. Die Bedeutung der mikroskopischen Untersuchung für die Behandlung und Prognose der Collum Carcinomas. *Arch Gynecol* 1922;117:264-268.
- 39) Yoon IL. The eosinophil and gastrointestinal carcinoma. *Am J Surg* 1959;97:195-200.
- 40) Iwasaki K, Torisu M, Fujimura T. Malignant tumors and eosinophils. I. Prognostic significance in gastric cancer. *Cancer* 1986;58:1321-1327.
- 41) Pretlow TP, Keith EF, Cryar AK, Bartolucci AA, Pitts AM, Pretlow TG, Kimball PM, Boohaker EA. Eosinophil infiltration of human colonic carcinomas as a prognostic indicator. *Cancer Res* 1983;43:2997-3000.
- 42) Kolb E, Muller E. Local responses and secondary human lung cancers. I. Clinical correlations. *Br J Cancer* 1979;40:410-416.

- 43) Kapp PS, Livorsi VA. Intense eosinophilic stromal reaction in carcinoma of the uterine cervix: A clinico-pathologic study of 14 cases. *Gynecol Oncol* 1983; 16:19-30.
- 44) Lowe D, Fletcher CDM, Shaw MP, McKee PH. Eosinophil infiltration in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Histopathology* 1984;8:619-625.
- 45) Kirk AP, Cason J, Fordham JN, Brown KA, Goddard DH, Holborow EJ, Lennard-Jones JE. Polymorphonuclear leukocyte function in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1983;28:236-248.
- 46) Sarin SK, Malhotra V, Sen Gupta S. Significance of eosinophil and mast cell counts in rectal mucosa in ulcerative colitis. A prospective controlled study. *Dig Dis Sci* 1987;32:363-367.
- 47) Elson CO. The immunologic basis of inflammatory bowel disease. In *Inflammatory Bowel Disease*, 3rd ed., Kirsner JB, Shorter RG (eds.), Lee & Febiger, Philadelphia, 1988, pp 97-164.
- 48) Strober W, James SP. The immunologic basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 1986;6:415-432.
- 49) Elson CO, Kagnoff MF, Fiocchi C, Befus AD, Targan S. Intestinal immunity and inflammation: Recent progress. *Gastroenterology* 1986;91:746-768.
- 50) Lichtenstein A, Kahle J. Anti-tumor effect of inflammatory neutrophils: characteristics of in vivo generation and in vitro tumor cell lysis. *Int J Cancer* 1985;35:121-127.
- 51) 仙道富士郎、井上富夫. 癌に対する自然抵抗性のone small compartment としての多核白血球. *癌と免疫* 1982;1:10-17.
- 52) Kores S, Herberman RB, Dean JH, Cannon GB. Cytostasis of tumor cell lines by human granulocytes. *Cell Immunol* 1980;53:104-115.

- 53) Gerrad TL, Gohen DJ, Kaplan AM. Human neutrophil mediated cytotoxicity to tumor cells. *J Natl Inst* 1981;66:483-488.
- 54) Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. *Dig Dis Sci* 1988;33(3 Suppl):p6s-15s.
- 55) Clark R, Klebanoff S. Role of the myeloperoxidase-H₂O₂-halade system in con-canavalin A induced tumor cell killing by human neutrophils. *J Immunol* 1984;132:2605-2610.
- 56) Mavir P, Edgington T. Human monocyte-mediated tumor cytotoxicity. I. Demonstration of an oxygen-dependent myeloperoxidase-independent mechanism. *J Immunol* 1984;132:1980-1986.
- 57) 沢口健太郎、森下鉄夫、末松誠、北洞哲治、森俊治、宮田潤一、磯部潔、森実敏夫、安藤幸史、土屋雅春. ヒト癌病巣流入動脈、流出静脈における単球、多核白血球の活性酸素能. *消化器と免疫* No. 23、日本医学館、1989、p 55-58.
- 58) Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology*. Roitt I (ed), Gower Medical Publishing Ltd., London, 1985.
- 59) Suzuki K, Miyasaka H, Ota H, Yamakawa Y, Tagawa A, Kuramoto A, Mizuno S. Purification and partial primary sequence of a chemotactic protein for polymorphonuclear leukocytes derived from human lung giant cell carcinoma LU65C cells. *J Exp Med* 1989;169:1895-1901.
- 60) Yamaki T, Uede T, Shijubo N, Kikuchi K. Functional analysis of mononuclear cells infiltrating into tumors II. Soluble factors involved in the regulation of T lymphocyte infiltration into tumors. *J Immunol* 1988;140:4388-4396.
- 61) Shijubo N, Uede T, Takami T, Torimoto Y, Lupin D, Min S, Kikuchi K. Two distinct mechanism in the infiltration of lymphocytes into tumors. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1988;79:1111-1118.

62) Shijubo N, Uede T, Kikuchi K. Functional analysis of mononuclear cells infiltrating into tumors V. A soluble factors involved in the regulation of cytotoxic/suppressor T cell infiltration into tumors. J Immunol 1989;142:2961-2967.

63) 吉田常雄、山村雄一、大和田国男、阿部裕編. 医一化学と人間、I 創造の医学、学会出版センター、1983.

64) 多田富夫. T細胞による免疫応答の調節、免疫学3 (山村雄一監修、岸本忠三、渡辺武 平野俊夫編) 中山書店、1982、P55.

表1. 大腸腫瘍における局所浸潤リンパ球サブセット

	Leu1 ⁺	Leu2a ⁺	Leu3a ⁺	Leu10 ⁺	Leu11b ⁺
対照 (n=9)	89±28	36±10	44±22	27±11	6±4
	^{##}	[#]	^{##}		[#]
軽度異型腺腫 (n=24)	142±57	79±42	90±49	32±15	43±49*
	^{##}	[#]	[#]		[#]
中等度異型腺腫 (n=8)	193±127*	111±57	106±62**	36±18	38±38**
	^{##}	[#]	^{##}		[#]
早期癌 (n=9)	269±112*	186±49	156±44	38±16	76±56*
	[#]	[#]	[#]		[#]
進行癌転移 (-) (n=11)	183±80**	88±55	88±59*	34±21	56±59*
		[#]			[#]
進行癌転移 (+) (n=11)	76±42	67±47	56±31	30±21	26±21

(mean±SD/250×250μm²)

[#]p<0.01 ^{##}p<0.05 (対対照) *p<0.01 **p<0.05 (対進行癌転移(+))

^{##}p<0.01 (対軽度異型腺腫)

表2. 大腸腫瘍におけるdebrisの出現と組織異型度

	(-)	(+)	(++)
軽度異型腺腫 (n=85)	80 (94%)	3 (4%)	2 (2%)
中等度異型腺腫 (n=29)	11 (38%)	17 (59%)	1 (2%)
粘膜内癌 (n=36)	4 (11%)	22 (61%)	10 (28%)
粘膜下層浸潤癌 (n=35)	3 (9%)	14 (40%)	18 (54%)
進行癌 (n=21)	6 (29%)	8 (38%)	7 (33%)

($\chi^2=138.0$ $p<0.01$)

表3. 大腸腫瘍におけるCEAの出現と組織異型度

CEA	(-)	(+)
軽度異型腺腫 (n=74)	45 (61%)	29 (39%)
中等度異型腺腫 (n=17)	2 (12%)	15 (88%)
早期癌 (n=7)	2 (28%)	5 (72%)
進行癌 (n=12)	0	12 (100%)

($\chi^2=25.7$ $p<0.01$)

図1 Leu1陽性細胞数と組織異型度

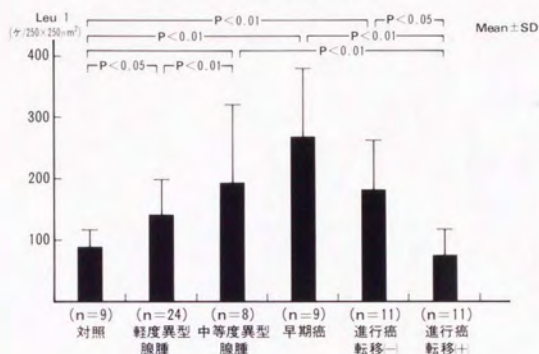


図2 Leu2a陽性細胞数と組織異型度

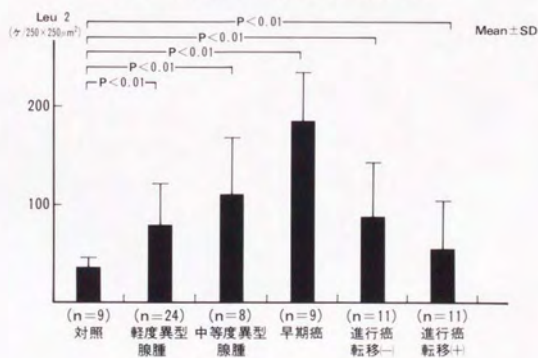


図3 Leu3a陽性細胞数と組織異型度

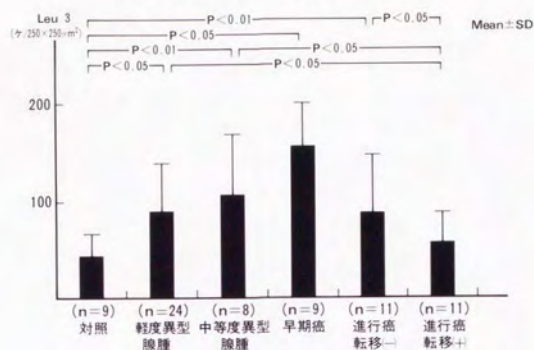


図4 Leu10陽性細胞数と組織異型度

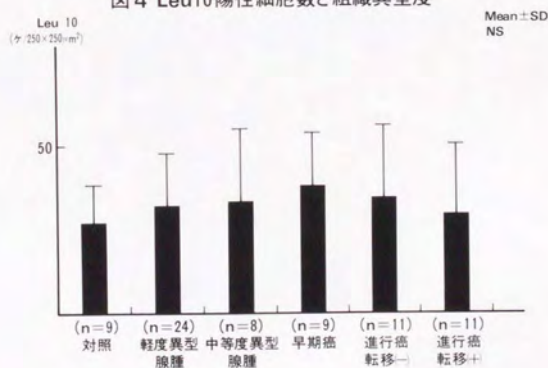


図5 Leu11b陽性細胞数と組織異型度

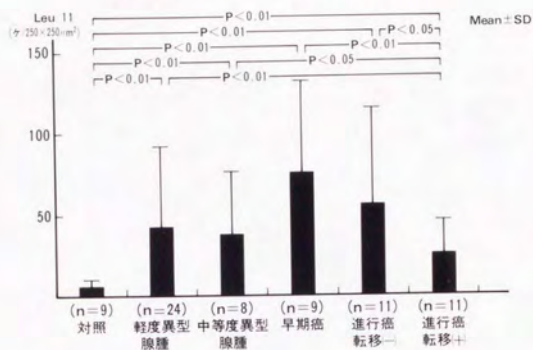


図6 Leu2a/Leu3a比と組織異型度

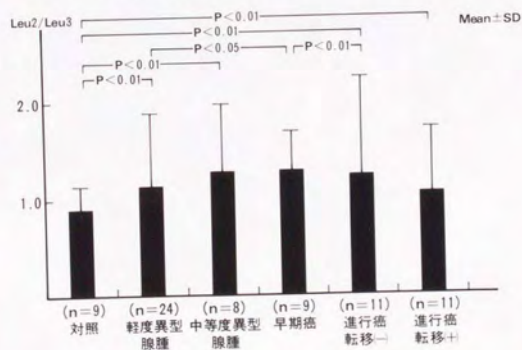
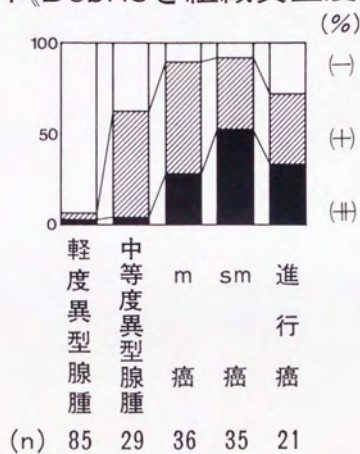


図7《Debrisと組織異型度》



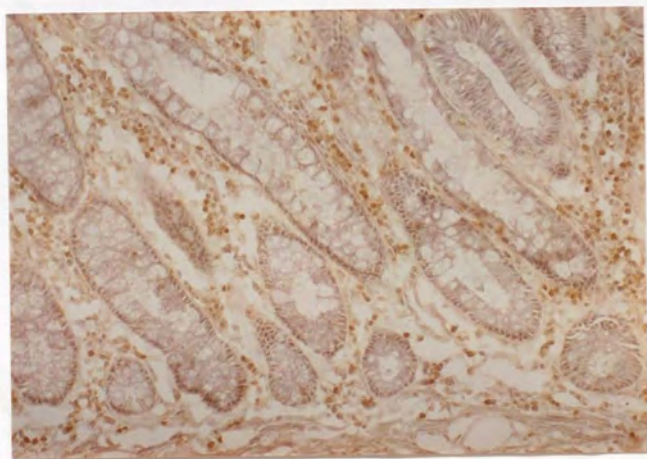


写真1 軽度異型腺腫における Leu 1 陽性細胞
(Leu 1 染色 × 100)



写真2 早期癌における Leu 1 陽性細胞
(Leu 1 染色 × 100)

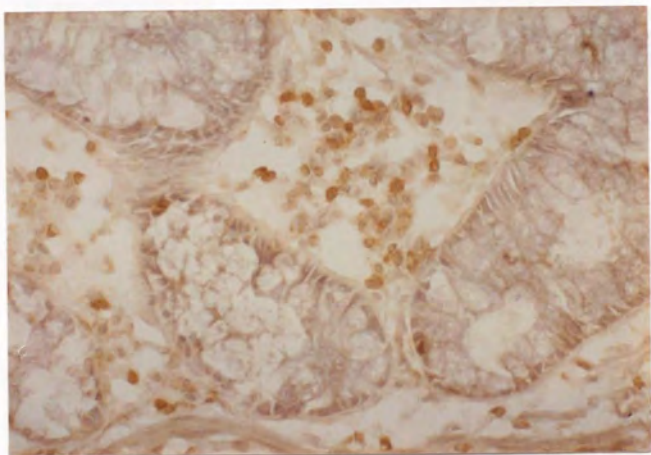


写真3 軽度異型腺腫における Leu 1 陽性細胞
(Leu 1 染色 × 400)

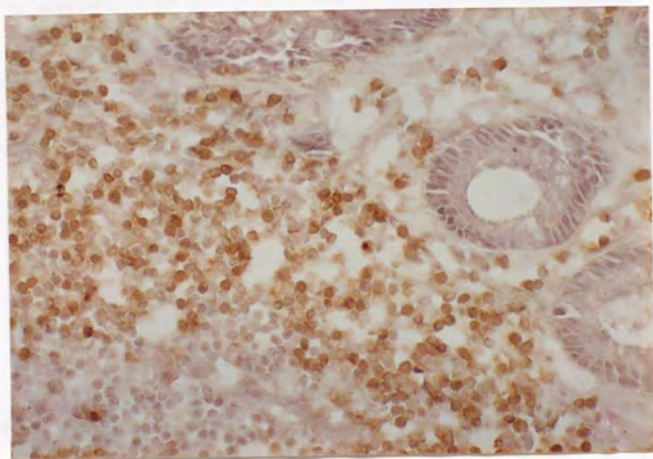


写真4 中等度異型腺腫におけるLeu 1 陽性細胞
(Leu 1 染色 × 400)

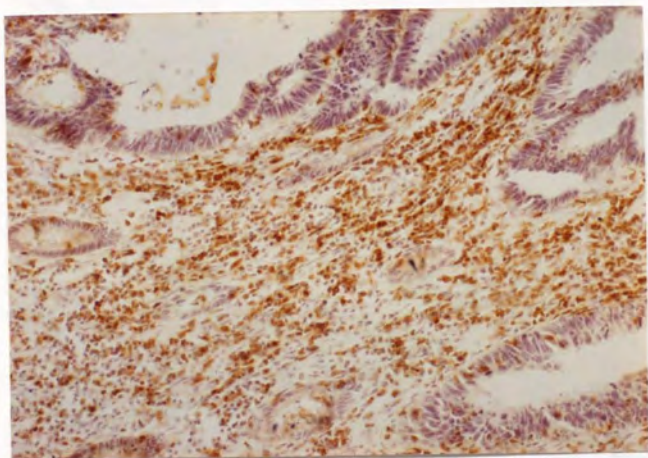


写真5 転移の無い進行癌の Leu 1 陽性細胞
(Leu 1 染色 × 100)

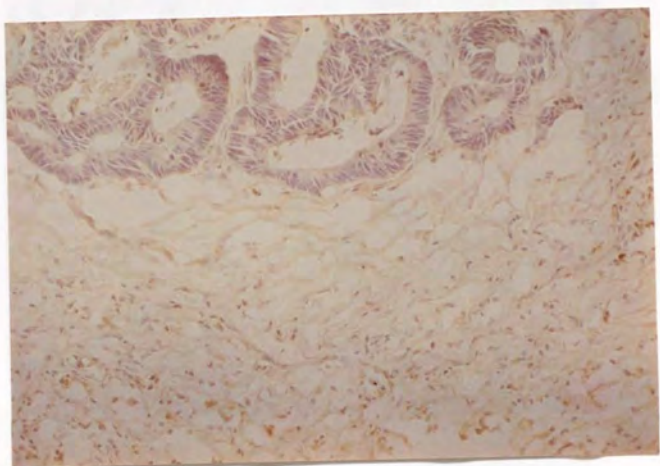


写真6 転移の有る進行癌の Leu 1 陽性細胞
(Leu 1 染色 × 100)

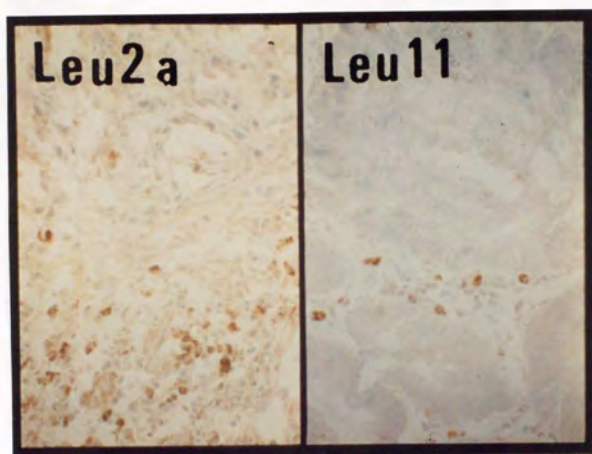


写真7 大腸癌における Leu 2a 細胞と Leu 11b 陽性細胞
(左: Leu 2a染色、右: Leu 11b染色 ×200)

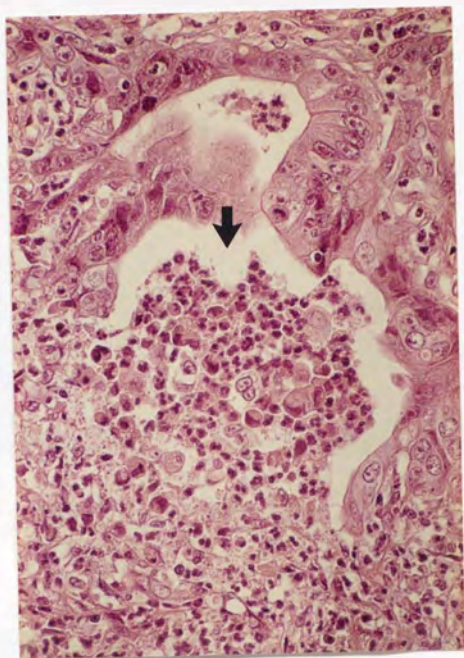


写真8 大腸癌増殖先進部における腫瘍腺管内壊死様物質 (debris)
(HE 染色 ×400)

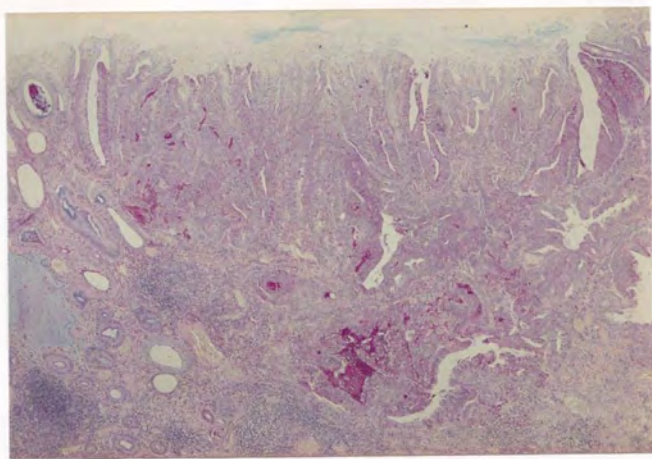


写真9 大腸早期癌 (sm 癌) における debris の分布
debrisは腫瘍底部および増殖先進部で強く見られる。
(PAS-Alcian bleu 染色 ×40)

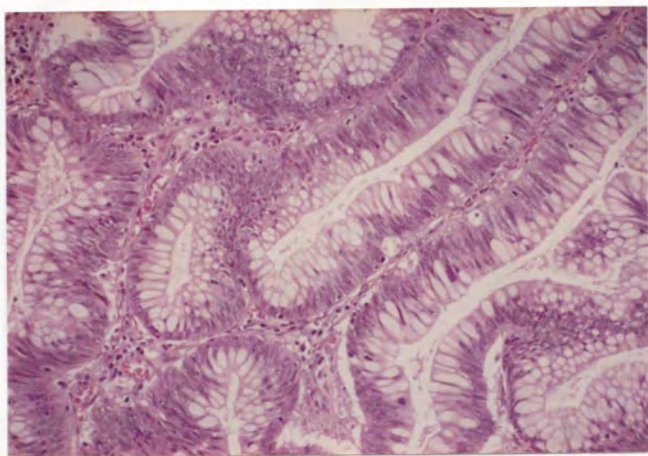


写真10 軽度異型腺腫における debris
debris は見られない。
(HE 染色 × 400)

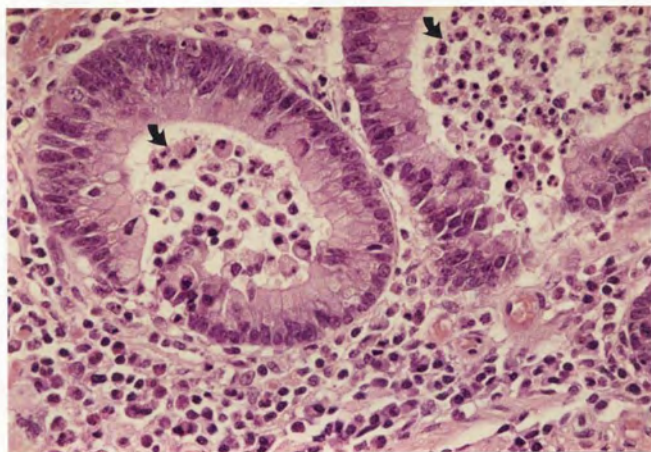


写真11 中等度異型腺腫における debris
(HE 染色 × 400)

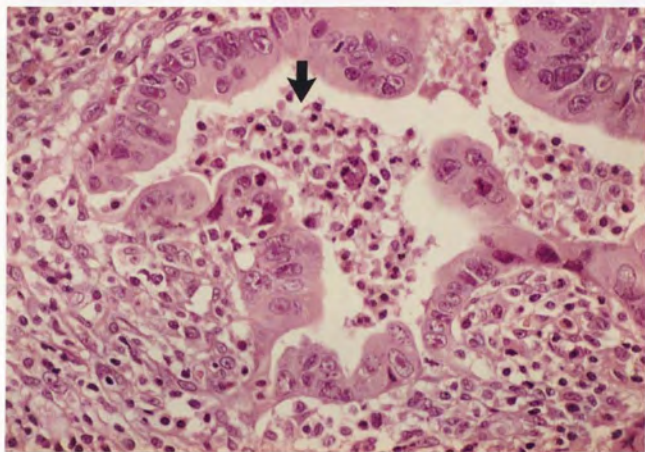


写真12 早期癌における debris
(HE 染色 × 400)

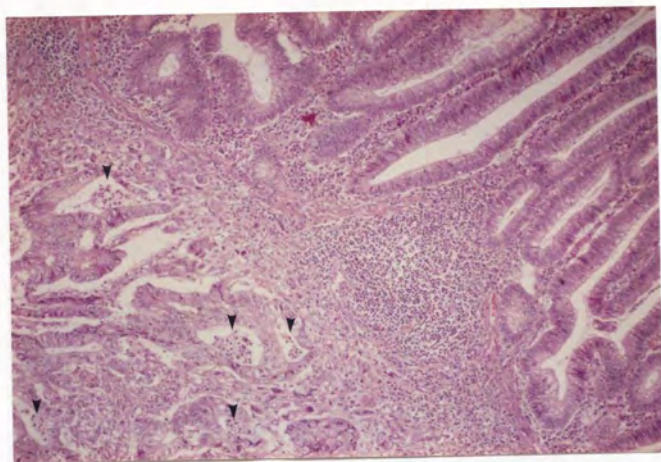


写真13 腺腫と癌の併存例における debris
 癌巣には debris がみられるが腺腫巣にはない。
 (HE 染色 × 100)

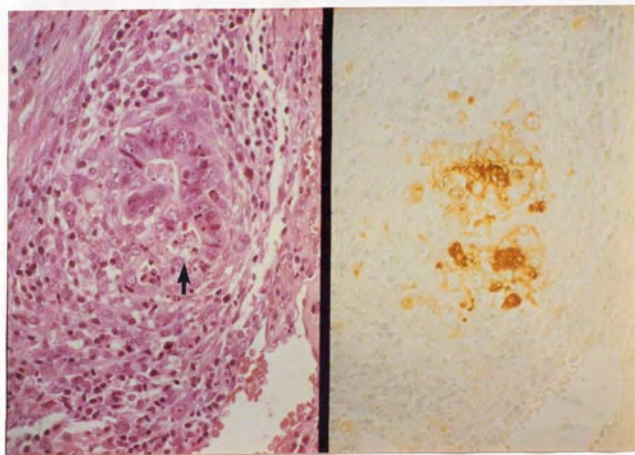


写真14 癌における debrisの CEA染色性
 debrisは CEA陽性である。癌細胞質にも
 CEAが染色されている。
 (左: HE 染色, 右 CEA 染色×400)

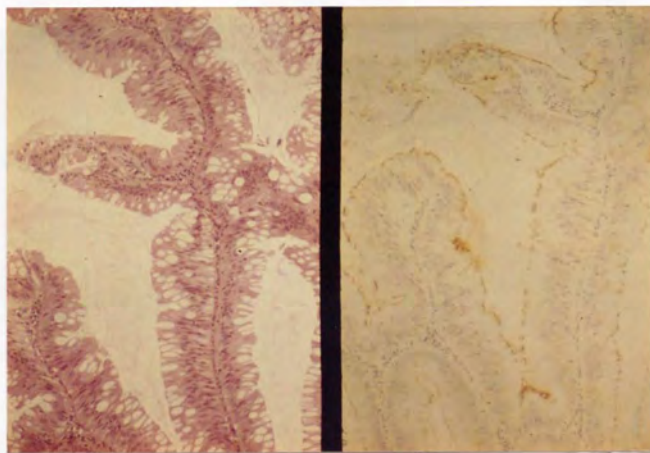


写真15 軽度異型腺腫の CEA 染色

CEA は腺腫上皮細胞自由縁のみに染色されている。

(左: H&E染色、右: CEA染色 ×400)

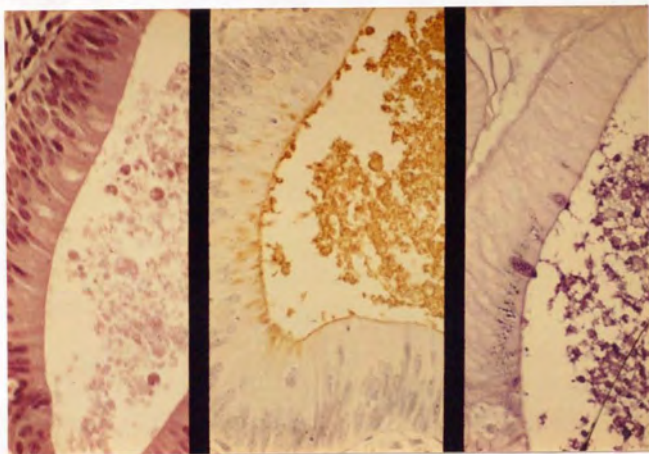


写真 16 中等度異型腺腫のCEA染色とPKP染色
 (左: HE 染色、中: CEA 染色、右: PKP 染色 $\times 400$)
 腫瘍細胞質内にも CEA 反応がみられる。

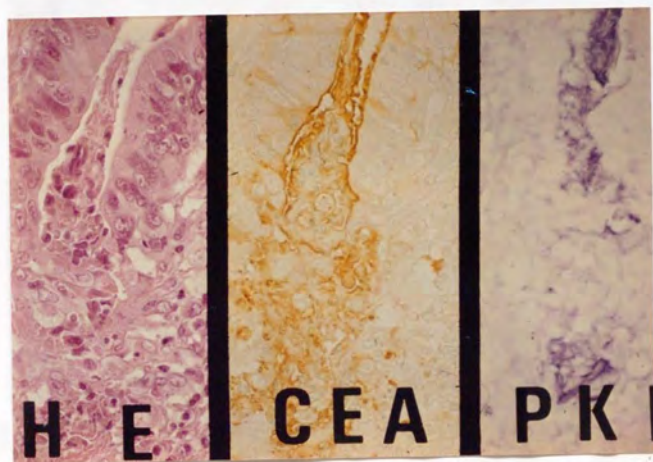


写真 17 癌のCEA染色とPKP染色
 (左:HE 染色、中:CEA 染色、右:PKP 染色 ×400)

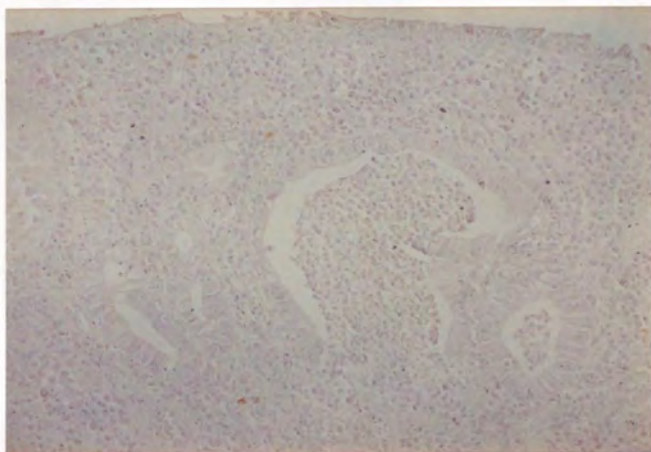


写真18 潰瘍性大腸炎における crypt abscessの CEA染色性
crypt abscessは CEA陰性である。
(CEA 染色×400)

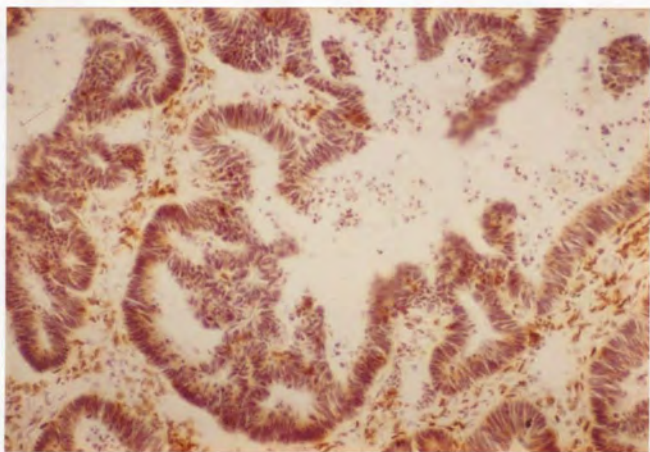


写真 19 debris の Leu 1 染色性

腫瘍間質には Leu 1 陽性細胞がみられるが debris
は Leu 1 陰性である。(Leu 1 染色 × 100)

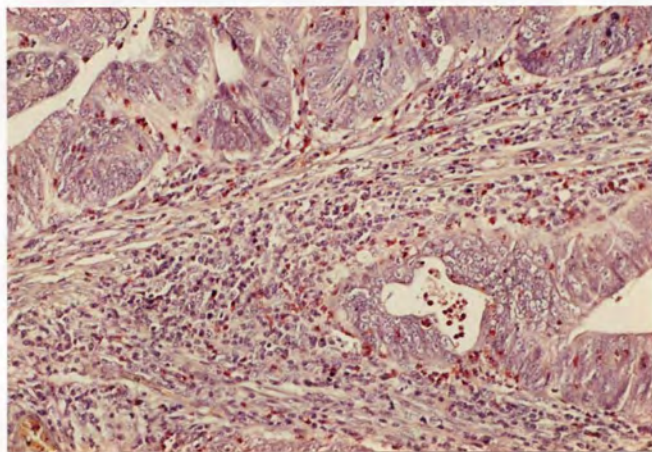


写真20 癌巣への顆粒球系細胞の浸潤
(naphтол-ASD 染色 × 200)

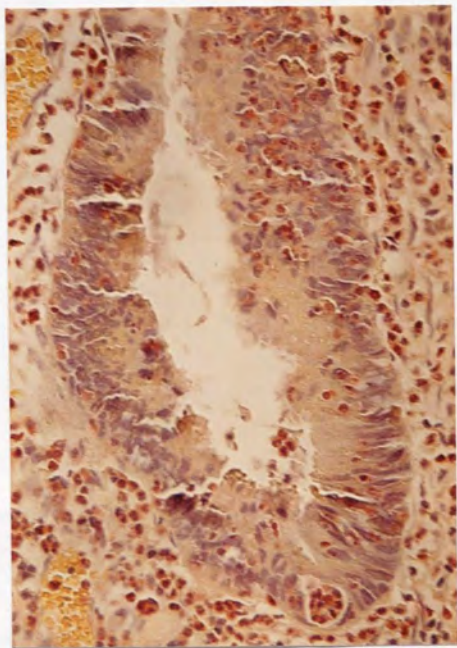


写真 2 1 中等度異型腺腫への顆粒球系細胞の浸潤
(naphthol-ASD 染色 × 400)

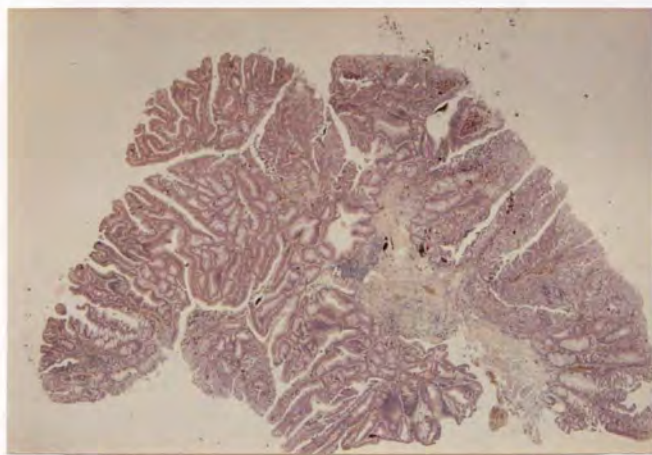


写真 2 2 a 径4 mmの腺腫内癌 (naphtol-ASD 染色 × 4)

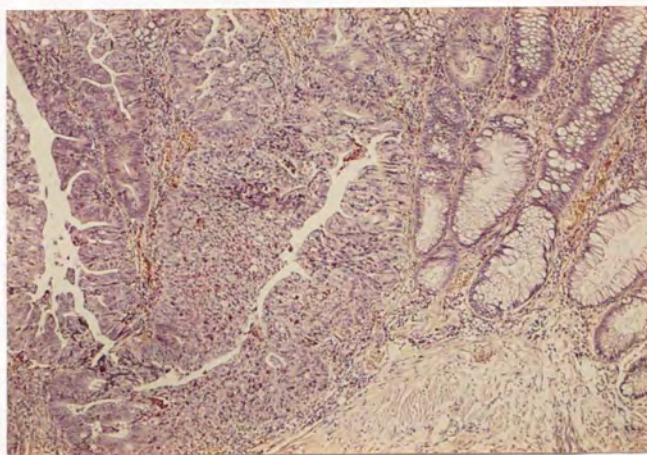


写真 2 2 b 径4 mmの腺腫内癌 (naphtol-ASD 染色 × 100)
癌巣には顆粒球系細胞の浸潤が多いが、腺腫
巣では少ない。

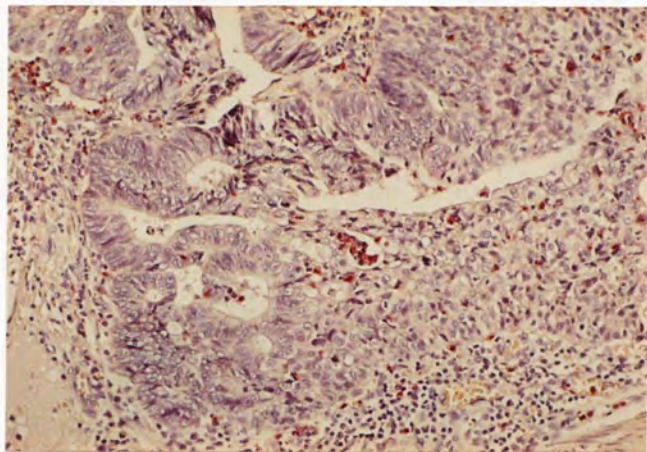


写真 2 2 c 腺腫内癌の癌巣における顆粒球系細胞の浸潤と debris
(naphthol-ASD 染色 × 200)

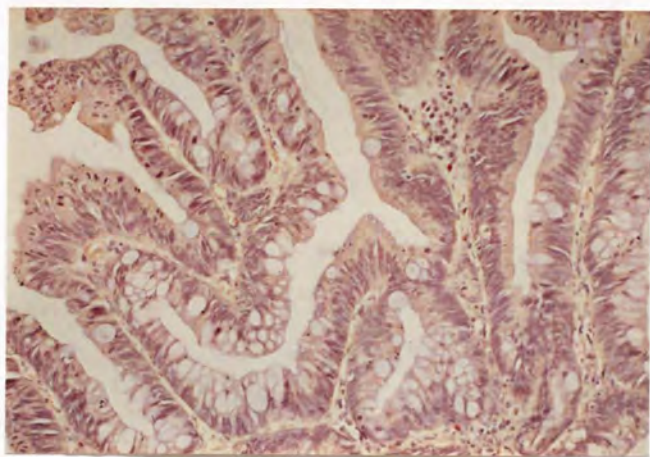


写真 2 2 d 腺腫内癌の腺腫巣における顆粒球系細胞の浸潤
(naphthol-ASD 染色 × 200)

