

子宮頸癌における所属リンパ節の 形態学的反応とその免疫学的意義

光本隆吉 堀井高久

近畿大学医学部産科婦人科学教室

Morphological response of the regional lymph nodes in patients
with cervical cancer and its immunological significance

Takayoshi Mitsumoto and Takahisa Horii

Department of Obstetrics and Gynecology, Kinki University
School of Medicine, Osaka, Japan

ABSTRACT

Sixty six lymph nodes in 22 cases of uterine cervical cancer were studied to evaluate the regional lymph nodes morphologically and immunohistochemically. Lymph nodes were systematized into four basic patterns, according to the morphological classification described by Tsaklakis et al.: lymphocyte predominance; germinal center predominance; unstimulated; and lymphocyte depletion. Lymph node lymphocytes and locally infiltrating lymphocytes were examined immunohistochemically using lymphocyte surface antigens (CD4, CD8, CD57 and CD16). In addition, in 231 cases of uterine cervical cancer was investigated the relationship between the lymph-node morphological patterns and nodal metastases, depth of invasion, histological type of primary lesions in CPL and/or WHO classification, number of locally infiltrating lymphocytes, and prognoses of the patients. Among the four lymph-node morphological patterns, "lymphocyte predominance" nodes were found to have the highest values of CD4/8, CD57, and CD16, while "lymphocyte depletion" nodes had the lowest values. In the cervical region, the ratio of CD4/8 rose proportionally to the number of infiltrating lymphocytes encompassing cancer nests, while it dropped in the regional lymph nodes. Nodes affected by metastases had higher rate of CD8-positive cells than the healthy ones. The nodes in cases without metastases had the highest rate of "lymphocyte predominance", the negative nodes in cases with metastases had an intermediate rate, while the lowest rate in this pattern was registered in metastases-positive nodes. In the cases free from nodal metastases, a direct relationship was found between the four lymph-node morphological patterns and the depth of invasion, CPL and/or WHO classification of primary lesions and the magnitude of lymphocyte infiltration around the tumor. In the cases with nodal metastases, patients with "lymphocyte predominance" nodes and "germinal center predominance" nodes had significantly higher five-year survival rate, than those with

“lymphocyte depletion” nodes. These findings suggest that morphological and immunohistochemical analysis of the regional lymph nodes may have prognostic significance in patients with invasive cervical cancer.

Key words : cervical cancer, lymph node metastases, morphological classification, immunohistochemistry, prognosis

緒 言

癌のリンパ節転移は担体の予後を決定する重要な factor の 1 つであり、他臓器と同様子宮頸癌患者においてもリンパ節転移例の予後不良な事は周知の事実である。癌患者の所属リンパ節については病理組織学的な変化と予後との関連が過去にいくつか報告されて来たが、近年、癌増殖局所および所属リンパ節は担癌生体における抗腫瘍作用発現の場としての認識が深まり、生体防御機構の一環としての役割が強調されるに至っている。また、最近モノクローナル抗体の関与¹ および臨床的な研究への応用に伴い、Lymph node lymphocyte (LNL) の検討から所属リンパ節の免疫学的機能が次第に明らかにされつつある。

癌のリンパ節転移の機序に関しては、今なお不明な点が多いが、本研究では、子宮頸癌症例におけるリンパ節転移の病態、ひいては転移機構を明らかにするために子宮頸癌患者の摘出リンパ節および摘出子宮を主として形態学的、免疫組織学的に検討し若干の知見を得たので報告する。

対象および方法

1. リンパ節の反応形態とその機能的裏付け
1989年10月より1990年5月までに近畿大学附属病院産婦人科にて広汎子宮全摘術および所属リンパ節郭清を行った子宮頸癌症例22例 (Ib 期16例, II 期6例) を対象とし、各症例それぞれ3個の摘出リンパ節計66個を材料とした。なお22例中、所属リンパ節転移例は5例、非転移例は17例であり、転移リンパ節6個、非転移節60個である。

上記の対象の摘出リンパ節について H.E. 染色組織標本より転移の有無などについて病理組織学的検索を行うとともに形態学的に分類を行った。すなわち Tsaklakis らのリンパ節の形態学的分類² に基づき、個々のリンパ節をその3割面に於ける優位の反応像から次の4つの type に分類した。

I Lymphocyte predominance pattern (LP): 皮質から傍皮質を中心にリンパ節全域にリンパ球の増加を認め、皮質には germinal center はほとんど認めず、リンパ洞には時として sinus histiocytosis が認められる。(Fig. 1)

II Germinal center predominance pattern (GCP): 皮質をはじめリンパ節全全域に肥大した germinal center の増加を認め、傍皮質は目立たなくなり、髄索には plasma blast や plasma cell の増加をみる。(Fig. 2)

III Lymphocyte depletion pattern (LD): リンパ節全域に及ぶリンパ球の減少, germinal center の欠如があり、それに伴う線維の増生およびヒアリン変性の著明なもの。(Fig. 3)

IV Unstimulated node (UN): 傍皮質から皮質にかけてリンパ球の増加は認めず, germinal center も欠如するが、線維の増生およびヒアリン変性はあまり認められない。リンパ洞は明瞭だが、わずかに細網内皮細胞を認めるにとどまる。(Fig. 4)

また上記の同じ対象につき摘出時のリンパ節の一部より新鮮凍結切片を作製した。

すなわち、材料を摘出後出来るだけ迅速に OCT compound (Miles Scientific, U. S. A.) で包埋し、 -80°C の Isopentane 下に急速凍結し、同じ温度下の deep freezer 中に保存した。

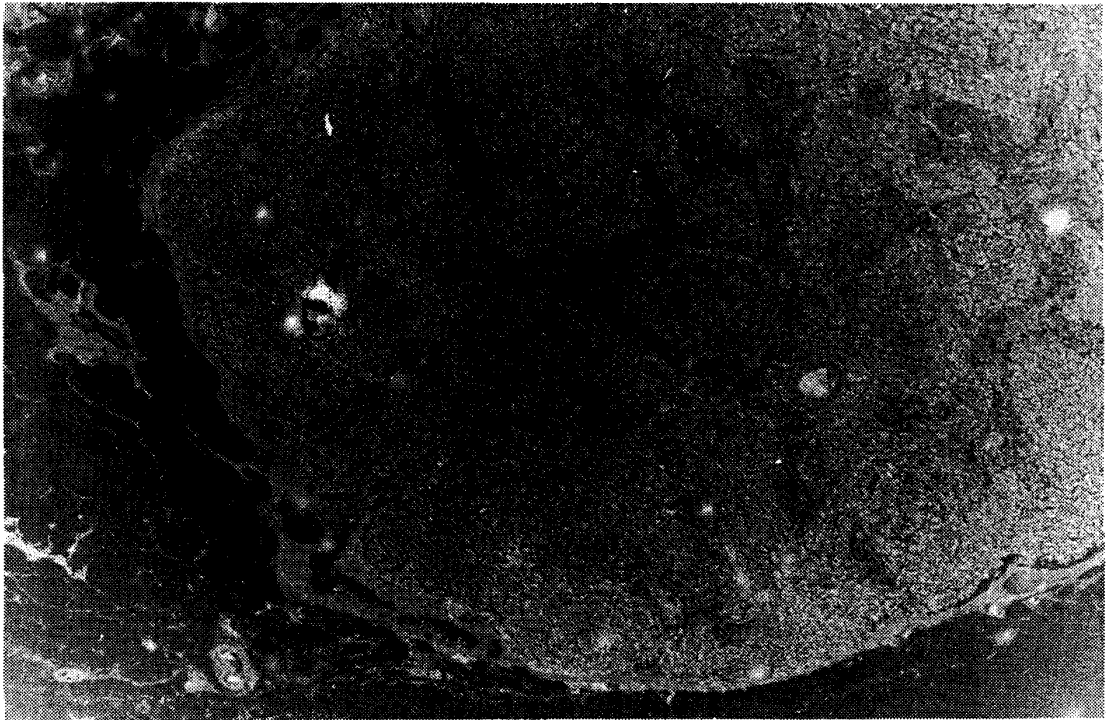


Fig. 1 Lymph node with lymphocyte predominance pattern showing increased numbers of lymphocytes in cortex and paracortex with absence of germinal centers (H. E. $\times 160$)

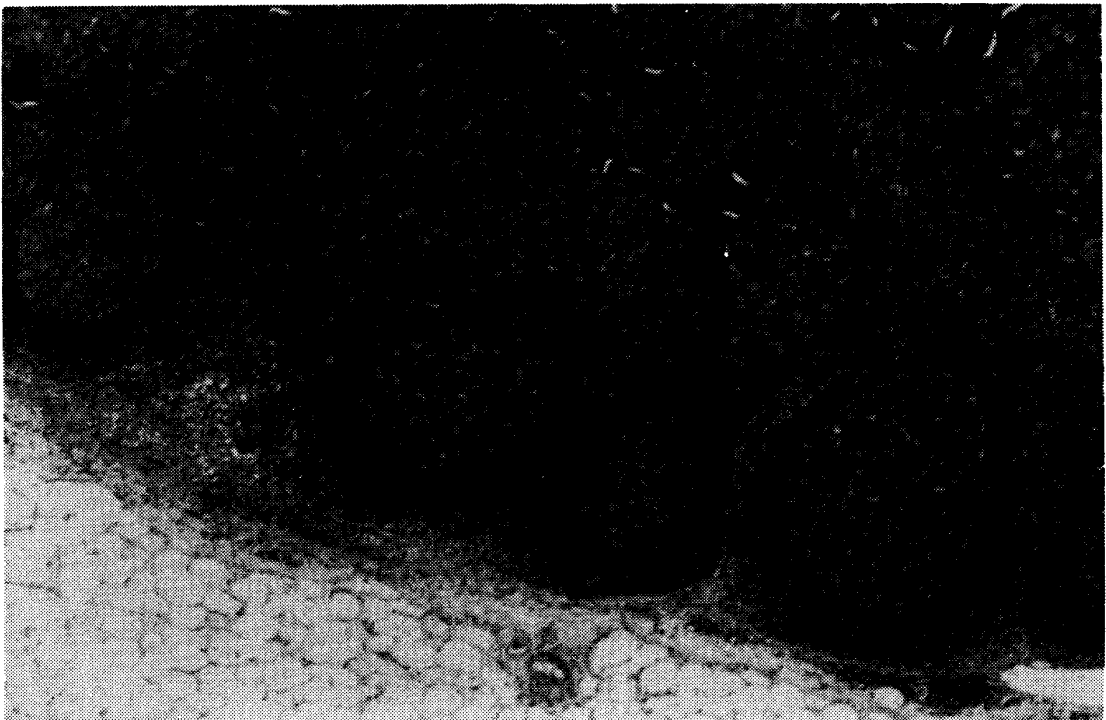


Fig. 2 Lymph node with germinal center predominance pattern showing prominent germinal centers throughout the cortex (H. E. $\times 160$)

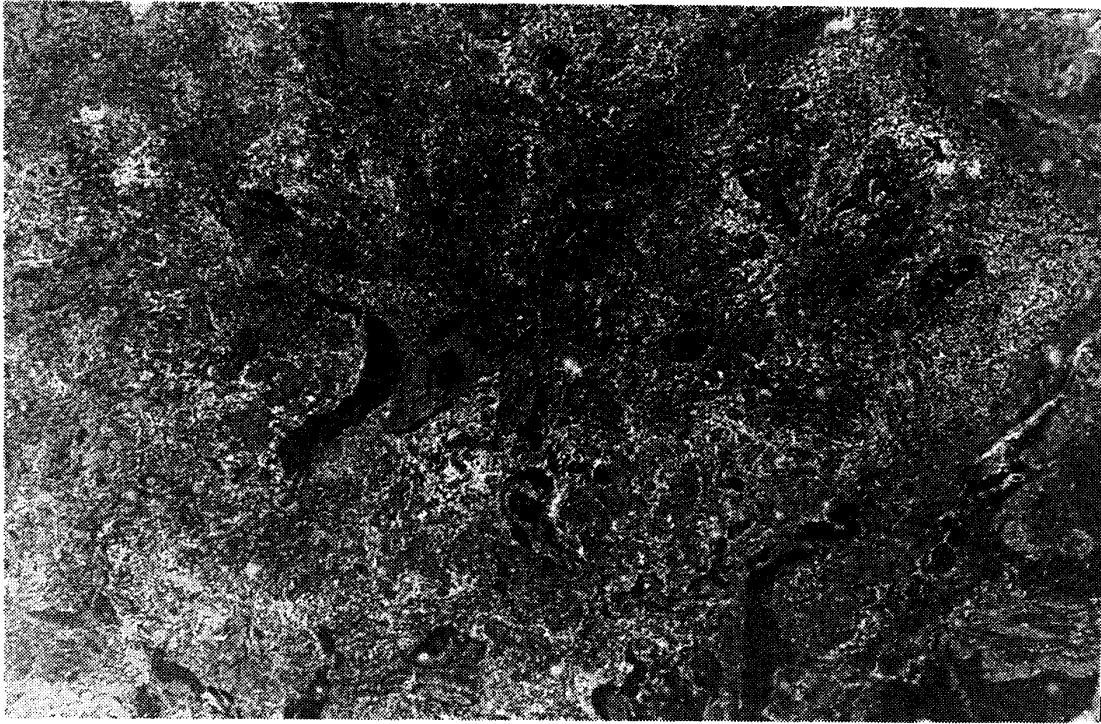


Fig. 3 Lymph node with lymphocyte depletion pattern showing hypocellularity of cortex and paracortex with marked fibrosis and hyaline deposits (H. E. $\times 160$)

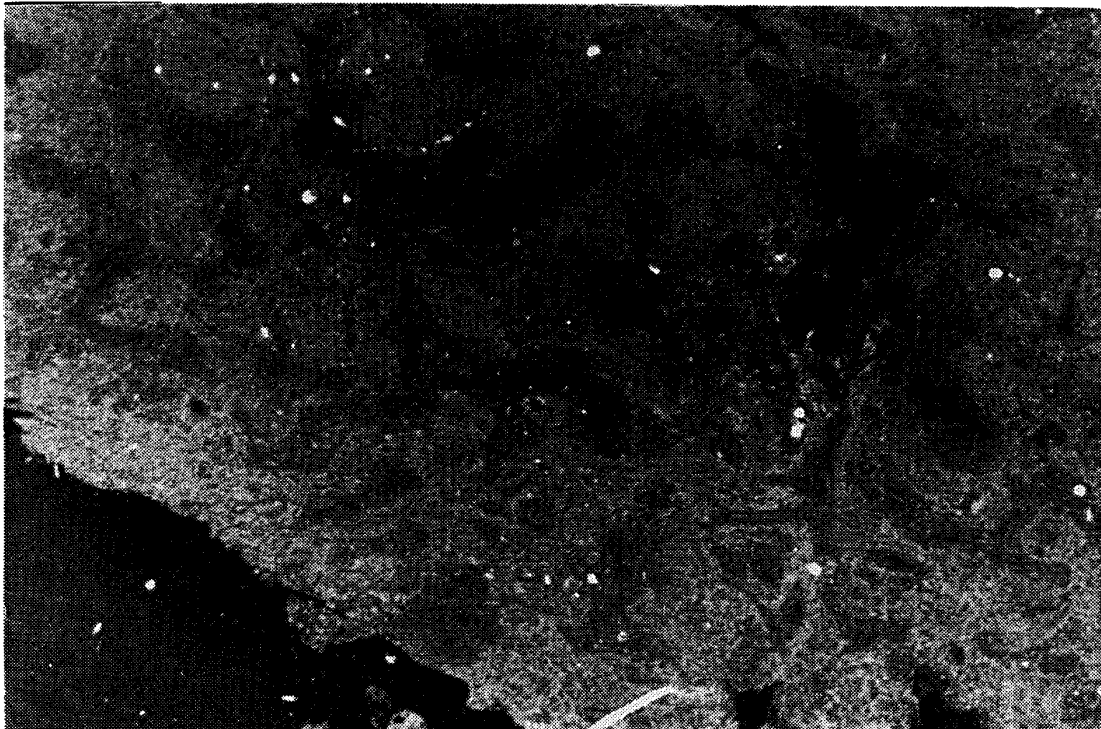


Fig. 4 Unstimulated lymph nodal pattern showing prominent sinusoids and no germinal centers in the cortex (H. E. $\times 160$)

1. Fixation in cold acetone (4°C, 10min) and drying
- ↓
2. Removing endogenous peroxidase in 3% H₂O₂ PBS (20min)
- ↓
3. 5% normal horse serum (20min)
- ↓
4. Monoclonal antibody (30min) and washing in PBS
- ↓
5. Biotin-labeled anti-Mouse IgG (30min) and washing in PBS
- ↓
6. Avidin-biotin-peroxidase complex (30min) and washing in PBS
- ↓
7. Diaminobenzidine-H₂O₂ reaction and washing in water
- ↓
8. Hematoxylin staining and washing in water
- ↓
9. dehydration and mounting

Fig. 5 Avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) method

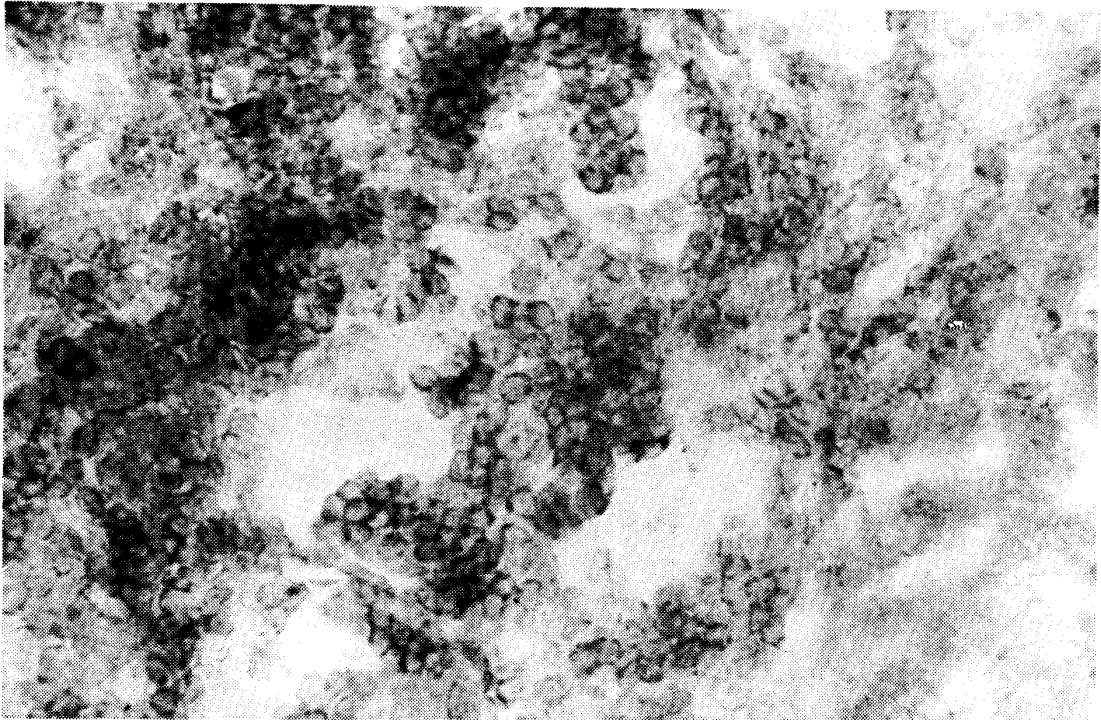


Fig. 6 Regional lymph node. ABC staining with anti Leu3a antibody (×1600)

これをクリオスタットで約 5 μm の凍結切片に薄切して、0.01% Poly-L-Lysin でコーティングしたスライドガラス上に貼付した。1時間の風乾および冷アセトンで10分間固定後 LNL における機能的検討を行うため、Fig. 5 で示した ABC 法酵素抗体法^{3,4} による染色を行った。今回の検討を行った表面抗原は CD8, CD4, CD57, CD16 で一次抗体として用いたモノクローナル抗体は Leu2a, Leu3a, Leu7, Leu11b 抗体 (Becton-Dickinson, U. S. A.) であり、そ

れぞれの染色工程上、一次抗体添加をしない同一薄切切片を置き、negative control とした。

各抗体に反応する表面抗原の判定は、リンパ節の傍皮質～皮質領域について、光顕400倍視野下に Erma 社接眼方眼マイクロメーターを使用して、一片 100 μm 四方の area を5カ所選び、各 area 内のリンパ球中の染色陽性細胞数を百分率で示し、その平均値で評価した。Figure 6 はリンパ節を Leu3a 抗体にて染色した強拡大像である。

2. 癌の進展とリンパ節の反応形態の検討

1975年5月より1984年12月までに同施設にて、手術を施行した子宮頸癌術後分類 Ib 期～II 期症例のうち、病理組織学的検索により所属リンパ節転移が認められた108例、非転移例105例、さらに Ia 期28例の計241例を H. E. 標本による検索の対象とした。Ib 期～II 期転移例108例より摘出された転移節は359個、非転移節は1,843個であり、Ib 期～II 期非転移例105例の所属節は1,616個、Ia 期非転移例28例の所属節は418個、計4,232個の摘出リンパ節を材料とした。(Table 1)

Table 1 Histological study cases
(May 1975～December 1984)

PT stage	Nodal metastasis	No. of cases	No. of lymph nodes
I a	negative	28	418
I b + II	negative	105	1,616
	positive	108	2,202
		(metastatic 359 non-metastatic 1,843)	

2.1. リンパ節の反応形態と転移の有無

Table 1 の H. E. 標本対象中の Ia 期症例を除く Ib 期～II 期症例213例の摘出リンパ節計3,818個を材料として、前述のリンパ節の形態学的分類により、これらのリンパ節を4つの type に分類し転移の有無との関係を検討した。

2.2. 転移リンパ節の反応形態と転移像

Table 1 の H. E. 標本対象中の転移例108例の転移所属リンパ節359個を材料としてリンパ節内の癌病巣の程度につき Kurokawa-Sato の組織学的分類⁵により、Fig. 7 の如く分類した。すなわち、

Grade 0 : リンパ節内に Tumor cell を認めない

Grade I : Tumor cell が辺縁洞に増殖する

Grade II : Tumor cell が中間洞を越えて増殖し、髄質内に浸潤

Grade III : Tumor cell がほぼリンパ節全域を占める

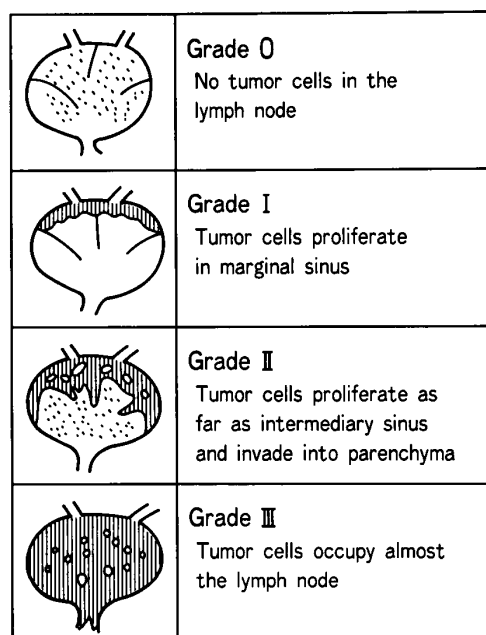


Fig. 7 Grade of nodal metastasis
(Kurokawa-Sato)

この分類を用いて転移リンパ節の反応形態と転移の程度につき検討した。

2.3. 原発巣の浸潤の深さとリンパ節の反応

Table 1 の H. E. 標本対象中の非転移例 Ia 期28例および Ib 期74例の所属リンパ節計2,034個を材料にして、原発巣の浸潤の深さとリンパ節の反応形態との関係を検討した。

3. リンパ節の反応形態と原発巣の病態

3.1. リンパ節の反応と原発巣 CPL 分類

Table 1 の非転移例 Ib 期74例について、原発巣 CPL 分類を CP 型と L 型に分けてリンパ節の反応との関係を検討した。なお CPL 分類は今井⁶・赤崎⁷の分類を用いた。

3.2. リンパ節の反応形態と原発巣の組織型

Table 1 の非転移例 Ib 期74例について原発巣の組織型とリンパ節の反応形態との関係を検討した。なお組織型については WHO 組織分類基準に従った。

3.3. リンパ節の反応形態と原発巣周囲リンパ球浸潤

Table 1 の非転移例 Ib 期74例について浸潤の深さにより 1) 3～5 mm 2) 5 mm 以上の2つに分けそれぞれにつき、原発巣の周囲リンパ球浸潤の程度とリンパ節の反応形態との関係を検討した。

なおリンパ球浸潤の程度については、浸潤の程度を半定量法により、(-): 浸潤なし, (±): ほとんど浸潤なし, (+): 軽度, (⊕): 中等度, (⊕⊕): 強度の5段階に分類した。

4. 原発巣周囲浸潤リンパ球と LNL の表面抗原の検討

1. で対象とした22例について、摘出子宮より原発巣および間質を含んだ病巣組織片を材料とし、リンパ節と同様に新鮮凍結切片を作製し、原発巣の周囲浸潤リンパ球についても LNL と同様の免疫組織化学的検討を行ない両者の表面抗原を比較検討した。

5. 個々の症例におけるリンパ節の反応形態の検討

5.1. リンパ節転移単数個症例の検討

Table 1 の転移例108例中リンパ節転移単数個の症例38例を対象とし、WHO 分類による組織型にて分類し転移リンパ節の反応形態との関係を検討した。

5.2. リンパ節の反応と予後

Table 1 の転移例108例を対象として転移節の反応と予後との関係を検討した。なおリンパ節転移複数個の症例についてはその dominant なリンパ節の反応形態に分類し、予後については最小5年生存率(他病死, 不明例を死亡として算出)ですべて算出した。

成績

1. リンパ節の反応形態とその機能的裏付け
新鮮凍結切片を作製した60個の非転移リンパ

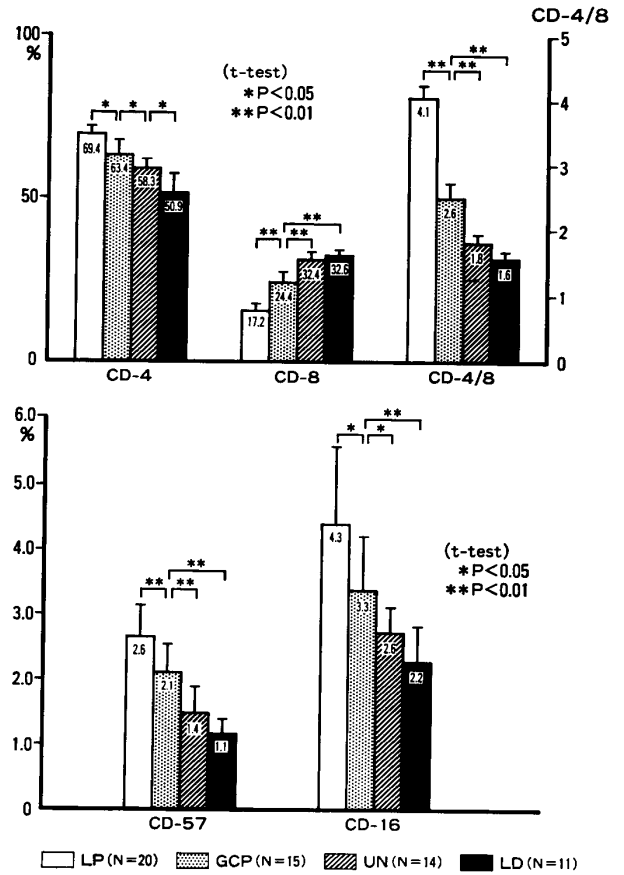


Fig. 8 Relationship between morphological pattern and lymphocyte surface antigens in lymph node

節を原発巣の病態にかかわらず、4つの type のリンパ節の反応形態に分類し、各 type 間での LNL 表面抗原陽性率の平均値を Fig. 8 で示した。

CD4⁺ 細胞出現率は LP で最も高く、GCP, UN, LD の順に有意 (p<0.05) に低下を認め、CD8⁺ 細胞については逆に LP, GCP, UN or

Table 2 Relationship between morphological pattern and nodal metastasis

(May 1975~December 1984)

Nodal metastasis	Morphological pattern (%)			
	Lymphocyte predominance	Germinal center predominance	Unstimulated node	Lymphocyte depletion
Nodes of negative cases	1,148 (71.0)	194 (12.0)	197 (12.2)	77 (4.8)
positive cases	821 (44.5)	293 (15.9)	398 (21.6)	331 (18.0)
negative nodes	48 (13.4)	141 (39.3)	18 (5.0)	152 (42.3)
positive nodes				

(X² test) ** p<0.01

LD の順に高値となり，CD 4/8 比は LP (4.1) で最も高く，GCP (2.6)，ON (1.8)，LD (1.6) の順に低下を認めた。

また CD57⁺ および CD16⁺ 細胞出現率については，CD4⁺ および CD8⁺ 細胞に比べて頻度が低い結果となったが，4つの type 間での比較はやはり LP で最も高値で，GCP，UN，LD の順に有意 (p<0.05) に低下を認めた。

2. 癌の進展とリンパ節の反応形態の検討

2.1. リンパ節の反応形態と転移の有無

Table 1 の H. E. 標本対象中の頸癌 Ib 期および II 期症例213例の所属リンパ節計3,818個を原発巣の病態にかかわらず4つの反応形態に分類し，その頻度を Table 2 に示した。

非転移例の所属リンパ節に比べて転移例非転移節は，LP の頻度は有意 (p<0.01) に低く，GCP，UN，LD の頻度は逆に有意 (p<0.01) に高い結果を得た。

また転移例中では，非転移節に比べて転移節では，LP の頻度の低下および GCP，UN，LD の頻度の上昇を有意 (p<0.01) に認めた。

2.2. 転移リンパ節の反応形態と転移像

Table 1 の H. E. 標本対象中の転移例108例の転移所属リンパ節359個につき，リンパ節の反応形態と転移の程度との関係を Table 3 に示した。

転移の程度が Grade I の時は，GCP を呈するリンパ節が最も頻度が高いが，LP を呈するリンパ節も23.6%に認められた。Grade IIでは LP の頻度の低下，LD の頻度の上昇を認めるが，GCP を呈するリンパ節は依然高い頻度で認められた。Grade IIIではさらに LP の頻度の低下とともに GCP の頻度も低下し，高い頻度で LD を呈するリンパ節を認めた。

2.3. リンパ節の反応形態と原発巣の浸潤の深さ

Table 1 の H. E. 標本対象中の非転移例 Ia 期28例および Ib 期74例を対象として，原発巣の浸潤の深さとリンパ節の反応形態の関係を Table 4 に示した。Ia 期の所属リンパ節の大部分 (89.2%) が LP であり，浸潤の深さが増すにつれ，LP の頻度は有意 (p<0.01) に低下し逆に GCP，UN，LD の頻度の有意 (p<0.01) な上昇を認めた。

Table 3 Relationship between morphological pattern and grade of nodal metastasis (May 1975~December 1984)

Grade of nodal metastasis	Morphological pattern (%)			
	Lymphocyte predominance	Germinal center predominance	Unstimulated node	Lymphocyte depletion
I	16 (23.6)	36 (52.2)	5 (7.2)	12 (17.4)
II	32 (16.4)	92 (47.2)	12 (6.1)	59 (30.3)
III	0 (0.0)	13 (13.7)	1 (1.1)	81 (85.2)

(X² test) * p<0.05 ** p<0.01

Table 4 Relationship between morphological pattern and depth of local invasion in non-metastatic cases (May 1975~December 1984)

Depth of local invasion	Morphological pattern (%)			
	Lymphocyte predominance	Germinal center predominance	Unstimulated node	Lymphocyte depletion
I a	373 (89.2)	16 (3.8)	27 (6.5)	2 (0.5)
I b 3~5mm	441 (78.2)	54 (9.6)	50 (8.9)	19 (3.3)
5mm~	364 (68.9)	55 (10.4)	71 (13.4)	38 (7.2)

(X² test) ** p<0.01

3. リンパ節の反応形態と原発巣の病態

3.1. リンパ節の反応形態と原発巣 CPL 分類

同様に非転移例 I b 期74例について、原発巣の CPL 分類とリンパ節の反応形態を、C.P 型と L 型に分けて Table 5 に示した。

L 型は C.P 型に比べ LP の頻度が低く、GCP の頻度が高く、UN, LD では頻度に差は認められなかった。

3.2. リンパ節の反応形態と原発巣の組織型

Table 1 の H.E. 標本対象中の非転移例 I b 期74例について、原発巣の組織型とリンパ節の反応形態との関係を Table 6 に示した。

小細胞型類表皮癌では、大細胞型類表皮癌に比べ、有意 (p<0.01) に LP の頻度が高く、また腺癌では他の組織型に比べ、有意 (p<0.05) に GCP の頻度が高かったが、他にはリンパ節の反応形態に差異を認めなかった。

3.3. リンパ節の反応形態と原発巣周囲リンパ球浸潤

原発巣周囲リンパ球浸潤と所属リンパ節の関係については、非転移例 I b 期74例につき原発巣の浸潤の深さを 1) I b 期 3~5 mm 2) I b 期 5 mm 以上にわけて Table 7 に示した。

リンパ球浸潤の程度について 3群に分けると、

1) I b 期 3~5 mm の症例では、LP はそれぞれ (-)~(±) 群 : 72.5%, (+) 群 : 75.2%, (++)~(+++) 群 : 84.7% は、原発巣周囲リンパ球浸潤の程度が強度に認められた症例の所属リンパ節で LP が他の 2 群より有意 (p<0.05) に高い頻度で認められた。また GCP でもリンパ球浸潤が (+) 以上の群で頻度が高い傾向を認め、逆に UN は (-)~(±) 群 : 13.0%, (+) 群 : 9.5%, (++)~(+++) 群 : 6.0% と UN は原発巣周囲リンパ球浸潤のほとんど認められない症例で高い頻度で認められた。また LD についても UN とほぼ同様の結果であった。

2) I b 期 5 mm 以上の症例では、LP はそれぞれ (-)~(±) 群 : 64.3%, (+) 群 : 85.0%,

Table 5 Relationship between morphological pattern and CPL classification of primary lesion in stage I b non-metastatic cases (May 1975~December 1984)

CPL classification	Morphological pattern (%)			
	Lymphocyte predominance	Germinal center predominance	Unstimulated node	Lymphocyte depletion
CP Type	682 (74.5)*	89 (9.7)*	97 (10.6)	47 (5.2)
L Type	121 (68.0)	25 (14.0)	22 (12.4)	10 (5.6)

(X² test) * p<0.05

Table 6 Relationship between morphological pattern and histological type of primary lesion in stage Ib non-metastatic cases (May 1975~December 1984)

Histological type	Morphological pattern (%)			
	Lymphocyte predominance	Germinal center predominance	Unstimulated node	Lymphocyte depletion
Epidermoid ca.				
Large cell type	429 (70.2)**	66 (10.8)	75 (12.3)	41 (6.7)
Small cell type	175 (81.0)**	14 (6.5)	19 (8.8)	8 (3.7)
Keratinizing type	85 (79.4)	5 (4.7)	16 (15.0)	1 (0.9)
Mixed ca.	67 (77.0)	8 (9.2)	6 (6.9)	6 (6.9)
Adeno ca.	49 (69.0)	16 (22.5)	5 (7.1)	1 (1.4)

(X² test) * P<0.05 ** P<0.01

Table 7 Relationship between morphological pattern and lymphocytic infiltration surrounding primary lesion in stage Ib nonmetastatic cases (May 1975 ~ December 1984)

Lymphocytic infiltration	No. of morphological pattern ^a (%)			
	LP	GCP	UN	LD
1) depth of invasion 3~5mm				
(-) ~ (±)	95 (72.5)	8 (6.1)	17 (13.0)	11 (8.4)
(+)	164 (75.2)	30 (13.8)	20 (9.2)	4 (1.8)
(++) ~ (###)	182 (84.7)	16 (7.4)	13 (6.0)	4 (1.9)
2) depth of invasion ≥5mm				
(-) ~ (±)	72 (64.3)	16 (14.3)	13 (11.6)	11 (9.8)
(+)	108 (85.0)	8 (6.3)	9 (7.1)	2 (1.6)
(++) ~ (###)	184 (63.7)	31 (10.7)	49 (17.0)	25 (8.6)

(χ² test) * P<0.05 ** P<0.01^aLP : lymphocyte predominance
UN : unstimulated modeGCP : germinal center predominance
LD : lymphocyte depletion

(++)~(###)群 : 63.7%と原発巣周囲リンパ球浸潤の程度が(+)群で LP の頻度が最も多くなり, リンパ球浸潤の程度が強度の群では, LP の頻度は 1)の I b 期 3~5 mm の同じ群に比べて有意 (p<0.01) に低下を認めた. 一方 GCP では, 逆にリンパ球浸潤のていどの(+)群で6.3%と頻度が最も低く, (++)~(###)群では10.7%とやや高値を示し, UN および LD においては, (++)~(###)群で(+)群に対して有意 (p<0.05) に高値を認めた.

4. 原発巣周囲浸潤リンパ球および LNL の表面抗原の検討

原発巣周囲リンパ球浸潤の程度を非転移例において3群に分け, これら3群および転移例につき, 原発巣周囲浸潤リンパ球および LNL の CD4, CD8, CD4/8 を Table 8 に, CD57, CD

16を Table 9 に示した.

原発巣周囲浸潤リンパ球の CD4, CD8 については, CD4⁺ 細胞は非転移例の各群間に明らかな差異は認められず, また転移例との比較においても明らかな差異は認められなかった. 次に CD8⁺ 細胞では非転移例の(-)~(±)群 : 14.4%, (+)群 : 28.1%, (++)~(###)群 : 36.8%, 転移例 : 26.0%と非転移例の3群間にはすべて有意 (p<0.01) な差を認め, 転移例は非転移例の(-)~(±)群にのみ有意 (p<0.05) な差を認め, 他の2群は有意な差を認めなかった. CD4/8 においても非転移例の各群間で, (-)~(±)群 : 1.9, (+)群 : 1.1, (++)~(###)群 : 0.8, 転移例 : 1.1と CD8⁺ 細胞とまったく同じ傾向を認めた. LNL の CD4, CD8 については, CD4⁺ 細胞は非転移例の(-)~(±)

Table 8 Surface antigens of infiltrating lymphocytes surrounding primary lesion and lymph node lymphocyte

Lymphocytic infiltration surrounding primary lesion	Infiltrating lymphocyte surrounding primary lesion			Lymph node lymphocyte		
	CD-4 (%)	CD-8 (%)	CD-4/8	CD-4 (%)	CD-8 (%)	CD-4/8
non-metastatic cases						
(-) ~ (±)	27.0±6.2 ⁺	14.4±4.7	1.9±0.3	60.3±9.6	29.1±7.6	2.1±0.5
(+)	31.6±5.9	28.1±4.4	1.1±0.2	64.1±5.4	22.6±6.0	2.8±0.6
(++) ~ (###)	28.7±5.0	36.8±2.5	0.8±0.2	67.6±5.4	19.4±6.3	3.6±0.4
metastatic cases						
	25.2±6.9	26.0±9.4	1.1±0.4	51.6±6.1	34.3±4.7	1.5±0.4

*Mean ±S.D. (t test) * p<0.05 ** p<0.01

Table 9 Surface antigens of infiltrating lymphocyte surrounding primary lesion and lymph node lymphocyte

Lymphocytic infiltration surrounding primary lesion	Infiltrating lymphocyte surrounding primary lesion		Lympho node lymphocyte	
	CD-57 (%)	CD-16 (%)	CD-57 (%)	CD-16 (%)
non-metastatic cases				
(-) ~ (±)	5.0±1.3 [†]	8.7±2.6	1.8±0.6	3.4±0.8
(+)	11.8±2.7 ^{**}	18.5±3.4 ^{**}	2.4±0.6 ^{**}	3.8±0.7
(++) ~ (+++)	11.1±3.6	19.8±4.5	2.6±0.5	4.5±1.7 [*]
metastatic cases				
	11.7±2.9	21.5±2.5	2.9±1.2	4.7±1.3

[†]Mean ±S.D. (t test) * p<0.05 ** p<0.01

群：60.3%，(+)群：64.1%，(++)～(+++)群：67.6%と原発巣のリンパ球浸潤の程度が強くなるにつれ増加する傾向を認め、転移例では51.6%と非転移例に比べ有意 (p<0.05) に低値となった。次に CD8⁺ 細胞では非転移例のリンパ球浸潤の程度が強くなるにつれ減少する傾向を認め、転移例では非転移例に比べ有意 (p<0.05) に増加を認めた。CD4/8 では、非転移例では(-)～(±)群：2.1，(+)群：2.8，(++)～(+++)群：3.6とリンパ球浸潤の程度が強くなると大きくなる傾向を認めたが、転移例では CD 4/8 は、1.5と非転移例に比べ有意 (p<0.05) に小さくなり、原発巣周囲浸潤リンパ球の CD 4/8 に近い値を示した。

次に Table 9 に示した CD57, CD16 についてみると、原発巣周囲浸潤リンパ球の CD57⁺ 細胞および CD16⁺ 細胞共に、非転移例のリンパ球浸潤の程度が強くなると高くなる傾向を認め、転移例では非転移例の(+)群および(++)～(+++)群とほぼ同様の値であった。また LNL の CD57⁺ 細胞および CD16⁺ 細胞においても原発巣周囲浸潤リンパ球の場合と同様にリンパ球浸潤の程度が強くなると高くなる傾向を認め、転移例ではさらに高値となったが、全般的な原発巣周囲浸潤リンパ球と LNL の比較では CD57⁺ および CD16⁺ 細胞は、原発巣周囲浸潤リンパ球に比べ LNL では低値であった。

5. 個々の症例におけるリンパ節反応の検討

5.1. リンパ節転移単数個の症例検討

転移例 108例中 転移単数個の症例38例について WHO 分類による組織型にて分類し Table

10に示した。大細胞型18例，小細胞型9例，混合型癌7例，腺癌は含まれていない。また同じ38例をリンパ節の反応形態にて分類すると，LP 8例，GCP 18例，UN 2例，LD 6例であった。LP の8例のうちでは4例に小細胞型類表皮癌を認めた。

5.2. リンパ節の反応形態と予後

転移例 108例の 転移節の各反応形態による予後の検討を行ない Table 11に示した。なお転移節が複数個の症例では、転移の程度が、dominant なものをその症例の反応形態とした。その結果、それぞれの反応形態での5年生存率は、それぞれ LP=71.4%，GCP=66.7%，UN=30.0%，LD=16.7%であった。

LP および GCP の5年生存率は、それぞれ LD の5年生存率に対して有意 (p<0.01) に高かった。

考 察

近年、担癌生体の所属リンパ節は、抗腫瘍作用発現の場としての認識が深まり⁸、動物モデルにおける実験結果から、所属リンパ節が抗腫瘍免疫の成立および抗腫瘍機構に非常に重要な役割を担っていることが明らかにされている⁹⁻¹³。さらに免疫学の進歩により、免疫担当細胞のリンパ節における局在についても解明されつつあり¹⁴、paracortical area がTリンパ球，germinal center がBリンパ球の免疫反応の場であると考えられている。このTおよびBリンパ球の局在については、近年モノクローナル抗体の開発¹ およびその利用により、Pop-

Table 10 Cases With single metastatic node
(May 1975 ~ December 1984)

CPL & WHO [§] classification of primary lesion		Lymph node morphology [†]					
		metastatic nodes with grade		non-metastatic nodes			
				LP	GCP	UN	LD
C-type	S	GCP	III	8	4	2	3
P-type	S	LP	I	8	1	9	6
	S	LP	I	9	6	9	5
	M	LP	I	8	4	1	2
	S	LP	II	9	2	3	4
	S	GCP	I	8	2	1	0
	M	GCP	I	9	3	8	6
	S	GCP	I	0	6	3	14
	L	GCP	I	0	1	0	9
	L	GCP	II	5	0	5	3
	L	GCP	III	13	3	4	5
	S	LD	I	6	0	3	13
	M	LD	I	1	2	1	8
	L	LD	II	6	1	4	5
L-type	L	LP	I	18	4	5	0
	L	LP	I	13	4	1	1
	K	LP	I	10	0	8	4
	S	LP	II	13	1	2	2
	L	GCP	I	6	2	2	2
	K	GCP	I	19	3	1	6
	M	GCP	I	0	3	2	9
	L	GCP	I	0	8	5	5
	L	GCP	I	9	7	3	0
	M	GCP	I	0	22	2	2
	L	GCP	I	8	6	1	1
	K	GCP	II	14	3	2	1
	L	GCP	II	6	1	5	2
	K	GCP	II	1	8	22	15
	L	GCP	II	4	4	2	1
	L	GCP	II	2	3	13	1
	L	GCP	II	12	2	4	1
	L	GCP	II	5	0	1	4
	L	GCP	II	14	3	3	0
	M	UN	I	13	0	5	1
	M	UN	I	1	1	4	3
	L	LD	II	10	6	16	0
	L	LD	III	25	8	2	5
	S	LD	III	5	1	6	2

[§]S : small cell type non-kerat. epidermoid ca.
L : large cell type non-kerat. epidermoid ca.
K : keratinizing type epidermoid ca.
M : Mixed ca.

[†]LP : lymphocyte predominance
GCP : germinal center predominance
UN : unstimulated node
LD : lymphocyte depletion

Table 11 Relationship between morphological pattern in metastatic node and 5-year survival rate (May 1975 ~ December 1984)

morphological pattern	No. of cases			5-year survival rate (%)
	Alive	DOD ^a	unknown	
Lymphocyte predominance	10	2	2	71.4
Germinal center predominance	34	12	5	66.7
Unstimulated node	3	4	0	42.9
Lymphocyte depletion	6	24	6	16.7

^aDOD : dead of disease (χ^2 test) ** P<0.01

pema¹⁵をはじめ多くの研究者がその詳細を報告するに至っている。一方、担癌生体の所属リンパ節の形態学的な反応像と予後との関連については Black ら (1953)¹⁶ 以来、種々の臓器の悪性腫瘍について多くの報告がなされてきた^{2,17-19}。

子宮頸癌に関しては, Tsaklklides ら²⁰, van Nagell ら²¹ の報告がその代表とされており, ことに Tsaklklides らは所属リンパ節をその形態学的反応像より4つの type に分類し, 各症例をその所属リンパ節の dominant な type で表現し, LP を示す症例が最も予後良好で転移率も低く, LD を示す症例は予後不良で転移率も高い事を報告している。今回著者は, 子宮の頸癌所属リンパ節をこの Tsaklklides らの分類を用いて4つの type に分け, モノクローナル抗体による免疫組織学的技法により, 4つの type 間での機能的差異の検討を行なった。

CD4 は helper・inducer T の, CD8 は suppressor・cytotoxic T の表面抗原をそれぞれ識別し, その比率である CD4/8 は従来より細胞性免疫能の指標の1つといわれている。非転移節について CD4/8 が LP>GCP>UN.LD と4つの type 間で有意な差を認めたことにより, LP で helper・inducer T 細胞の機能亢進が示唆され, UN, LD では逆に T リンパ球の減少と suppressor T 細胞の機能の亢進による細胞性免疫能の抑制が示唆された。

また, CD57 および CD16 は, 非特異的な腫瘍細胞障害能を有する NK 細胞を識別する抗体であり, 今回の検索ではリンパ節内には

NK 細胞は少数しか認められなかった。しかし4つの type 間での比較では, 両者ともに LP で最も頻度が高く, LP>GCP>UN, LD とやはり有意な差を認めた。以上の, LNL の機能的検討より4つのリンパ節の反応像では LP が免疫能の最も亢進した状態であると考えられた。

このようなリンパ節の反応形態は転移の成立により, 非転移リンパ節に比べて LP の頻度が低くなり, GCP および LD の頻度が逆に高くなった。この結果は van Nagell ら²¹をはじめ諸家²²⁻²⁴の報告と一致するものである。さらに非転移リンパ節間では転移例は非転移例に比べ, LP の頻度は有意に低下し, UN, LD の頻度は有意に増加を認めた。この結果より転移例では所属リンパ節全体の免疫能の低下を示すと共に, 転移が成立したリンパ節内での癌巢の増殖により, 周囲リンパ節の反応形態に変化をきたした可能性が示唆される。今回のわれわれの検討では第1次リンパ節と第2次リンパ節の群分けによる検討は行わなかったが, 小川¹⁸は胃癌における第1次~第3次の郭清リンパ節群のリンパ節反応形態について, paracortical hyperplasia の grade は癌腫に近いリンパ節ほど低い値を示したと述べており, 同様の事を van Nagell²¹も報告している。

また, 転移リンパ節においては, 転移の grade が進むにつれ, まず LP の頻度が低下し, 次に GCP の頻度が低下して, ほとんどが LD を示す結果を得た。この各リンパ節反応の頻度の変化を癌がリンパ節に転移を形成したと

きのリンパ節内での抗腫瘍的防御反応としてみるならば、Edwards ら²⁵ が動物実験モデルによる検討により、癌巣に対して所属リンパ節内では、まず細胞性免疫が関与し、次にプラズマ細胞の髄質への移動と germinal center の大きさおよび数の増大という液性免疫の関与を招き、最後に皮質や傍皮質の破壊を伴うリンパ球の減少が起こるとする報告に矛盾するものではない。

さらに所属リンパ節の反応形態と原発巣の諸因子との関連について検討を行った結果、原発巣の浸潤の深さ、周囲浸潤リンパ球の程度、CPL 分類において、所属リンパ節の反応形態に有意な差を認めた。小川¹⁸ および van Nagel ら²¹ の検討では、非転移症例で原発巣の進行度と所属リンパ節の反応形態には明らかな相関は認められないとし、それに対して佐藤ら²² や衣笠ら²⁴ は、子宮頸癌の非転移症例で、I～III期の期別間でリンパ節の反応形態に差のある事を示している。今回われわれは非転移症例のI期を原発巣の浸潤の深さより3つの群に分け、各群間でリンパ節の反応形態に有意な差を認めた。すなわち、佐藤ら²² や衣笠ら²⁴ の指摘する様に paracortical hyperplasia は早期癌ではよく発達しているが、癌の進行にともなって狭小化していく傾向がうかがわれた。原発巣における癌の進展に伴って所属リンパ節の免疫能が低下することを示していると推定される。しかも著者の成績はその傾向がI b期ですでに認められている事を示している。

さらに今回の非転移症例での検討で、原発巣周囲浸潤リンパ球とリンパ節の反応形態の関連が認められた。今回I b期の74症例を対象として浸潤の深さを3～5mmと5mm以上にbackgroundをそろえて検討したが、リンパ球浸潤のほとんど認められない群は、原発巣の浸潤の深さが3～5mmの症例および5mm以上の症例の両群ともにリンパ節の免疫能の低下が認められたのに対して、リンパ球浸潤が高度の群では、3～5mmの症例でリンパ節の免疫能が保たれているのに対して、5mm以上の症例で

は、かなりリンパ節の免疫能が低下し、LP頻度の低下およびUN.LD頻度の上昇を認めた。このことから、原発巣周囲のリンパ球浸潤の高度な症例では、癌に対する所属リンパ節の免疫能は早期には十分に保たれているのに、癌の進行とともに免疫能の低下を示唆する結果を得た。このことはある種の免疫抑制機構の関与、例えば細胞性免疫における suppressor 機能の亢進等により、リンパ節での抗腫瘍能の抑制をきたす可能性が考えられる。

次に原発巣周囲浸潤リンパ球とLNLの表面抗原をモノクローナル抗体を用いて比較したが、CD4およびCD8による検討において、まず非転移例では、原発巣周囲のリンパ球浸潤の強い症例程、原発巣周囲浸潤リンパ球ではCD4/8が小さくなり、逆にLNLではCD4/8が大きくなった。

一方転移例では、原発巣周囲浸潤リンパ球においては、CD4/8は非転移例とほぼ同様の結果であったのに対して、LNLにおいては、非転移例に比べてCD4/8が有意に低値となった。

今回のわれわれの成績は、原発巣周囲浸潤リンパ球においては、子宮頸癌についての報告をしている田村²⁶をはじめ諸家²⁷⁻³⁰の成績とほぼ同様の結果であり、またLNLでは、今回の検討と同様に、転移リンパ節では非転移リンパ節に比べてCD4⁺細胞の減少およびCD8⁺細胞の増加を認め、抗腫瘍能の低下を示唆する幾つかの報告がなされている^{27,28,31}。

次にCD57およびCD16による検討では、非転移例ではリンパ球浸潤の強い症例において、原発巣周囲浸潤リンパ球、LNLの両方でわずかにCD57⁺細胞およびCD16⁺細胞の増加を認めたが、非転移例と転移例との比較では原発巣周囲浸潤リンパ球、LNLの両方でCD57⁺細胞およびCD16⁺細胞の出現頻度に明らかな差は認められなかった。LNLにはNK細胞はきわめて少数しか認めず、諸家^{27,28,32,33}の報告でも同様の結果である事から考えると、リンパ節内のNK細胞は抗腫瘍能という面ではあまり期待できないものかもしれない。

個々の転移症例における検討では、転移単数個の38症例中、LP が8例、GCP が18例で、必ずしも転移例全例が所属リンパ節において免疫能の廃絶を示すわけではなかった。また LP 8例中4例は原発巣が小細胞型類表皮癌であった事は興味深い。

また、非転移症例のリンパ節の反応形態と原発巣の組織型の関係についても検討したが、小細胞型は大細胞型に比べ有意に LP の頻度が高く、また腺癌では他の組織型に比べ有意に GCP の頻度が高い結果を得た。子宮頸癌における組織型と所属リンパ節の反応形態について、過去には Van Nagell ら²¹ が cancer cell type とは明らかな関連はなかったと、報告している。

浸潤の程度の微小な I a 期症例の所属リンパ節においても少数ではあるが、免疫能の低下をうかがわせる LD をもつものがあったという著者の得た成績は、所属リンパ節の免疫能には個体差がある事を示すものであろう。

リンパ節の反応形態と予後との関係については転移リンパ節の反応形態が LP, GCP の時に、LD の時に対して有意に5年生存率は高値であった。この結果は手術時におけるリンパ節の反応形態が予後を決定する因子の一つとなり得る可能性を示唆している。

癌のリンパ節転移に関しては、不明な点も多く、過去に報告されているように、多くの因子が関与していることについては論をまたない。今回の検討からも免疫能の保たれていることが推定される LP 像のリンパ節にも転移を形成すること、頸癌罹患以前に免疫能の低下であったことが推定される症例のあること、所属リンパ節と原発巣の細胞性免疫能が異なることなど転移の形成に多くの因子が複雑に関与していることが推定される。今回癌免疫の直接的な発現の場とみなされる所属リンパ節を中心として多方面からの検討を行った結果、他の因子を無視して癌の拡がりだけに注目するなら、I a 期頸癌ではおおむね所属リンパ節の免疫能は保たれているが、浸潤が深くなると所属リンパ節の免疫能は変化し低下する。そして所属リンパ節転移

を来すと、さらに低下するという成績を得た。すなわち一般的には癌の進展が免疫能の低下を来すが、その程度や速度には個体差がある。したがって、手術時の摘出リンパ節の形態学的あるいは、機能的解析をすることは頸癌症例の予後を予測する上で有用であると考えられた。

結 論

子宮頸癌症例の摘出リンパ節および摘出子宮を形態学的、およびモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的な検討の結果、次の結論を得た。

1. 所属リンパ節の反応形態を Lymphocyte predominance pattern (LP), Germinal center predominance pattern (GCP), Lymphocyte depletion pattern (LD), Unstimulated node (UN) の4つに分類すると、CD4/8, CD57および CD16 について、LP で最も高値となり、次に GCP さらに UN および LD の順で低下が認められた。

2. リンパ節間での反応形態の比較では、非転移例の所属リンパ節、転移例の非転移リンパ節、転移リンパ節の順に、LP の頻度の低下および GCP, UN, LD の頻度の上昇を有意に認めた。

3. 非転移症例において、原発巣の CPL 分類の CP 型, L 型の比較、組織型およびリンパ球浸潤の程度によっても所属リンパ節の反応形態に差異を認めた。

4. 原発巣周囲浸潤リンパ球および LNL の表面抗原の検討により、非転移例では、リンパ球浸潤の強い程、原発巣周囲浸潤リンパ球の CD4/8 は小さくなり、逆に LNL の CD4/8 は大きくなった。転移例での LNL では、CD4/8 は非転移例に比べ有意に低値であった。

5. 単数個の転移を認めた38症例中には転移リンパ節が LP を示す症例を8例に認め、そのうち4例が小細胞非角化型であった。

6. 転移症例の予後については、転移リンパ節の反応形態が LP, GCP を示す症例の5年生存率は LD を示す症例に比べ有意に高かった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導御校閲を賜りました恩師野田起一郎教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究を遂行するにあたり終始御協力を戴いた研究室の皆様から感謝致します。

文 献

1. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975 ; 256 : 495-497.
2. Tsaklakis V, Olson P, Kersey JH, Good RA. Prognostic significance of the regional lymph node histology in cancer of the breast. *Cancer* 1974 ; 34 : 1259-1267.
3. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-Peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981 ; 29 : 577-580.
4. 森 眞由美, 在家裕司, 藤原晴憲, 森 茂郎. 塗抹標本による末梢血リンパ球マーカーの検索ⅡABC法. *臨床血液*, 1985 ; 26(5) : 717-720.
5. Kurokawa Y. Experiments on lymph node metastasis by intralymphatic inoculation of rat ascited tumor cells, with special reference to lodgement, passage, and growth of tumor cells in lymph nodes. *Gann* 1970 ; 61 : 461-471.
6. 今井 環: 人体癌腫発育状況の形態学的考察. *福岡医誌* 1954 ; 45 : 72-102.
7. 赤崎兼義: 子宮頸癌の組織像に関する二, 三の問題. *日産婦誌* 1953 ; 5 : 699-710.
8. 野田起一郎. 子宮頸癌のリンパ節転移について: 特に担癌個体の防御機構との関連. *東北医誌* 1969 ; 77 : 221-224.
9. Crile G. Possible role of uninvolved regional nodes in preventing metastasis from breast cancer. *Cancer* 1969 ; 24 : 1283-1285.
10. Fisher B, Fisher ER. Studies concerning the regional lymph node in cancer: I. initiation of immunity. *Cancer* 1971 ; 27 : 1001-1064.
11. Fisher B, Saffer E, Fisher ER. Studies concerning the regional lymph node in cancer: IV. tumor inhibition by regional lymph node cells. *Cancer* 1973 ; 33 : 631-636.
12. 高橋俊雄, 河野研一, 咲田雅一, 渡辺信介, 小島治. リンパ節転移形成初期の癌細胞とリンパ節の動態. *癌の臨床* 1975 ; 21 : 755-758.
13. 小玉孝郎, 及川恒之, 後藤田栄貴, 小林 博, 癌リンパ節転移の免疫学的退縮—とくに転移退縮リンパ節の腫瘍免疫の成立と維持に果たす役割について—. *癌と化学療法* 1978 ; 5 : 115-120.
14. Cottier H, Turk J, Sobin L. A proposal for standardized system of reporting human lymph node morphology in relation to immunological function. *WHO Bull* 1972 ; 47 : 375-408.
15. Poppema S, Bhan AK, Reinherz EL, et al. Distribution of T cell subsets in human lymph nodes. *J Exp Med* 1981 ; 153 : 30-41.
16. Black MM, Kerpe S, Speer FD. Lymph node structure in patients with cancer of the breast. *Am J Pathol* 1953 ; 29 : 505.
17. Black MM, Freeman C, Mork T, Harvei S, Cutler SJ. Prognostic significance of microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymph nodes. *Cancer* 1971 ; 27 : 703-711.
18. 小川健治. 胃癌所属リンパ節の機能的, 形態的抗腫瘍性に関する研究. *口臨外会誌* 1981 ; 42 : 101-113.
19. Brynns RK, Hunter RL, Vellios F. Immunomorphologic changes in regional lymph nodes associated with cancer. *Arch pathol Lab Med* 1983 ; 107 : 217-221.
20. Tsaklakis V, Anastassiades OT, Kersey JH. Prognostic significance of regional lymph node histology in uterine cervical cancer. *cancer* 1973 ; 31 : 860-868.
21. van Nagell JR, Donaldson ES, Parker JC, van Dyke AH, Wood EG. Prognostic significance of pelvic lymph node morphology in carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1977 ; 39 : 2624-2632.
22. 佐藤安子, 上田外幸, 山崎正人ら. 子宮癌所属リンパ節の組織像と予後. *日産婦誌* 1975 ; 27 : 175-180.
23. 小幡憲郎, 半藤 保, 竹内正七, 児玉省二, 広神俊彦. 子宮頸癌の所属リンパ節の免疫形態学的研究(細胞性免疫反応). *日癌治* 1979 ; 14 : 1106-1115.
24. 衣笠万里, 赤堀泰一郎, 望月真人. 子宮頸癌における領域リンパ節の免疫学的意義に関する病理組織学的検討. *日癌治* 1989 ; 24 : 7-15.
25. Edwards AJ, Sumner MR, Rowland GF, Hurd CM. Changes in lymphoreticular tissues during growth of a murine adenocarcinoma: Histology and weight of lymph nodes, spleen, and thymus. *J Natl Cancer Inst* 1971 ; 47 : 301-311.
26. 田村 元, 神谷博文, 水内英充ら. 子宮頸癌増殖局所における機能的リンパ系細胞亜群の同定. *医学*

- のあゆみ 1984 ; 129 : 835-836.
27. 岡林孝弘. 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.
28. 清水敬生, 陳 瑞東, 塩川滋達ら. 子宮頸癌所属リンパ節リンパ球の細胞表面抗原およびレンチナンによる修飾について. 日産婦誌 1990 ; 42 : 37-44.
29. Takeda I, Horimi T, Okabayashi T, et al. Analysis of tissue lymphocytes by double fluorescent staining: gastric cancer tissue and regional lymph nodes. *Jpn J Surg* 1987 ; 17 : 156-161.
30. 岡本吉明. 子宮頸癌病巣局所免疫応答に関する免疫組織学的研究. 日産婦誌 1990 ; 42 : 456-462.
31. 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 1989;90:1009-1018.
32. Cunningham-Rundles S, Filippa DA, Braun DW, Antonelli P, Ashikari H. Natural cytotoxicity of peripheral blood lymphocytes and regional lymph node cells in breast cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 1981 ; 67 : 585-590.
33. 山下元幸, 亀井義広, 藤田幸利. 尿路性器悪性腫瘍患者の末梢血および領域リンパ節における natural killer (NK) 活性に関する研究: 2. 尿路性器悪性腫瘍患者の領域リンパ球の NK 活性に関する研究. 日泌尿会誌 1989 ; 80 : 666-673.