

卵巣未分化胚細胞腫にみられるいわゆるリンパ球様細胞の 免疫組織学的解析

新潟大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 竹内正七教授)

本間 滋 内山三枝子 大桃 幸夫 渡辺 重博
笹川 基 金沢 浩二 竹内 正七

Immunohistologic Characterization of Lymphoid Cells Infiltrating Dysgerminoma of the Ovary

Shigeru HONMA, Mieko UCHIYAMA, Yukio OMOMO,
Shigehiro WATANABE, Motoi SASAGAWA, Koji KANAZAWA
and Shoshichi TAKEUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University of Medicine, Niigata
(Director : Prof. Shoshichi Takeuchi)

概要 予後との関連において議論されてきた卵巣未分化胚細胞腫にみられるいわゆるリンパ球様細胞が
いかなる種類の細胞であるかについて、6例の腫瘍組織切片に対して単クローン抗体を用いた免疫酵素
抗体法 (ABC法) により解析した。単クローン抗体として anti-HLA-ABC, anti-HLA-DR, anti-HLe-
1 (human leukocytes), anti-Leu-1, -4 (pan T cells), anti-Leu-2a (killer/suppressor T cells), anti-
Leu-3a (helper/inducer T cells), anti-Leu-12, -14 (B cells), anti-Leu-M3 (monocytes/macrophages)
および OKT-10 (myeloid and lymphoid precursors, thymocytes, activated T and B cells) を用いた。

HE染色で腫瘍内に認められるリンパ球様細胞は HLe-1陽性であり、骨髄由来であると判断された。こ
れら HLe-1陽性細胞のほとんどは Leu-1, -4陽性細胞からなり、さらに、Leu-2a, Leu-3a 各陽性細胞に識
別されたが、両者はほぼ同数であった。また、これら骨髄由来細胞の大部分は HLA-DR 陽性であり、こ
れら HLA-DR 陽性細胞には、多数の OKT-10陽性細胞、少数の Leu-12, -14各陽性細胞、Leu-M3陽性細
胞が認められた。従つて、リンパ球様細胞の大部分は activated T cell であると判断された。

また、腫瘍細胞は HLA-ABC, -DR とともに陰性であった。

Synopsis Dysgerminoma of the ovary is composed of cells that resemble primordial germ cells mor-
phologically and connective tissue stroma with lymphoid cell infiltration, the degree of which has been
discussed in correlation with the prognosis. In order to characterize the lymphoid cells histochemically, a
sensitive immunoperoxidase technique was applied on serial tumor tissue sections.

Monoclonal antibodies used in this study were anti-HLA-ABC, anti-HLA-DR, anti-HLe-1 (leukocytes),
anti-Leu-1, -4 (pan T cells), anti-Leu-2a (killer/suppressor T cells), anti-Leu-3a (helper/inducer T cells), anti-
Leu-12, -14 (B cells), anti-Leu-M3 (monocytes/macrophages) and OKT-10 (myeloid and lymphoid precursors,
thymocytes, activated T and B cells).

Lymphoid cells identified morphologically on sections stained with hematoxylin-eosin were HLe-1
positive, and were therefore thought to originate in bone marrow. Most of them were also positive for Leu-
1, -4, and they were composed of nearly equal numbers of Leu-2a positive cells and Leu-3a positive cells.
Furthermore, the majority of the lymphoid cells were HLA-DR positive, consisting of a large number of
OKT-10 positive cells and a small number of Leu-12, -14 positive cells and Leu-M3 positive cells which were
mainly found in connective stroma encapsulating tumor tissue.

Taken together, the lymphoid cells in the connective stroma were considered to be activated T cells.

Tumor cells themselves lacked reactivity with anti-HLA-ABC or anti-HLA-DR, while lymphoid cells and
connective stroma were HLA-ABC positive.

Key words: Dysgerminoma of the ovary • Lymphoid cell • Immunohistochemistry • Immune cell • HLA

緒 言

卵巢未分化胚細胞腫(dysgerminoma)は胚細胞系腫瘍(germ cell tumor)の一つに数えられ、形態学的に原始胚細胞(primordial germ cell)によく似た細胞から構成されている腫瘍である。そして、腫瘍間質に、あるいは、腫瘍細胞間に、リンパ球様小円形細胞の浸潤がしばしばみられ、また、肉芽腫様組織や syncytiotrophoblast 様細胞の観察される症例もあることが知られている。

臨床的には、日本産科婦人科学会・卵巢腫瘍登録委員会の分類で中間群に分類されており、5年生存率は70~95% (卵巢腫瘍登録委員会の79例の集計では80.93%²⁾)と比較的予後良好な腫瘍とされている。

これまで、組織像と予後との関連については、いくつかの研究があるが、リンパ球様細胞の浸潤の著明なものに予後良好例が多かつたとする報告がみられる。そこで、予後との関連で議論されているこのリンパ球様細胞の浸潤がいかなる種類の細胞によるかについて、単クローン抗体を用いた免疫酵素抗体法により解析を行ない、興味ある所見を得たので報告する。

研究方法

1. 研究材料

研究材料として、手術により摘出され病理組織学的に未分化胚細胞腫と診断された症例6例の組織を用いた。組織は、摘出後速やかに約1cm³のブロックとし、TISSUE-TEK O. C. T. compound

(Miles scientific)に包埋してから液体窒素中で凍結したのち、cryostatにて厚さ5 μ の連続組織切片を作製し、アセトンにて10分間固定を行ない染色材料とした。また一部は、ホルマリン~パラフィン包埋組織切片をも用いた。

2. 抗体

抗体として、表1に示したマウス単クローン抗体を用いた。また、negative controlとして正常マウス血清を用いた。

3. 免疫酵素抗体法

表2に示した方法、すなわち、Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) 法に従って行ない、核染色はMeyerのhematoxylinにより行なった。

研究成績

1. 腫瘍内のリンパ球様細胞の免疫組織学的解析

腫瘍細胞間に、あるいは、腫瘍細胞を胞巣状~索状に区画している腫瘍間質にリンパ球様小円形細胞が浸潤しているのが、HE染色標本(写真1)で観察された。まず、①これらはHLe-1陽性であり、従つて骨髓由来細胞と判断された(写真2)。これらHLe-1陽性細胞のほとんどは、pan T cellを認識する抗Leu-1あるいは抗Leu-4に反応する(写真3)ことからT cellであり、さらに、抗Leu-2aおよび抗Leu-3aを用いた染色(写真4, 5)からはほぼ同数のkiller/suppressor T cellと helper/inducer T cellとからなり、相互にintermingleし

表1 Monoclonal antibodies

Monoclonal antibody	Specificity	Isotype	Source
anti-HLA-ABC (w6/32)	HLA-ABC	IgG _{2a}	Sera Lab.
anti-HLA-DR	HLA-DR	IgG ₁	Cappel
anti-HLe-1	human leukocytes	IgG ₁	Becton Dickinson
anti-Leu-1	pan T cells	IgG _{2a}	Becton Dickinson
anti-Leu-2a	killer/suppressor T cells	IgG ₁	Becton Dickinson
anti-Leu-3a	helper/inducer T cells	IgG ₁	Becton Dickinson
anti-Leu-4	pan T cells	IgG ₁	Becton Dickinson
anti-Leu-12	B cells	IgG ₁	Becton Dickinson
anti-Leu-14	B cells	IgG _{2a}	Becton Dickinson
anti-Leu-M3	monocytes/macrophages	IgG _{2b}	Becton Dickinson
OKT-10	myeloid and lymphoid precursors, thymocytes, activated T and B cells	IgG ₁	Ortho Diagnostics

表2 Immunoperoxidase technique (ABC method)

1. Incubation with horse serum for 30min.
2. Incubation with monoclonal antibody for 30min.
3. Wash in three 5-minute change of PBS.
4. Incubation with Biotin-conjugated horse antibody to mouse IgG for 30min.
5. Wash in three 5-minute change of PBS.
6. Incubation with Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) for 30min.
7. Wash in three 5-minute change of PBS.
8. Color reaction with 3,3'-Diaminobenzidine 0.5mg/ml in 0.05M Tris-hydrochloride buffer(pH 7.6)containing 0.01% H₂O₂ for 10min.
9. Wash in three 5-minute change of PBS.
10. Nuclear staining in Meyer's hematoxylin for 5min.
11. Wash in water for 30min.
12. Dehydration and mount in MGK.

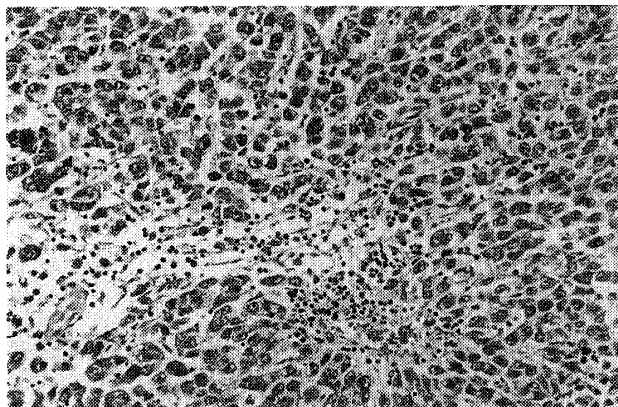


写真1 HE染色 (×100)

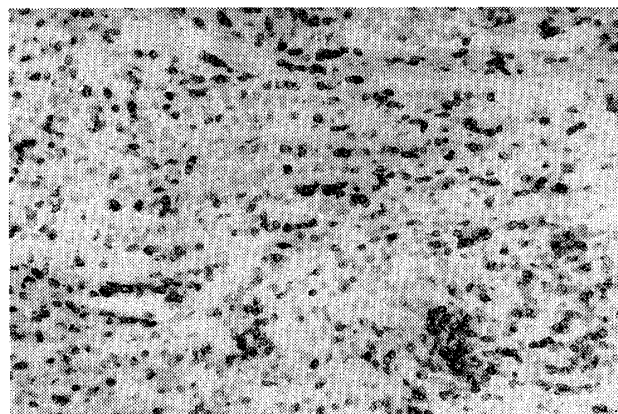


写真2 HLe-1陽性細胞 (×100)

て存在していることが判明した。次に、②これらリンパ球様細胞の大多数は、HLA-DR陽性であつた(写真6)。これらHLA-DR陽性細胞において

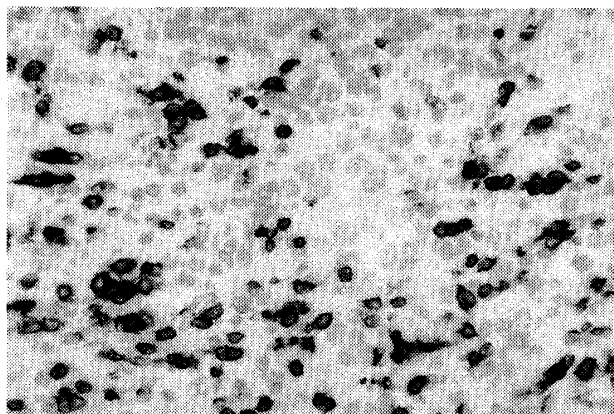


写真3 Leu-1陽性細胞 (×400)

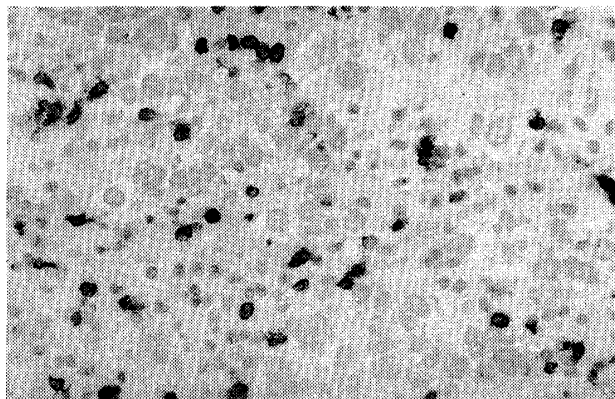


写真4 Leu-2a陽性細胞 (×400)

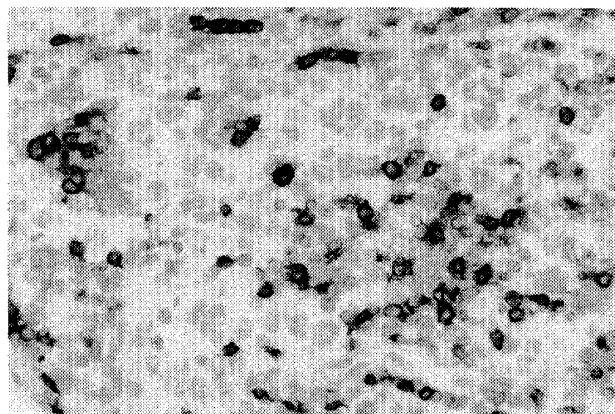


写真5 Leu-3a陽性細胞 (×400)

は、OKT-10陽性細胞が多数認められ(写真7)、他に、Leu-12, -14などのB cellのmarkerをもつ細胞とmonocyte/macrophageを認識する抗Leu-M3と反応する細胞(写真8)があり、後二者は腫瘍の被膜を構成する結合組織にごく少数観察される程度であつた。

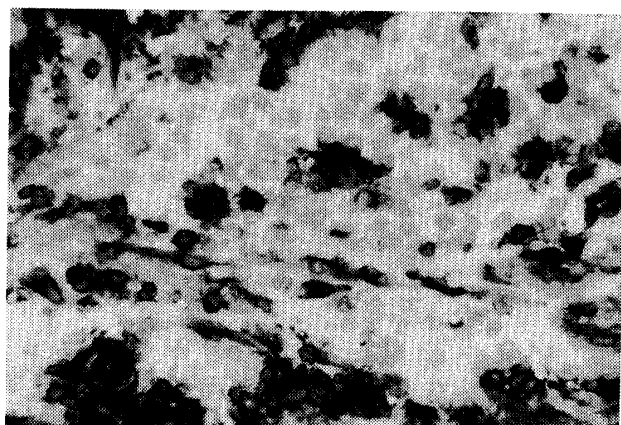


写真6 HLA-DR 陽性細胞 (×400)

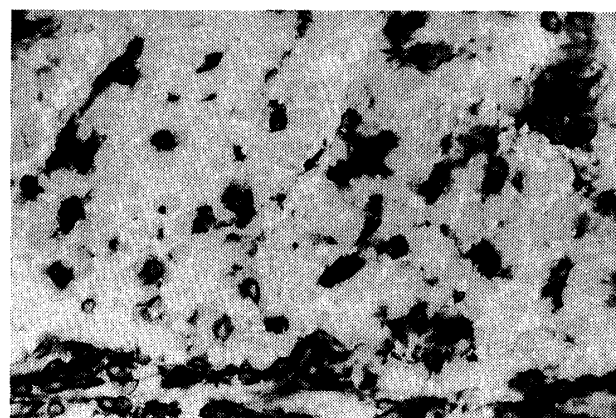


写真9 anti-HLA-ABC による染色 (×400)

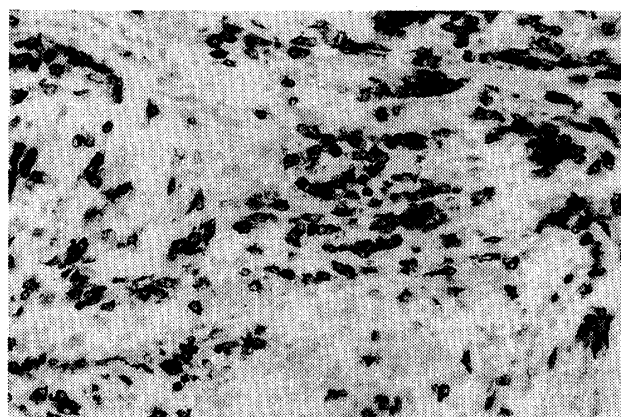


写真7 OKT-10陽性細胞 (×200)

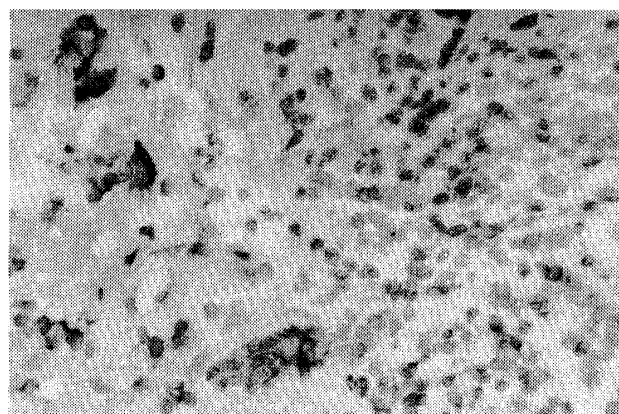


写真8 Leu-M3陽性細胞 (×400)

以上の所見を総合すると、骨髓由来細胞と判定されたリンパ球様細胞の大部分は、activated T cell であると判断された。

2. 腫瘍細胞の HLA 表現についての免疫組織化学的解析

腫瘍細胞は、HLA-ABC、-DR ともに陰性であった (写真6, 9)。なお、腫瘍間質および、上記骨髓由来細胞は HLA-ABC 陽性であった。

考 察

未分化胚細胞腫は、病理組織学的に原始胚細胞 (primordial germ cell) によく似た細胞、すなわち、1～2個の明瞭な核小体を有して細胞の中央に位置する円形の核と、明るい、あるいは、微細顆粒状の胞体をもつ比較的大きな円形～類円形の細胞から構成されている腫瘍であり、また、特徴的な所見の一つとして、しばしばリンパ球様細胞の浸潤がみられることもしられている。

本腫瘍の病理組織学的所見と予後との関連については、これまでいくつかの検討がなされている。胎児性癌 (embryonal carcinoma) や絨毛癌 (choriocarcinoma) などの混在する症例を除外して考えるのは当然であるが、Asadourian et al.⁴⁾ による105例の pure dysgerminoma についての解析では、リンパ球様細胞がみられないか、乏しい54例の死亡率は20%に達したが、著明にみられたものや、肉芽腫様反応の強いもの15例では、わずか1例 (6.7%) のみであり、従って、予後推定の指標としてリンパ球様細胞の浸潤の程度が重要であると指摘している。また、Talamanca et al.⁶⁾ も22例の本腫瘍の解析から同様の傾向がみられたことを報告している。

上記を含め従来の報告はいずれも HE 染色標本による形態学的解析であり、このリンパ球様細胞がいかなる種類の細胞であるかはこれまで明ら

かではなかつた。従つて、本報告が、その性格についての初めての免疫組織学的解析であると考えられる。

最近、腫瘍組織局所に浸潤している免疫系細胞に関する免疫組織学的研究が様々の領域の腫瘍に対してなされており、さらに患者の予後との関連において検討されつつある。田村ら³⁾は、0期からII期までの27例の子宮頸癌における免疫系細胞の亜群の同定として、Leu seriesの抗体を用いた免疫酵素抗体法による解析を行ない、頸癌増殖局所において、正常リンパ節や末梢血では minor population である killer/suppressor T cell が優位に浸潤しているという結果が得られ、その免疫学的意義を強調している。また、水内ら⁴⁾は、子宮体癌20例について同様に解析し、全体として浸潤している免疫系細胞の主体は T cell であり、その浸潤の程度と組織分化度とは一定の関係は得られなかつたが、深層浸潤例では T cell の浸潤が少ない傾向があり、また低分化腺癌、または、筋層浸潤が深部に達する症例では Leu-2陽性細胞が多く、一方、高分化腺癌または、表層浸潤例では Leu-3陽性細胞が優位であり、有意差を認めたとしており、この場合の Leu-2陽性細胞が suppressor T cell である可能性を指摘している。

Kabawat et al.⁵⁾は、卵巢腫瘍70例の組織を用いて腫瘍細胞の HLA 表現の有無と浸潤している免疫系細胞の種類、さらに、それらの相互の関連について、単クローン抗体を用いた免疫酵素抗体法で解析している。それによると、悪性卵巢腫瘍組織においては、良性例に比し、免疫系細胞の浸潤は強く、それらは helper/inducer T cell を主体とした T cell からなり、natural killer cell, macrophage, B cell は少数であり、また、T cell 浸潤の程度については、有意差は認められないものの、腫瘍細胞が HLA-ABC 陰性の場合より陽性の場合に強い傾向があつたと述べている。ただ、70例の中に含まれている1例の未分化胚細胞腫にみられるリンパ球様細胞については言及されていない。

今回、我々が検討した未分化胚細胞腫では、子宮頸癌、子宮体癌、卵巢腫瘍の場合の報告と同様

に浸潤リンパ球の主体は T cell であることが判明したが、killer/suppressor T cell である Leu-2a 陽性細胞と、helper/inducer T cell である Leu-3a 陽性細胞とはほぼ同数であると判断された。しかし、これらはいずれも HLA-DR 陽性、OKT-10陽性であることからいずれも activated T cell であると考えられ、従つて腫瘍細胞に対して何らかの反応をしていることが示唆される。現在のところ一つの単クローン抗体で killer T cell と suppressor T cell あるいは、helper T cell と inducer T cell とを識別することができないため、Leu-2a 陽性細胞が腫瘍細胞に対して cytotoxic に作用してその増殖を阻止しているのか、あるいは、その逆の作用をしているのかは不明といわざるを得ない。Leu-3a 陽性細胞についてもまた同様である。今後、これらが識別可能になれば、このような免疫組織学的解析を行なうことが、個々の症例の予後を推定する上で有力な手段となる可能性があると考えられる。

一方、腫瘍細胞において HLA の表現に変化が生じることは、これまで指摘されてきたことであるが、Kabawat et al.⁵⁾によれば、卵巢腫瘍において良性例ではいずれも HLA-ABC は陽性であるが、悪性例では漿液性嚢胞腺癌26例のうち4例に、類内膜腺癌5例のうち2例にそれぞれ HLA-ABC の表現がみられなかつたとしている。また、2例の線維腫と1例の未分化胚細胞腫はいずれも HLA-ABC、-DR ともに陰性であつたと報告しており、我々の得た成績と一致している。また、彼らは、6例の成人の正常卵巢についても解析し、primordial follicle ovum は、HLA-ABC、-DR ともに陰性であつたとしている。この成績は、HLA-ABC、-DR ともに陰性であることが明らかとなつた未分化胚細胞腫の発生母細胞を考える上で興味深い所見であると考えられる。

文 献

1. 水内英充, 田村 元, 神谷博文, 塚原国比古, 工藤隆一, 橋本正淑, 菊地浩吉: 子宮体癌組織における T 細胞およびその亜群の同定, 医学のあゆみ, 133: 177, 1985.
2. 日本産科婦人科学会卵巢腫瘍登録委員会(加藤俊委員長): 組織分類別予後, 全国卵巢悪性腫瘍調

- 査成績, 第1報, 7, 1982.
3. 田村 元, 神谷博文, 水内英充, 寒河江悟, 工藤隆一, 橋本正淑, 菊地浩吉: 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, 129: 835, 1984.
 4. *Asadourian, L.A. and Taylor, H.B.*: Dysgerminoma analysis of 105 cases. *Obstetrics and Gynecology*, 33: 370, 1969.
 5. *Kabawat, S.E., Bast, R.C. Jr., Welch, W.R., Knapp, R.C. and Bhan, A.K.*: Expression of major histocompatibility antigens and nature of inflammatory cellular infiltrate in ovarian neoplasms. *Int. J. Cancer*, 32: 547, 1983.
 6. *Talerman, A., Huyzinga, W.T. and Kuipers, T.*: Dysgerminoma. Clinicopathologic study of 22 cases. *Obstetrics and Gynecology*, 41: 137, 1973.
- (No. 5948 昭61・4・25受付)
-