

# 担癌マウスにおける腫瘍の発育, 生存, 血中リンパ球サブセットに及ぼす脾摘の影響

奈良県立医科大学第1外科学教室

渡 邊 巖

## EFFECT OF SPLENECTOMY ON TUMOR GROWTH, SURVIVAL, AND BLOOD LYMPHOCYTE SUBSETS IN TUMOR BEARING MICE

IWAO WATANABE

*The First Department of Surgery, Nara Medical University*

Received May 30, 1995

*Abstract*: The spleen is the largest peripheral lymphoid tissue and plays an important role as one of the immune associated organs, but the effect of splenectomy in cancer therapy remains obscure. The tumor growth, host survival, and the change of T-lymphocyte subsets (Lyt 2<sup>+</sup>, L 3 T 4<sup>+</sup>) in blood and spleen were studied using tumor bearing mice (Colon 26 bearing BALB/c mice) to investigate the effect of splenectomy, and the following results were obtained.

1. In control group (CONT), the subcutaneous mass appeared macroscopically in the 8th day after tumor inoculation (Colon 26,  $2 \times 10^4$ ), and started to death on the 30th day. Lyt 2<sup>+</sup> and L 3 T 4<sup>+</sup> ratio of spleen elevated to the highest level on the 6th day and returned to the same level with tumor growth, on the other hand, Lyt 2<sup>+</sup> ratio of blood kept constant regardless of tumor growth, and L 3 T 4<sup>+</sup> ratio dropped to the lowest level on the 9th day, and returned to the same level with tumor growth.

2. When splenectomy was done on the 5th day after tumor inoculation (SPN 5; early phase), Lyt 2<sup>+</sup> ratio of blood was significantly decreased ( $p < 0.05$ ) as compared with other groups, and subsequent enhancement of tumor growth and the shortening of survival period were observed ( $p < 0.05$ ).

3. On the 10th day after tumor inoculation (SPN 10; middle phase), Lyt 2<sup>+</sup> ratio of blood was significantly elevated ( $p < 0.05$ ) as compared with other groups, and subsequent inhibition of tumor growth and elongation of survival period were observed.

4. On the 20th day after tumor inoculation (SPN 20; late phase), blood T-cell subsets did not show great change, and subsequent enhancement of tumor growth and the shortening of survival period were observed.

These results suggest that splenectomy of tumor bearing mice induces the change of blood T-cell subsets, and affects the tumor growth and host survival; early splenectomy works tumor-enhancement, and middle splenectomy works tumor-inhibition; also surgical damage as well as late splenectomy works tumor-inhibition.

### Index Terms

tumor bearing mice, colon 26, splenectomy, lymphocyte subsets

## 緒 言

脾臓は最大の末梢リンパ系組織であり、免疫担当臓器として感染防御や腫瘍免疫に重要な役割を果たしている。それ故外傷などによる脾摘は生体、特に小児などの免疫学的に未成熟な生体において、感染防御機能の低下をもたらす重篤な感染症を引き起こすことが知られている<sup>1)</sup>、また担癌生体における脾臓が腫瘍発育に影響を与えることが示されている<sup>2),3)</sup>。しかし腫瘍免疫における脾臓の働きについては不明な点が多く、癌治療における脾臓の功罪について、いまだ一定の見解が得られるに至っていない。そこで今回マウスの移植腫瘍系を用いて腫瘍の発育・増殖及び宿主の生存に対する脾摘の影響を検討した。

## 実験方法

### 1) 実験動物

実験動物としては日本チャールズ・リバー研究所より購入した雌性8～9週齢SPFのBALB/cマウス(平均体重20g)を用いた。

### 2) 実験腫瘍

腫瘍細胞としてはBALB/cマウス由来で*in vitro*で継代培養した大腸癌細胞株Colon 26を用いた。Colon 26はBALB/cマウスにN-nitroso-N-methylurethanを繰り返し直腸内に投与することにより発生したマウスの大腸癌である<sup>4)</sup>。

### 3) 実験群

実験群はFig. 1のごとく設けた。

CONT群：無処置マウスの背部皮下にColon 26を $2 \times 10^4$ 個接種した群(n=10)。

SPN 5群, SPN 10群, SPN 20群：マウスの背部皮下

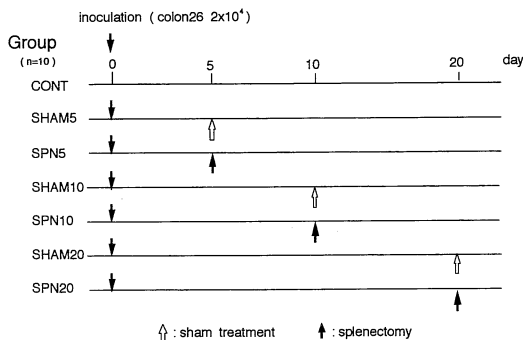


Fig. 1. Experimental design.

にColon 26を $2 \times 10^4$ 個接種後、それぞれ5日後、10日後、20日後に脾摘を行った群(各n=10)。なお脾摘は5%ネブタール1mlを腹腔内投与麻酔下に開腹し、5-0絹糸にて脾門部を結紮切離し脾臓を摘出した。手術は約3分間で終了した。

SHAM 5群, SHAM 10群, SHAM 20群：マウスの背部皮下にColon 26を $2 \times 10^4$ 個接種後、それぞれ5日後、10日後、20日後にsham treatmentを行った群(各n=10)。なおsham treatmentは開腹後、約1分間脾臓を体外に出し、その後閉腹した。所要時間はSPN群と同様約3分間で終了した。

### 4) 検査項目

各群における背部腫瘍の増殖を腫瘍平均径の経日的変化で示した。また生存率をKaplan-Meier法で算出し、生存率の有意差検定はlog-rank法を用いた。さらに経日的に血液とSPN群以外の脾からリンパ球を分離し、抗マウスモノクローナル抗体Lyt 2, L3T4を用いて染色し、Becton Dickinson社製FACSscanにて解析し陽性比を検討した。また測定値は、すべてMean±SDで表し、有意差検定はStudentのt検定で行った。

## 実験結果

### 1) 腫瘍の生着及び発育

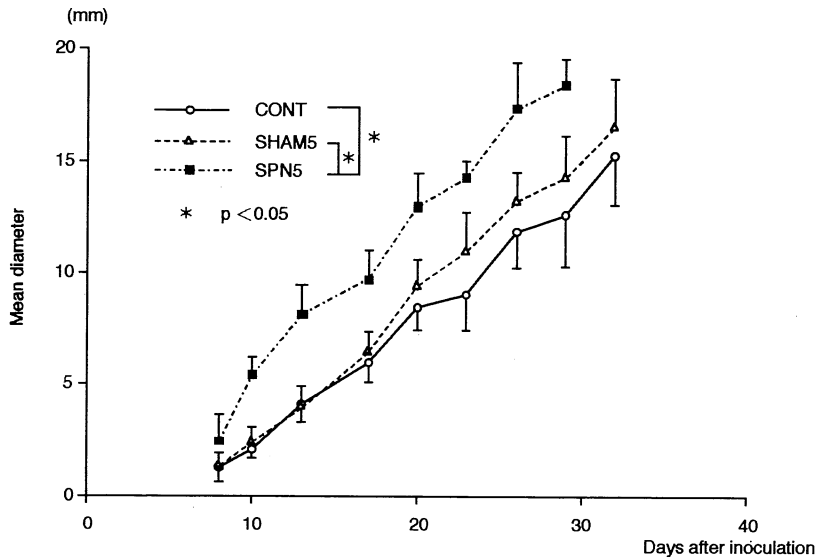
無処置マウス背部皮下に接種したColon 26( $2 \times 10^4$ )個は、全例生着し、接種後8日目には平均径2mm大の腫瘍として肉眼的に確認できた。その後徐々に増大し、接種後30日目には平均径13mm大と発育した。また30日目よりマウスは癌死しはじめ、その後徐々にその数が増加した。癌死マウスは剖検にて、肉眼的に明らかな肝・肺転移は認めず癌悪液質によるものと判断した。

CONT群, SHAM 5群, SPN 5群の経日的腫瘍増大曲線をFig. 2Aに示した。SHAM 5群, SPN 5群ともCONT群と同様全例生着し、接種後8日目より腫瘍として肉眼的に確認できた。SPN 5群は他群に比べ接種後10日目以降に有意な腫瘍増大促進が認められた(p<0.05)。

CONT群, SHAM 10群, SPN 10群の経日的腫瘍増大曲線をFig. 3Aに示した。SHAM 10群, SPN 10群ではCONT群に比べ処置後、腫瘍増大抑制傾向が認められた。また接種後27日目以降では、SPN 10群がSHAM 10群に比べ腫瘍増大抑制傾向が認められた。

CONT群, SHAM 20群, SPN 20群の経日的腫瘍増大曲線をFig. 4Aに示した。SHAM 20群, SPN 20群ではCONT群に比べ処置後、腫瘍増大促進傾向が認め

A. Tumor growth curve



B. Survival rate

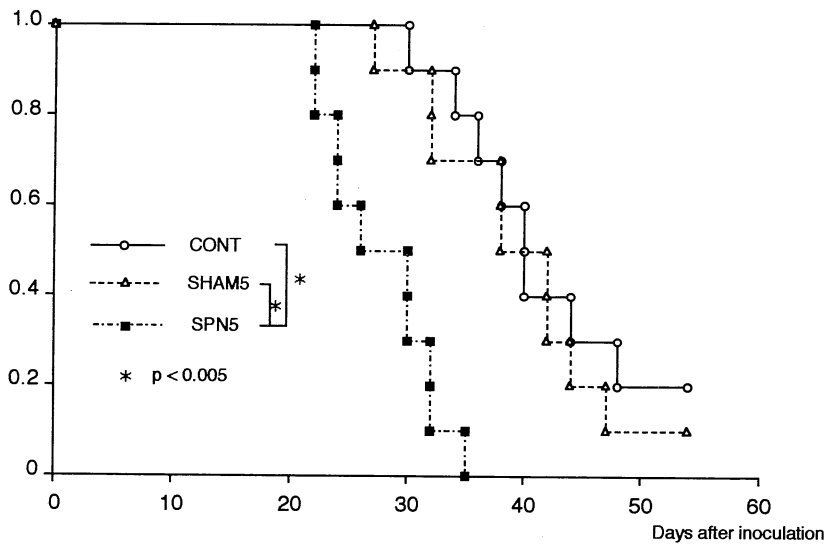


Fig. 2. Tumor growth curve and survival rate in CONT, SHAM5, and SPN5 groups.

られた。

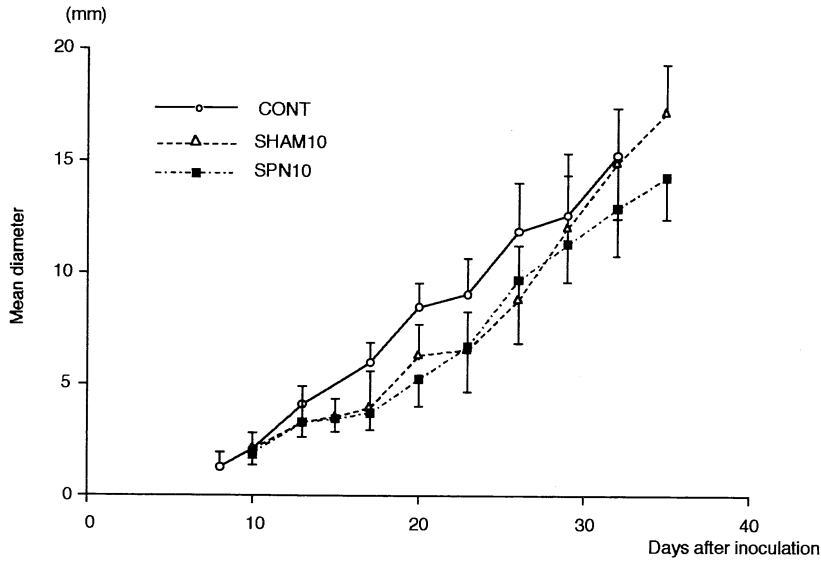
2) 生存期間

CONT 群, SHAM 5 群, SPN 5 群の生存率を Fig. 2 B に示した。SHAM 5 群は, CONT 群と同様の生存率を示したが, SPN 5 群では接種後 22 日目より癌死するマウスがみられ, 35 日目までに全例癌死した。SPN 5 群

は, CONT 群, SHAM 5 群に比べ有意な生存率の短縮が認められた( $p < 0.005$ )。

CONT 群, SHAM 10 群, SPN 10 群生存率を Fig. 3 B に示した。SHAM 10 群は, CONT 群と同様の生存率を示したが, SPN 10 群では, 接種後 32 日目より癌死しはじめたが, 55 日目以降も 30% の生存率を示し, 他群に

A. Tumor growth curve



B. Survival rate

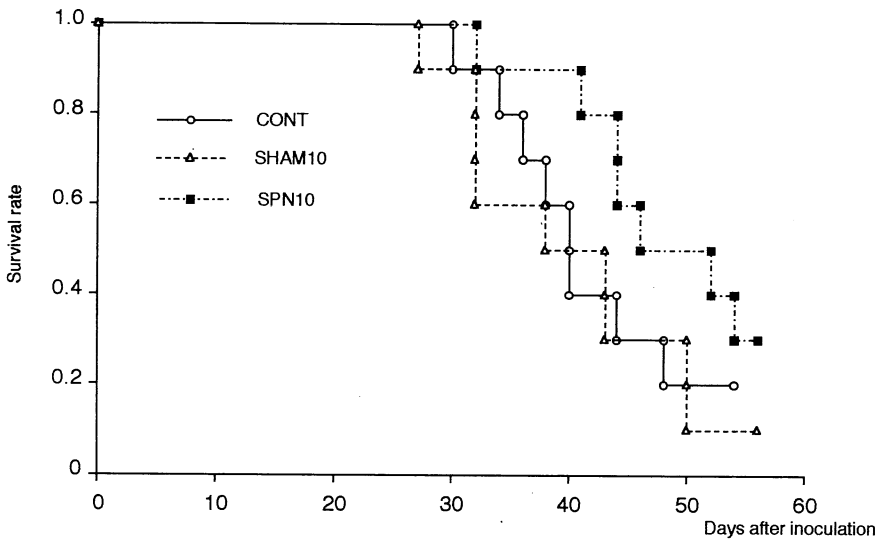


Fig. 3. Tumor growth curve and survival rate in CONT, SHAM10, and SPN10 groups.

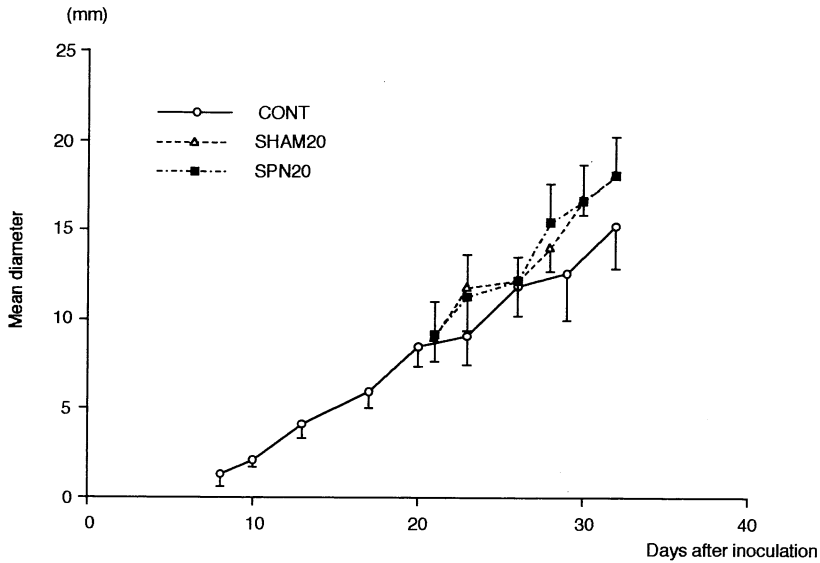
比べ生存率の延長が認められた。

CONT 群, SHAM 20 群, SPN 20 群生存率を Fig. 4 B に示した. SHAM 20 群, SPN 20 群とも接種後 28 日目より病死しはじめ, 47 日目までに全例病死した. 両群とも CONT 群に比べ生存率の短縮が認められた.

3) 血液及び脾のリンパ球サブセットの変化

CONT 群の血液及び脾のリンパ球サブセットの経日的変化を Fig. 5 A, B に示した. 脾の Lyt 2 陽性及び L 3 T 4 陽性細胞比は接種後 6 日目に上昇がみられ, 腫瘍増大とともに前値に戻った. 一方, 血液の Lyt 2 陽性細胞比は腫瘍増大に関係なく一定値を示し, L 3 T 4 陽性細胞比は接種後 9 日目まで低下を示し, 腫瘍増大とともに前値

A. Tumor growth curve



B. Survival rate

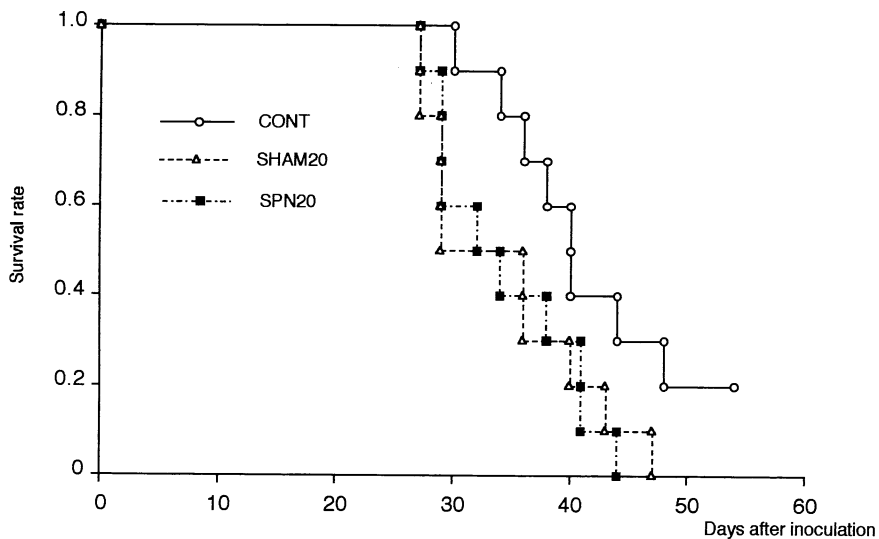


Fig. 4. Tumor growth curve and survival rate in CONT, SHAM20, and SPN20 groups.

に戻った。

CONT 群, SHAM 5 群, SPN 5 群における血液のリンパ球サブセットの経日的変化を Fig. 6 A, B に示した。

SPN 5 群における Lyt 2 陽性及び L3 T 4 陽性細胞比は, 他群に比べて有意な低下が認められた ( $p < 0.05$ )。

CONT 群, SHAM 10 群, SPN 10 群における血液のリン

パ球サブセットの経日的変化を Fig. 7 A, B に示した。SPN 10 群における Lyt 2 陽性細胞比は, 接種後 20 日目 (脾摘後 10 日目) に他群に比べ有意な上昇がみられた ( $p < 0.05$ )。また L3 T 4 細胞比は, 2 群とも同様の経日的変化を示した。

CONT 群, SHAM 20 群, SPN 20 群における血液のリン

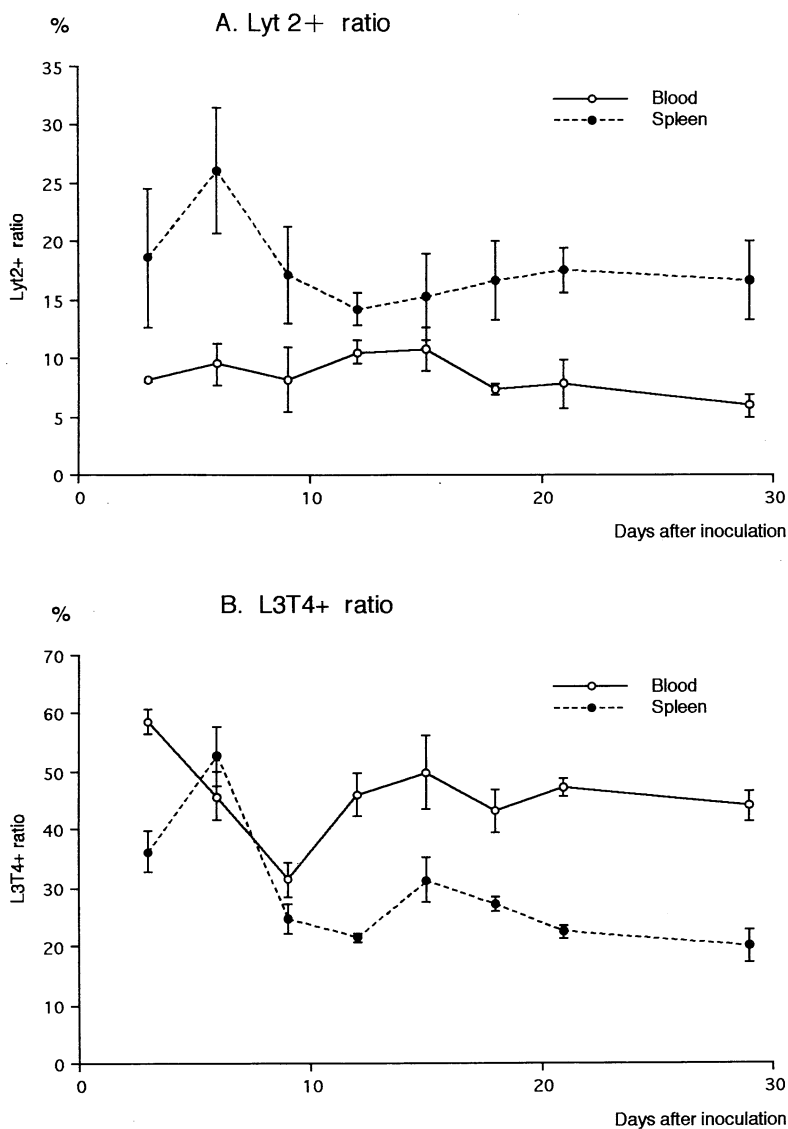


Fig. 5. Lyt 2<sup>+</sup> and L3T4<sup>+</sup> ratio of blood and spleen in CONT group.

ンパ球サブセットの変化では、Lyt 2 陽性及び L 3 T 4 陽性細胞比は 3 群とも同様の变化を示した。

### 考 察

脾臓は免疫担当臓器として重要な役割を担っているが、腫瘍免疫学の立場からみると、いまだ不明な点も少なくない。動物実験や臨床における脾臓の生体を与える影響やその有用性の是非についても議論の多いところである。

非担癌生体での脾摘後の腫瘍生着に関して、Michowitz ら<sup>3)</sup>は、マウスにおいて Lewis 肺癌の生着率を検

討し、移植前の脾摘は特に影響がなかったと報告している。またラットを用いた実験系で Gigong ら<sup>6)</sup>は、腫瘍移植前の脾摘は腫瘍生着率及び腫瘍増殖を促進させたと報告している。著者ら<sup>7)</sup>は既報において、腫瘍移植 10 日前に脾摘を行ったマウス実験系を用い、腫瘍増殖及び宿主の生存率について検討し、脾摘後の腫瘍増殖の促進及び宿主の生存率低下を報告した。しかし脾摘後の腫瘍増殖及び宿主の生存率に関して一定の見解が得られていないのが現状である。

また担癌生体での脾摘の腫瘍及び生体を与える影響に

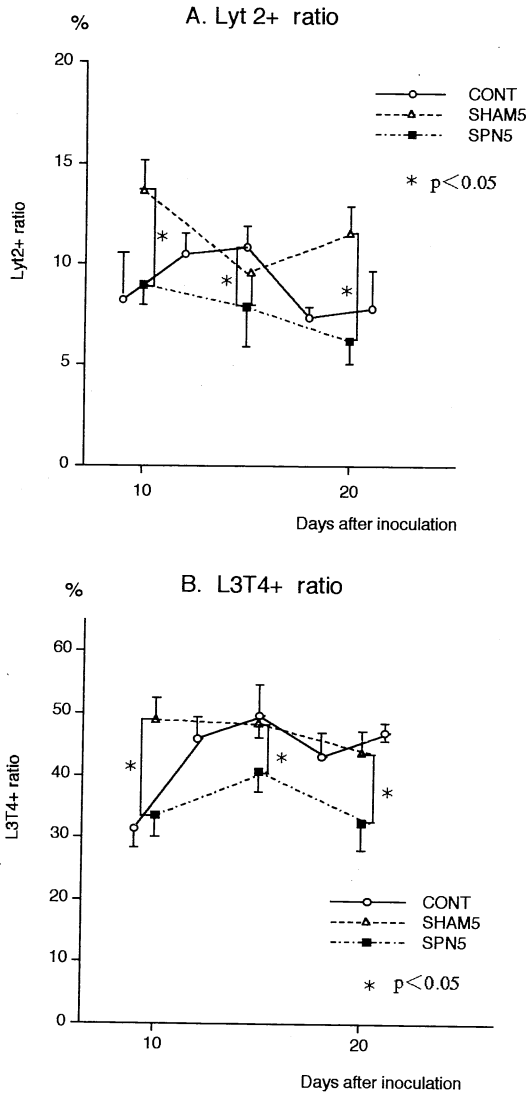


Fig. 6. Lyt 2<sup>+</sup>, and L3T4<sup>+</sup> ratio of blood in CONT, SHAM5, and SPN5 groups.

についても種々の報告がみられるものの明確な結論が得られるに至っていない。岡田ら<sup>9)</sup>はマウスに Ehrlich 腹水癌細胞を移植する実験系で、担癌早期の脾摘は腫瘍増殖を抑制し、進行癌での脾摘は腫瘍増殖を促進する効果がみられたと報告している。これに対し杉町ら<sup>9)</sup>は BALB/c マウスに MethA 腫瘍を移植する実験系で、少量の腫瘍細胞を接種した場合には脾臓は抗腫瘍性に働き、多量の腫瘍の場合には逆に腫瘍増殖促進的に働く可能性を報告している。さらに佐治ら<sup>2)</sup>は SD 系ラットの 3-メチルコラントレン誘発乳癌腫瘍を移植する実験系で、脾細胞は

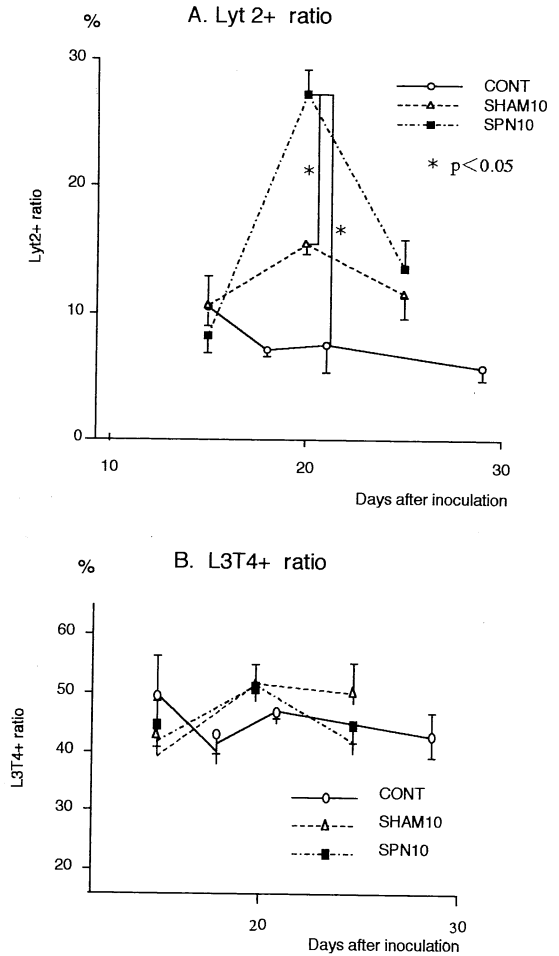


Fig. 7. Lyt 2<sup>+</sup>, and L3T4<sup>+</sup> ratio of blood in CONT, SHAM10, and SPN10 groups.

担癌 2 日目(早期)と 14 日目(末期)以降には免疫活性の低下が、7 日目(中期)には免疫活性の増強がみられ、脾摘後の腫瘍増殖程度もこの影響を受け増殖抑制を示す場合と増殖促進を示す場合のあることを示唆している。これらの報告では、実験動物、移植動物、脾摘時期などが異なるものの、脾臓の腫瘍に対する免疫学的二面性が指摘されている。

臨床例での胃癌患者における脾摘の報告では、吉野ら<sup>10),11)</sup>は脾門部リンパ節転移陰性の Stage I, II, III 症例では、脾温存群が脾摘群に比べ予後良好であったと報告し、折田ら<sup>12),13)</sup>は Stage I, II 症例では脾温存群で、Stage III, IV 症例では脾摘群で予後良好であったと報告している。また峠ら<sup>14),15)</sup>は Stage III, IV 症例では脾は免疫抑制的に作用することから、脾摘群の方が予後良好であったと報告している。一方、杉町ら<sup>9),16)</sup>は胃全摘症例の

検討で脾温存群が脾摘群に比べ術後感染症の合併が少なく、予後も良好であったと報告している。また Bradyら<sup>17)</sup>は脾摘は予後に影響を及ぼさず、術後感染症の発生頻度を高めるため、できるだけ脾温存すべきであると報告している。大腸癌症例においては、術中に脾摘をすることはまれであるが、脾摘は予後に影響を及ぼさず、できるだけ温存すべきであるとする報告が多い<sup>18),19)</sup>。さらに術後補助療法のみからは BRM を中心とした免疫療法施行時には、脾臓の存在は有効に作用するという報告も認められる<sup>20),21),22)</sup>。このように臨床例においても、脾摘が担癌生体術後の予後に及ぼす影響に関して未だ意見の統一をみていない。

今回著者は腫瘍の発育及び宿主の生存に対する脾摘の意義について、マウス移植腫瘍系を用い、血液及び脾の T リンパ球サブセット Lyt 2 陽性及び L 3 T 4 陽性細胞比の変化より検討を行った。なお Lyt 2 陽性細胞は細胞傷害性及びサプレッサー T リンパ球の、L 3 T 4 陽性細胞はヘルパー及びインデュース T リンパ球の表面抗原として知られている。

担癌動物を用いた脾摘モデルの実験系では、腫瘍移植後の脾摘の時期について問題が残るため、腫瘍移植後 5 日目、すなわち肉眼的に腫瘍生着が確認できない時期の脾摘を早期とした。また腫瘍移植後 10 日目、すなわち腫瘍平均径が 2 mm で外科的に腫瘍切除可能な時期を中期、腫瘍移植後 20 日目、すなわち腫瘍平均径が 8 mm と増大した時期を後期の脾摘とした。さらに手術侵襲による影響を考慮に入れ、SHAM 群についても同様に検討した。

腫瘍移植後の脾のリンパ球サブセットの経日的変化では、移植後 6 日目に Lyt 2 陽性及び L 3 T 4 陽性細胞比が有意に上昇し、それ以後は徐々に低下する傾向が認められたことにより、腫瘍増大につれて脾内の細胞障害性 T 細胞、サプレッサー T 細胞、ヘルパー T 細胞等の免疫応答が移植後 6 日目をピークとして上昇したと推測された。一方、血液のリンパ球サブセットの経日的変化では、Lyt 2 陽性細胞比は全経過を通して変動は認められず、また L 3 T 4 陽性細胞比も、移植後 9 日目まで低下を認めたものの全経過を通して大きな変動は認められなかった。従って、腫瘍増大とともに脾のリンパ球サブセットには免疫応答が認められるものの、血液のリンパ球サブセットには大きな変動は認められなかった。

担癌早期においては、脾内の細胞障害性 T 細胞や細胞障害性マクロファージの活性が増加する時期であると推察でき、この時期の脾摘は脾内の細胞障害性活性が除去され、腫瘍増殖促進的に働くことと推測できる<sup>2)</sup>。今回の結果

において、早期脾摘群における血液の Lyt 2 陽性及び L 3 T 4 陽性細胞比が CONT 群、SHAM 群に比べて全経過を通して低値を示したことは、血液中の細胞傷害活性が低下し、腫瘍増殖促進的に働いたと推測される。また担癌中期においては、腫瘍増大と共に脾内のサプレッサー T 細胞<sup>23)</sup>やサプレッサー・マクロファージ<sup>24),25)</sup>の出現や免疫抑制因子<sup>26)</sup>の産生が脾摘により除去され、腫瘍増殖抑制的に働くことと推測される。今回の結果において、担癌中期の脾摘における血液の Lyt 2 陽性細胞比が他群より有意に上昇を示したことは、脾内の免疫抑制活性が除去された結果、血液中の細胞障害性活性が上昇し、腫瘍増殖抑制的に働いたと推測される。また担癌後期では脾内及び血液中の免疫抑制活性が増強され、全身免疫系の破綻をきたした状態であり<sup>2)</sup>、さらに脾摘という手術侵襲自体が宿主の細胞性免疫能を低下させ<sup>27),28)</sup>、腫瘍増殖促進的に働いたと考えられる。

人と実験動物系とは必ずしも同じ免疫系を示すとは限らないが、臨床例における Stage I, II の比較的早期胃癌の治癒切除症例では、脾温存群の方が脾摘群に比べ予後良好であるという報告は、脾温存による術後感染症の発生頻度の低下に加え、この時期が著者の実験系の担癌早期の脾摘に一致するものと推測される。また Stage III, IV 症例では脾摘群の方が予後良好であるという報告は、脾摘により十分な根治術が行われたということの他に、この時期が著者の実験系の担癌中期の脾摘に一致し、脾内のサプレッサー細胞やサプレッサー・マクロファージ及び免疫抑制物質が脾摘により除去されたことによるのかも知れない。さらに Stage IV 以降の末期症例では実験系の担癌後期に一致し、宿主の免疫抑制活性の増強及び外科的手術侵襲自体が腫瘍増殖を促進させたことと推測できる。

以上、担癌生体における脾臓の役割は、癌の進行度や担癌量により正、負の二面性を持った免疫反応を示す。胃癌治療においては、脾門部リンパ節転移を認めるものに対しては脾摘することに議論の余地はないものの、予防的脾摘には脾臓自体の持つ免疫学的役割を考慮しなければならない。すなわち担癌早期には脾温存が、中期では脾摘が生体に有利に働く可能性があると示唆された。

## 結 語

腫瘍の発育及び宿主の生存に対する脾摘の意義をマウスの移植腫瘍系を用いて検討し、以下の結果を得た。

1. CONT 群では腫瘍接種後 8 日目よりマウス背部に腫瘍が肉眼的に生着、経日的に増大し、接種後 30 日目より癌死しはじめた。また脾の Lyt 2 陽性及び L 3 T 4 陽



性細胞比は接種後6日目に上昇がみられ, 腫瘍増大とともに前値に戻った. 一方, 血液中のLyt 2陽性細胞比は腫瘍増大に関係なく一定値を示し, L3T4陽性細胞比は接種後9日目まで低下を示し, 腫瘍増大とともに前値に戻った.

2. 腫瘍接種後5日目(早期)の脾摘では, SHAM 5群, CONT群に比べ, 血液中のLyt 2陽性細胞比の低下がみられ, 腫瘍増大促進, 生存率の短縮が認められた.

3. 10日目(中期)の脾摘では, SHAM 10群, CONT群に比べ, 血液中のLyt 2陽性細胞比の有意な上昇がみられ, 腫瘍増大抑制, 生存率の延長が認められた.

4. 20日目(後期)の脾摘では, 血液中のリンパ球サブセットには大きな変化はみられなかったが, CONT群に比べ, 他の2群は腫瘍増大促進, 生存率の短縮が認められた.

以上により, 担癌マウスにおける脾摘は血液リンパ球サブセットに変化をもたらし, 早期の脾摘は宿主にとって不利に, 中期の脾摘は有利に働く. また後期の脾摘そのものよりも手術侵襲自体が宿主に不利に作用することが推測された.

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜った奈良県立医科大学第1外科学教室中野博重教授に深甚なる感謝の意を表するとともに, 直接御指導, 御助言をいただきました山本克彦博士に心から謝意を表します. また研究に御協力をいただいた奈良県立医科大学第1外科学大腸グループの諸兄に感謝いたします.

なお, 本稿の要旨は第19回日本臨床免疫学会(1991年6月6日, 長崎), 第92回日本外科学会総会(1992年3月26日, 東京)において発表した. 本研究の一部は文部省科学研究費(奨励研究A 03857161)によっておこなわれた.

## 文 献

- 1) 関川敬義, Shatney, C. H., 菅原克彦: 脾摘と感染. 臨外会誌. 38: 195-202, 1983.
- 2) 佐治董豊, 杉山保幸, 宮 喜一, 大下裕夫, 横山幸夫, 山本 悟, 竹脇知治, 坂田一記: 担癌生体における脾摘の功罪に関する実験的考察. 日外会誌. 84: 179-185, 1983.
- 3) Schwartz, R. E. and Hiserodt, J. C.: Effect of splenectomy on the development of tumor-specific immunity. J. Surg. Res. 48: 448-453, 1990.
- 4) Corbett, T. H., Griswold, D. P. Jr. and Roberts, B. J.: Tumor induction relationships in development of transplantable cancers of the colon in mice for chemotherapy assays, with a note on carcinogen structure. Cancer Res. 35: 2434-2439, 1975.
- 5) Michowitz, M., Kopel, S., Hoening, S. and Leibovici, J.: Effect of splenectomy on treatment of Lewis lung carcinoma by an immunomodulatory polysaccharide and a cytotoxic agent. J. Surg. Oncol. 34: 268-271, 1987.
- 6) Gigong, G., Han, G. and Xianto, K.: Change of peripheral T-cell subsets in asplenic W 256 tumor bearing rats. J. Surg. Oncol. 42: 60-68, 1989.
- 7) 渡邊 巖, 山本克彦, 佐道三郎, 藤井久男, 仲川昌之, 山本雅俊, 安田慎治, 中野博重: 腫瘍の生着, 発育における脾摘の効果. Biotherapy 5: 923-926, 1991.
- 8) 岡田 剛: 脾摘腫瘍増殖と細胞性免疫に及ぼす影響に関する実験的研究. 岡山医学会誌. 92: 39-51, 1980.
- 9) 杉町圭蔵, 児玉好史, 岡村 健, 白石守男, 桑野博行, 井口 潔: 胃全摘における脾摘—予防的脾摘批判の立場から. 手術 36: 337-343, 1982.
- 10) 吉野肇一, 春山克郎, 中村修三, 松本純夫, 山田好則, 磯部 潔, 久保田哲朗, 熊井浩一郎, 石引久弥, 阿部令彦: 生存率から見た脾摘の意義—胃癌手術における脾摘の意義と問題点. 日消外会誌. 12: 944-949, 1979.
- 11) 吉野肇一, 熊井浩一郎, 浅沼史樹, 石引久弥: 胃癌手術における脾摘の是非. 臨外会誌. 39: 1539-1542, 1984.
- 12) 三輪 昭, 折田薫三: 癌治療における脾摘, とくに胃癌手術時の合併脾摘について. 臨床と研究 60: 2913-2921, 1983.
- 13) 折田薫三, 合地 明: 胃癌手術における脾摘の問題点. 手術 41: 675-681, 1987.
- 14) 峠 哲哉, 亀田 彰, 黒井克昌, 世戸芳博, 山田博文, 服部孝雄: 胃がん患者における脾の免疫抑制への関与と脾摘の意義. 日外会誌. 86: 1120-1123, 1985.
- 15) 峠 哲哉, 柳川悦郎, 山口佳之, 黒井克昌, 沢村明宏, 服部孝雄: 胃癌患者脾の免疫抑制への関与と脾摘の意義. 日消外会誌. 21: 2478-2481, 1988.
- 16) Maehara, Y., Yoshida, M., Takahashi, I., Korenaga, D. and Sugimachi, K.: Splenectomy does not correlate with length of survival in patients undergoing curative total gastrectomy

- for gastric carcinoma. *Cancer* **67**: 3006-3009, 1991.
- 17) **Brady, M. S., Ragatko, A., Dent, L. L. and Shiu, M. H.** : Effect of splenectomy on morbidity and survival following curative gastrectomy for carcinoma. *Arch. Surg.* **126**: 359-364, 1991.
- 18) **Davis, C. J., Ilstrup, D. M. and Pemberton, J. H.** : Influence of splenectomy on survival rate of patients with colorectal cancer. *Am. J. Surg.* **155**: 173-179, 1988.
- 19) **Varty, C. J., Linehan, I. P. and Boulos, P. B.** : Does concurrent splenectomy at colorectal cancer resection influence survival? *Dis. Colon Rectum.* **36**: 602-606, 1993.
- 20) 三輪怒昭, 小島啓明, 小林 努, 井上 徹, 中村憲治, 守山 稔, 岡 哲秀, 鶴身孝文, 飯島崇史, 合地 明, 守屋直人, 広瀬 清, 山下 祐, 折田薫三: 癌治療における摘脾の腫瘍免疫学的意義. *日外会誌* **84**: 970-973, 1983.
- 21) 内藤和世, 田中承男, 山岸久一, 稲葉征四郎, 小林雅夫, 中山直治, 土屋邦之, 西本知二, 岡 隆宏: 胃痛手術における脾摘の免疫学的意義とその問題点. *日消外会誌* **17**: 2156-2162, 1984.
- 22) 妙中直之: 抗腫瘍免疫学療法における脾の役割に関する実験的研究. *日癌治* **26**: 2246-2255, 1991.
- 22) **Fujimoto, S., Greene, M. I. and Sehon, A. H.** : Regulation of the immune response to tumor antigens I: Immunosuppressor cells in tumor bearing hosts. *J. Immunol.* **116**: 791-799, 1976.
- 24) **Yamagishi, H., Pellis, N. R. and Kahan, B. D.** : Effect of splenectomy upon tumor growth; Characterization of splenic tumor enhancing cells in vivo. *Surgery* **87**: 655-661, 1980.
- 25) 山岸久一, 内藤和世, 前田米造, 小林雅夫, 栗岡英明, 藤森千尋, 田中承男, 橋本 勇: OK-432 免疫療法における脾臓の役割と誘導される effector 細胞の性格分析. *癌と化学療法* **10**: 1670-1678, 1983.
- 26) **Erb, P., Baselgia, L., Gasser, M., Honegger, A. and Loeffler, H.** : Effect of splenectomy on the growth of adenovirus 12 tumors in hamsters. *Experientia* **30**: 943-944, 1974.
- 27) 日伝晶男, 長田裕男, 小林元壮, 松村友義, 合知明, 上川康明, 折田薫三: 手術侵襲の細胞性免疫能に及ぼす影響. *日外会誌* **91**: 1178-1181, 1990.
- 28) **Faist, E., Kupper, T. S., Backer, C. C., Chaudry, I. H., Dwyer, J. and Baue, A. E.** : Depression of cellular immunity after major injury. *Arch. Surg.* **121**: 1000-1005, 1986.