

MK-1 Expression in the Main Tumor and Invasive Front of Advanced Colorectal Adenocarcinoma and its Clinicopathological Significance

Hitoshi KURAMOCHI^{1) 2)}, Yoshihiro HAMADA¹⁾, Satoshi NIMURA¹⁾,
Morishige TAKESHITA¹⁾, Motomichi NAKAGAWA^{1) 2)}, Yuichi YAMASHITA²⁾,
Seiyo IKEDA³⁾, Hiroshi IWASAKI⁴⁾,

¹⁾ *Department of Pathology, Faculty of Medicine, Fukuoka University*

²⁾ *Department of Gastroenterological Surgery, Faculty of Medicine, Fukuoka University*

³⁾ *Emeritus Professor, Fukuoka University*

⁴⁾ *Medical Research Center, Faculty of Medicine, Fukuoka University*

Abstract: Background: MK-1 is a 40kD transmembrane glycoprotein expressed on human epithelial cell membrane with function of intercellular adhesion molecule, which belongs to Ep-CAM (epithelial cell adhesion molecule) family. The aim of the present study is to evaluate the MK-1 expression in the main tumor and invasive front of advanced colorectal adenocarcinoma. We analyzed the relationship between the MK-1 expression and the patients' prognosis as well as various clinicopathologic features. Method: The MK-1 expression was immunohistochemically investigated in the 152 case of advanced colorectal adenocarcinoma, by using formalin fixed and paraffin embedded samples. MK-1 expression was determined as positive when more than 25% of tumor cells reacted with anti-MK-1 monoclonal antibody. The evaluated clinicopathologic factors included age, gender, location, tumor cell differentiation, lymphatic and venous permeations, sprouting, TNM stage of the disease classification and prognosis. Comparisons between the MK-1 positive and negative groups were performed using the χ^2 -test or Fisher exact method. Survival curves of patients were determined by using the Kaplan-Meier method and were analyzed with the log-rank test. Results: (1) MK-1 expression in the invasive front (39.5%) was significantly lower than that of the main tumor (52.6%) ($P<0.05$). (2) MK-1 expression in poorly differentiated area of the invasive front (15.0%) was significantly lower than that in well and moderately differentiated area (44.1%) ($P<0.05$). (3) MK-1 expression in the main tumor was significantly decreased in N1+N2 (41.7%) and stage III+IV (43.6%) groups, compared with N0 (62.5%) and stage I+II (62.2%) groups ($P<0.05$). (4) MK-1 expression in the invasive front was significantly decreased in N1+N2 (25.0%), M1 (17.2%) and stage III+IV (25.6%) groups, compared with N0 (52.5%), M0 (44.7%) and stage I+II (54.1%) groups, respectively ($P<0.01$). (5) MK-1 expression in the main tumor was not associated with the patients' prognosis. However, loss of MK-1 expression in the invasive front was significantly related to the poor prognosis ($P<0.05$). Conclusion: The loss of MK-1 expression in the invasive front of advanced colorectal adenocarcinoma may be related to lymph node metastasis, patients' clinical stage and prognosis.

Key words : Colorectal carcinoma, Invasive front, MK-1, Sprouting, TNM staging, Prognosis

進行大腸腺癌の主腫瘍および先進部における MK-1 発現の検討

倉持 均¹⁾²⁾, 濱田 義浩¹⁾, 二村 聡¹⁾,
竹下 盛重¹⁾, 中川 元道¹⁾²⁾, 山下 裕一²⁾,
池田 靖洋³⁾, 岩崎 宏⁴⁾

- ¹⁾ 福岡大学医学部病理学教室
²⁾ 外科学講座消化器外科教室
³⁾ 福岡大学名誉教授
⁴⁾ 総合医学研究センター

要旨: MK-1 は、分子量 40kD の膜貫通型糖タンパク質で、上皮細胞の分化・増殖および細胞間接着に関与している。今回、進行大腸腺癌において腫瘍の悪性を示す因子としての有用性を明らかにする目的で、大腸癌 152 例における MK-1 の発現を免疫組織化学的に検索し、MK-1 の発現と臨床病理学的諸因子および予後との関係について検討した。腫瘍先進部における MK-1 発現率は、主腫瘍に比べ有意に低下していた ($P < 0.05$)。また、腫瘍先進部での MK-1 の発現率は、低分化群 (15.0%) が高・中分化群 (44.1%) に比べ低下していた ($P < 0.05$)。先進部の MK-1 発現率とリンパ節転移、遠隔転移および病期との関連をみると、リンパ節転移 (N1+N2) 群で 25.0%、遠隔転移 (M1) 群で 17.2%、病期 III + IV 群で 25.6% であり、それぞれ N0 群 (52.5%)、M0 群 (44.7%)、病期 I + II 群 (54.1%) に比べ、有意に低下していた ($P < 0.01$)。主腫瘍の MK-1 発現率とリンパ節転移との関連をみると、リンパ節転移 (N1+N2) 群が非転移 (N0) 群に比べ MK-1 の発現が低下していた ($P < 0.05$)。病期別に MK-1 の発現率をみると、III + IV 群では 43.6% であり、病期 I + II 群の 62.2% に比べ、発現が低下していた ($P < 0.05$)。Kaplan-Meier 法にて生存曲線を算出すると、先進部での MK-1 発現陰性群は、陽性群に比べ有意に予後不良であった ($P = 0.018$)。結論として、進行大腸腺癌における MK-1 の発現は転移と相関があり、先進部での MK-1 発現率低下は分化度および予後との関連が示唆された。

キーワード: 大腸癌, 腫瘍先進部, MK-1, 簇出, TNM 分類, 予後

はじめに

MK-1 は、Watanabe ら¹⁾により、ヒト胃腺癌腹水細胞を免疫原として作製されたモノクローナル抗体 FU-MK-1 により認識されるヒト腫瘍関連抗原である。MK-1 は分子量 40kD の膜貫通型糖タンパク質であり、Ep-CAM (ヒト腫瘍関連上皮細胞接着因子: Epithelial cell adhesion molecule) と類似の抗原と考えられている。MK-1 の支配遺伝子は GA733 ファミリーに属し、細胞接着分子として上皮細胞の分化・増殖に関わっている²⁾。

GA733 ファミリーに属する抗原には、MK-1 の他、Ep-CAM, 17-1A, ESA, EGP-2 などが知られている。抗原の機能に関して、1994 年に Litvinov らにより、Ep-CAM が上皮細胞の細胞間接着因子として同定された糖タンパク質³⁾で、正常では Ca^{2+} 非依存性のホモフィリックな細胞間接着能を持つことが確認されている⁴⁾。

GA733 ファミリーでは多数の癌における発現が報告

されている⁵⁻¹⁹⁾。MK-1 抗原の発現も、Watanabe ら¹⁾が、胃癌において高・中分化腺癌に強く発現する一方、低分化型胃癌では発現が弱いこと、大腸癌では強い発現がみられることを報告した。Hamada ら¹⁸⁾は十二指腸乳頭部癌における MK-1 発現を、また Ikeda ら¹⁹⁾は胆嚢癌における MK-1 発現をそれぞれ検討し、低分化腺癌で発現が低下していることを見出し、また MK-1 発現陽性群が良好な予後を示すことを報告した。MK-1 はヒト消化器の上皮性悪性腫瘍に発現を示すことが報告されている。しかし、大腸癌での MK-1 の発現に関して詳細な臨床病理学的検討は、ほとんど行われていない。

今回、進行大腸腺癌における MK-1 発現と病理学的諸因子および予後との関連について検討した。

対象と方法

1. 対象

1995 年 4 月～1999 年 3 月の 4 年間に、福岡大学医学

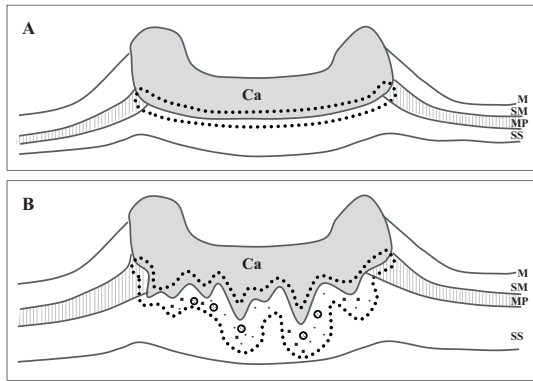


図 1. Schematic drawing of invasive carcinomas of the colon. The invasive front is surrounded by a dotted line. (A) Carcinoma without sprouting. (B) Carcinoma showing sprouting. Ca: Carcinoma, M: Mucosa, SM: Submucosa, MP: Muscularis propria, SS: Subserosa.

部病理学教室で大腸腺癌と診断された切除例 152 例 (152 病変) を対象とした。ただし、同時性重複癌、炎症性腸疾患に随伴する大腸癌および家族性大腸ポリポーシスに随伴した大腸癌は除外した。いずれの症例も術前未治療症例である。

2. 方法

1) 組織標本作製

切除後ホルマリン固定した標本をスライスし、腫瘍の最大断面の切片を選択した。パラフィン包埋した代表切片から $3\mu\text{m}$ で薄切した。まずヘマトキシリン・エオジン (H & E) 染色を行い、WHO 分類に基づく病理組織学的診断を行った²⁰⁾。

2) MK-1 免疫組織化学染色

パラフィン包埋切片をキシレンにて脱パラフィンを行い、水洗後、抗原性を賦活化させるため 0.01M クエン酸 Buffer (pH6.0) にて 10 分間マイクロウェーブで前処置した。次に 1% スキムミルクにて非特異的反応ブロックを行い、FU-MK-1 抗体 (1: 2000) と 1 時間反応させた後、LSAB 法 (Labelled Streptavidin Biotin) で 2 次抗体 (BIOTINYLATED ANTI-MOUSE IgG, VECTOR 社) と 30 分間反応させた。さらに、ストレプトアビシン (Streptavidin/AP, Dako 社) を常温で 30 分間反応させた。発色には、基質液 (N2125, Naphthol AS-BI phosphate, SIGMA 社) と発色剤 (4% New fuchsin, MERCK 社) の混合剤にて 10 分間発色を行った。ヘマトキシリンにて核染色後、脱水、透徹、封入した。

3) 染色の判定

腫瘍細胞の細胞膜全周性に MK-1 の発現がみられるものを陽性細胞とした。検索範囲における陽性腫瘍細胞の割合で下記のごとく判定した。

- (1) 主腫瘍における MK-1 発現陽性腫瘍細胞の割合を判定し、25% 以上を陽性、25% 未満を陰性とした。
- (2) 腫瘍先進部とは、腫瘍細胞が顕微鏡的に浸潤している深部辺縁を検索対象とした (図 1A, 1B)。同部における MK-1 発現陽性腫瘍細胞の割合が 25% 以上を陽性とした。

染色を判定する際、症例をブラインドして著者及び症例情報を知らない病理医 1 名を含む共著者 2 名

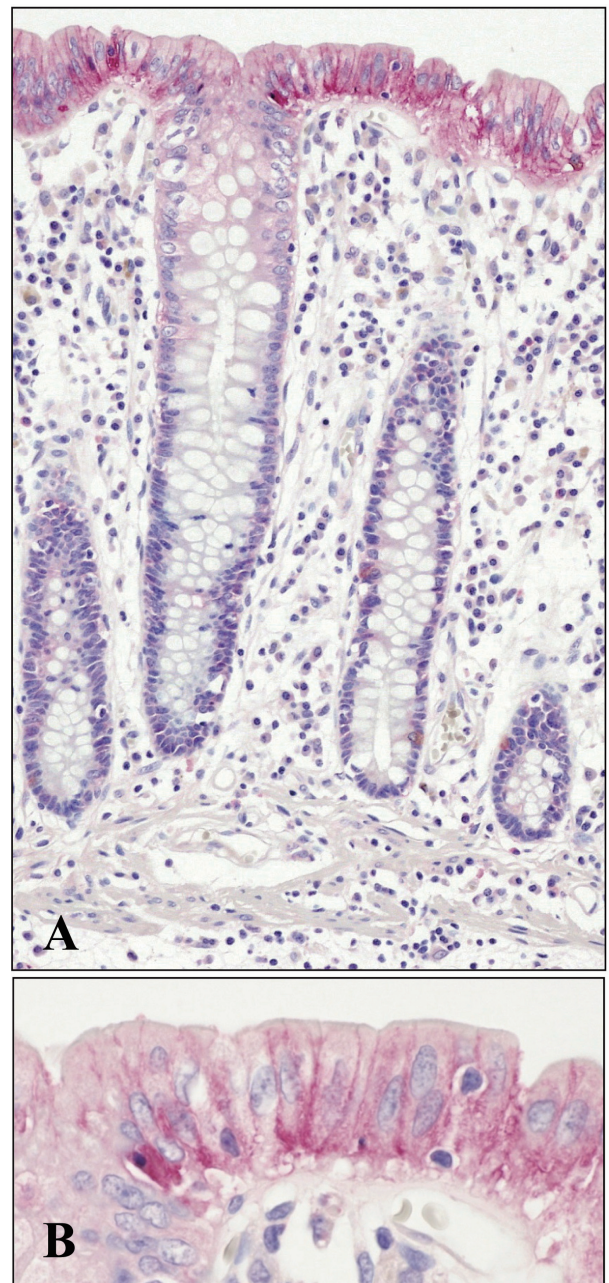


図 2. Expression of MK-1 in the normal colonic mucosa. (A) The surface epithelial cells constantly express MK-1. (B) MK-1 is positive in basolateral membrane, but negative in apical membrane. (A) $\times 100$; (B) $\times 200$

の計3名で行った。異なった判定の場合は、3名で再検討し合意した判定に従った。

4) 検討項目

検討項目の内訳は、年齢、性、腫瘍の占居部位（結腸 vs. 直腸）、リンパ管侵襲の程度²¹⁾、静脈侵襲の程度²¹⁾、簇出（sprouting）の程度²²⁾、主腫瘍と先進部のそれぞれの分化度²⁰⁾、主腫瘍と先進部のMK-1の発現、TNM病期分類²³⁾および予後である。

簇出の判定は、腫瘍先進部において、癌細胞が個々に、あるいは4～5個以下の細胞が小塊状、索状細胞群を形成し、組織間隙へ散布するように認められる所見を簇出所見陽性とした。Haseら²²⁾の分類に従い、簇出の程度を、全く認めない（sp0）、軽度認める（sp1）、中等度認める（sp2）、高度認める（sp3）の4段階に分類し、軽度以下（sp0+1）と中等度以上（sp2+3）にて比較した。

5) 統計学的検討

結果は、各項目について χ^2 検定もしくはFisherの直接法にて解析を行い、 $p < 0.05$ を有意差とした。生存率はKaplan-Meier法で算出、log-rank検定を行い、5%未満をもって有意差ありとした。統計解析にはStat View 5.0Jを用いた。

結 果

1. 対象症例背景

男性88例、女性64例、平均年齢64.6歳（38-92歳）で、部位は、結腸77例、直腸75例である。腺癌152例の病理組織学的診断は、WHO分類²⁰⁾に基づいて行い、高分化型管状腺癌86例、中分化型管状腺癌61例、低分化型腺癌5例であった。また、TNM分類²³⁾による病期では、病期Ⅰ：24例、病期Ⅱ：50例、病期Ⅲ：49例、病

表 1. Expression of MK-1 in main tumor and invasive front of advanced colorectal adenocarcinoma

	Total (n)	MK-1 expression (%)		P value
		Positive	Negative	
Main tumor	152	80 (52.6)	72 (47.4)	0.021*
Invasive front	152	60 (39.5)	92 (60.5)	

* χ^2 test.

表 2. Relationship between MK-1 expression and the clinical pathology characters in colorectal adenocarcinoma

	Total (n)	MK-1 expression of main tumor (%)			MK-1 expression of invasive front (%)		
		Positive	Negative	P value	Positive	Negative	P value
Age							
<64	72	33 (45.8)	39 (54.2)	0.143*	26 (36.1)	46 (63.9)	0.507*
65<	80	47 (58.8)	33 (41.2)		34 (42.5)	46 (57.5)	
Gender							
Female	64	33 (51.6)	31 (48.4)	0.870*	28 (43.8)	36 (56.2)	0.403*
Male	88	47 (53.4)	41 (46.6)		32 (36.4)	56 (63.6)	
Location							
Colon	77	35 (45.5)	42 (54.5)	0.077*	26 (33.8)	51 (66.2)	0.274*
Rectum	75	45 (60.0)	30 (40.0)		34 (45.3)	41 (54.7)	
Lymphatic permeation							
(0,1)	74	42 (56.8)	32 (43.2)	0.335*	35 (47.3)	39 (52.7)	0.068*
(2,3)	78	38 (48.7)	40 (51.3)		25 (32.1)	53 (67.9)	
Venous permeation							
(0,1)	92	45 (48.9)	47 (51.1)	0.319*	34 (37.0)	58 (63.0)	0.498*
(2,3)	60	35 (58.3)	25 (41.7)		26 (43.3)	34 (56.7)	
Sprouting							
(0,1)	60	34 (56.7)	26 (43.3)	0.507*	29 (48.3)	31 (51.7)	0.071*
(2,3)	92	46 (50.0)	46 (50.0)		31 (33.7)	61 (66.3)	

* χ^2 test.

期Ⅳ：29 例である。

腫瘍先進部の病理組織学的分化度は、高分化型 50 例、中分化型 77 例、低分化型 20 例であった。

2. 大腸正常粘膜での MK-1 発現

正常粘膜での MK-1 発現は、いずれの症例においても表層の成熟した円柱上皮細胞の側膜にみられた (図 2A, 2B)。腺管底部に存在する増殖細胞帯には、発現がなかった。

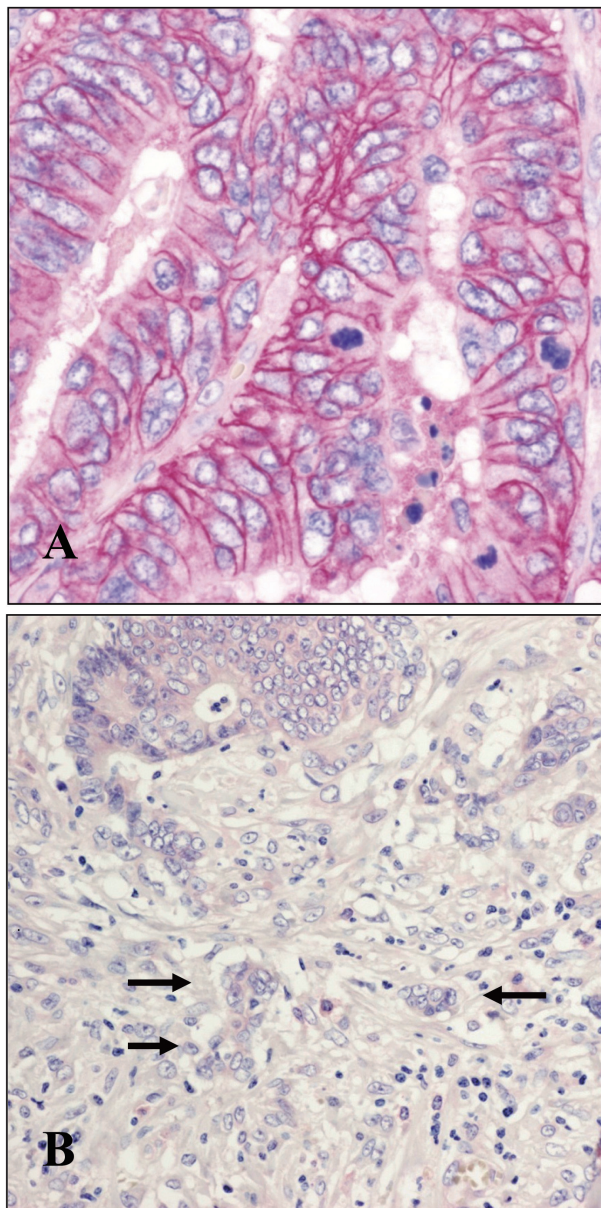


図 3. Expression of MK-1 in advanced colorectal adenocarcinoma. (A) Well differentiated adenocarcinoma cells are positive for MK-1. (B) Tumor cells sprouting (black arrow) in invasive front are negative for MK-1. (A) × 400; (B) × 200

3. 主腫瘍と腫瘍先進部における発現

進行大腸腺癌 152 例中、主腫瘍での MK-1 陽性 (図 3A) は 52.6% であったが、先進部では 39.5% と、先進部 (図 3B) での有意な発現低下がみられた ($P=0.021$) (表 1)。

腫瘍先進部における簇出と MK-1 発現の検討では、簇出 sp0+1 群において 60 例中 29 例 (48.3%) が陽性であったのに対して、sp2+3 群では 92 例中 31 例 (33.7%) が陽性で、後者に MK-1 発現低下傾向がみられたが、有意差はみられなかった ($P=0.071$) (表 2)。

主腫瘍および先進部における MK-1 発現と年齢、性別、占居部位、リンパ管侵襲および静脈侵襲の各臨床病理学的因子に明らかな関連性はみられなかった (表 2)。

4. 腫瘍分化度と MK-1 発現

主腫瘍での低分化腺癌での MK-1 陽性率は、高・中分化腺癌に比較すると低い傾向がみられたが有意差はなかった ($P=0.668$) (表 3)。一方、腫瘍先進部に高・中分化型の成分がみられた 127 例では、56 例 (44.1%) が陽性であったが、低分化型の 20 例では、3 例 (15%) に陽性がみられるのみであった ($P=0.014$) (表 4)。

5. MK-1 発現と TNM 分類因子との相関

1) 主腫瘍における検討 (表 5)

原発腫瘍 (T) 因子および遠隔転移 (M) 因子では明らかな関連はみられなかった。しかし、リンパ節転移陰性群 (N0) 80 例のうち 50 例 (62.5%) が MK-1 陽性であったのに対し、リンパ節転移陽性群 (N1+N2) では 72 例中 30 例 (41.7%) が陽性と、後者で MK-1 発現が有意に低下していた ($P=0.010$)。TNM 病期分類にて、病期 I + II 群の MK-1 陽性は 74 例中 46 例 (62.2%) であり、一方、III + IV 群 78 例では 34 例 (43.6%) が陽性と、後者で MK-1 発現が有意に低下していた ($P=0.022$)。

2) 先進部における検討 (表 6)

原発腫瘍 (T) 因子では明らかな関連はみられなかった。リンパ節転移陰性群 (N0) では 80 例中 42 例 (52.5%) の MK-1 発現が陽性であったのに対し、リンパ節転移陽性群 (N1+N2) では 72 例中 18 例 (25.0%) が陽性と、N1+N2 群での MK-1 発現が有意に低下していた ($P=0.0005$)。遠隔転移陰性群 (M0) では 123 例中 55 例 (44.7%) が MK-1 発現陽性であったが、遠隔転移陽性群 (M1) では 29 例中 5 例 (17.2%) が発現陽性であり、M1 群での MK-1 発現が有意に低下していた ($P=0.006$)。また、TNM 病期分類にて、病期 I + II 群の MK-1 陽性症例は 74 例中 40 例 (54.1%)、一方、III + IV 群 78 例では 20 例 (25.6%) が陽性と、後者で MK-1 発現が有意に低下していた ($P=0.0003$)。

6. MK-1の発現と予後

予後の判明した152例について、MK-1発現と予後の関係を解析した。主腫瘍においては、陽性群と陰性群の

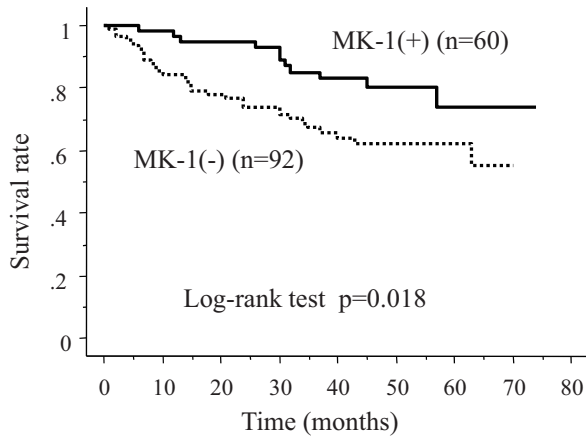


図 4. Overall survival in patients with or without MK-1 expression in invasive front. The MK-1-negative group (n=92) shows significant (P=0.018) worse prognosis than positive group (n=60), verified by Kaplan-Meier method and log-rank analysis.

間に有意差を認めなかったが (P=0.910)、腫瘍先進部では、MK-1陰性群は陽性群に比べ有意に予後不良であった (P=0.018) (図 4)。

考 察

病理学的に腫瘍先進部は、宿主の正常組織と腫瘍組織が遭遇する浸潤の最前線であり、個々の大腸癌が有する悪性度や浸潤に関する特徴が出現しやすいとされる²⁴⁾。腫瘍の転移や浸潤を考えたとき、腫瘍先進部の腫瘍細胞が腫瘍本体より離脱することから始まり、E-cadherinなどの種々の接着因子が関与している²⁵⁾。古巣ら²⁶⁾は、大腸癌の粘膜下層浸潤先進部でのE-cadherin発現減弱が、分化度の低下と関連したことを報告している。

GA733ファミリーに属するMK-1が細胞間の接着結合の部位でcadherinを介し接着の強さを調整しているとされる^{2) 3)}ことより、本研究では、腫瘍最大面だけではなく腫瘍先進部におけるMK-1発現の検討も行った。その結果、先進部におけるMK-1発現は、主腫瘍における発現と比較して、有意に低下していた。また、分化度の違いによるMK-1発現の比較では、主腫瘍の分化度との関連はみられず、先進部において、分化度が低下するとMK-1発現が有意に低下した。これはMK-1分子が腫瘍先進部にて減少し、腫瘍細胞が腫瘍本体より離脱・

表 3. Relationship between MK-1 expression and histologic grade in main tumor with advanced colorectal adenocarcinoma

Histologic grade	Total (n)	MK-1 expression of main tumor (%)		P value
		Positive	Negative	
G1 (Well differentiated)	86	50 (58.1)	36 (41.9)	
G2 (Moderately differentiated)	61	28 (45.9)	33 (54.1)	
G3 (Poorly differentiated)	5	2 (40.0)	3 (60.0)	
G1 + G2	147	78 (53.1)	69 (46.9)	0.668*
G3	5	2 (40.0)	3 (60.0)	
Total	152	80 (52.6)	72 (47.4)	

*Fisher exact test.

表 4. Relationship between MK-1 expression and histologic grade in invasive front of advanced colorectal adenocarcinoma

Histologic type in invasive front	Total (n)	MK-1 expression of invasive front (%)		P value
		Positive	Negative	
G1 (Well differentiated)	50	25 (50.0)	25 (50.0)	
G2 (Moderately differentiated)	77	31 (40.3)	46 (59.7)	
G3 (Poorly differentiated)	20	3 (15.0)	17 (85.0)	
Other (Mucinous)	5	1 (20.0)	4 (80.0)	
G1 + G2	127	56 (44.1)	71 (55.9)	0.014*
G3	20	3 (15.0)	17 (85.0)	
Total	152	60 (39.5)	92 (60.5)	

*Fisher exact test.

離散する現象に関わっている可能性があることを示し、MK-1 が分化度の低下と関連がある因子の一つであると考えられる。

これまで、大腸癌における GA733 ファミリーの発現の検討は多数報告されている⁸⁻¹²⁾が、腫瘍全体もしくは主腫瘍での発現を検討していた報告がほとんどで、病理学的諸因子との関連を示したものはごくわずかであっ

た。しかし、今回の我々の報告のごとく腫瘍先進部を評価することで、病理組織学的所見にて低分化型と診断される割合が増加し、分化度の違いによる評価をより明確に示すことできた。このことも、腫瘍先進部で有意な結果が得られたひとつの要因であると考えられる。

さらに今回の研究では、主腫瘍における N1+N2 群での MK-1 発現の低下、先進部における N1+N2 群および

表 5. Relationship between MK-1 expression in main tumor and TNM staging system in advanced colorectal adenocarcinoma

	Total (n)	MK-1 expression of main tumor (%)		P value
		Positive	Negative	
Total	152	80 (52.6)	72 (47.4)	
Primary tumor				
T2	29	13 (44.8)	16 (55.2)	0.166*
T3	84	50 (59.5)	34 (40.5)	
T4	39	17 (43.6)	22 (56.4)	
Regional lymph nodes				
N0	80	50 (62.5)	30 (37.5)	0.010*
N1 + N2	72	30 (41.7)	42 (58.3)	
Distant metastasis				
M0	123	67 (54.5)	56 (45.5)	0.349*
M1	29	13 (44.8)	16 (55.2)	
Stage				
I + II	74	46 (62.2)	28 (37.8)	0.022*
III + IV	78	34 (43.6)	44 (56.4)	

* χ^2 test.

表 6. Relationship between MK-1 expression in invasive front and TNM staging system in advanced colorectal adenocarcinoma

	Total (n)	MK-1 expression of invasive front (%)		P value
		Positive	Negative	
Total	152	60 (39.5)	92 (60.5)	
Primary tumor				
T2	29	11 (37.9)	18 (62.1)	0.088*
T3	84	39 (46.4)	45 (53.6)	
T4	39	10 (25.6)	29 (74.4)	
Regional lymph nodes				
N0	80	42 (52.5)	38 (47.5)	0.0005*
N1 + N2	72	18 (25.0)	54 (75.0)	
Distant metastasis				
M0	123	55 (44.7)	68 (55.3)	0.006**
M1	29	5 (17.2)	24 (82.8)	
Stage				
I + II	74	40 (54.1)	34 (45.9)	0.0003*
III + IV	78	20 (25.6)	58 (74.4)	

* χ^2 test, **Fisher exact test.

M1 群での MK-1 の発現の低下を示した。これも、先進部での MK-1 発現の低下は、細胞間接着能の低下による転移の促進を示めしていると考えられ、MK-1 が細胞間接着能として転移に関与していることを示唆した。GA733 ファミリーの他の抗原でも、Gosens ら²⁷⁾ は、同様に直腸癌の腫瘍先進部における Ep-CAM 発現の検討を行い、発現低下が、簇出、分化度と相関することを報告している。しかし、リンパ節および遠隔転移のとの相関はなく、TNM stage も相関がみられていない。Ep-CAM より MK-1 が細胞間接着能の特徴をより強く示している可能性もある。

今回、腫瘍先進部の因子として重要である簇出についても検討を行った。Hase ら²²⁾ は、進行大腸癌において中等度以上の簇出が、リンパ節転移陰性群では 11.5% であるのに対しリンパ節転移陽性群では 49.4% にみられ、簇出がリンパ節転移に強い相関を示していること、中等度以上の簇出が生存率を低下させることを報告している。本研究でも、中等度以上の簇出を認める例が有意に高率なリンパ節転移を示すことを確認したが、MK-1 発現との間に有意差はみられなかった。今後、症例数を増やし、簇出の程度と MK-1 の関連については検討を続けていく予定である。

患者予後に関する検討では、先進部での MK-1 発現だけが有意差を認め、MK-1 陰性群が陽性群に比べ有意に予後不良であった。主腫瘍の MK-1 発現では患者の予後に差異はみられなかった。このことから、先進部の MK-1 発現が予後の判定に有用であること示唆された。

大腸癌では、簇出や分化度が低下した先進部をもつ大腸癌は予後不良を示すということがあげられる。長谷ら²⁸⁾ は、先進部の組織型が低分化である症例は、高・中分化の症例に比べリンパ節転移陽性が有意に高率であり、予後が不良であったと報告している。Gosens ら²⁷⁾ は、大腸癌 109 例における先進部の Ep-CAM 発現陰性群が陽性群と比較して有意に予後不良であったと報告した。今回、我々の研究における進行大腸癌では、先進部の MK-1 高発現が細胞間接着能が強いことを示し、転移を抑えていることが、予後に影響をおよぼしているものと推測した。

GA733 ファミリーの発現により生存率を検討した報告は多数みられるが^{6) 10) 13) 16)}、発現と予後の関係が、癌の種類によって異なる原因については不明である。GA733 ファミリーの接着因子機能だけでは説明が困難で、他の増殖・接着因子、腫瘍の原発臓器および組織型も関与していると推測される。今後各臓器での癌組織における検討が必要である。

MK-1 は、マウス / ヒト・キメラ抗体が作製されており²⁹⁾、ヒト MK-1 産生坦がん SCID マウスにおける抗腫瘍効果をみた結果、本抗体と LAK 細胞との組み合わせ

により腫瘍重量の増加が抑えられ、著明な抗腫瘍効果が確認されている³⁰⁾。また、大腸癌患者 189 例に術後補助療法として Ep-CAM (17-1A) に対する抗体を使用した免疫療法が臨床応用され、手術単独群と比較して有意な遠隔転移の抑制 (投与群 52%, 対照群 68%) と死亡率の低下 (投与群 43%, 対照群 63%) が報告されている³¹⁾。今後、大腸癌における MK-1 発現を検討していくことは、本抗体を用いた抗体療法への応用につながると期待される。

結 語

進行大腸癌 152 例を対象として、MK-1 の発現と臨床病理学的因子、TNM 因子と予後の関係を検討した。進行大腸腺癌における MK-1 の発現は、分化度、転移および予後に関与し、癌の生物学的悪性度に関係する因子のひとつであることが示唆された。特に、先進部での MK-1 発現を検討することが、予後との関連において重要であると考えられた。

文 献

- 1) Watanabe R, Johzaki H, Iwasaki H, Kikuchi M, Ikeda S : A new tumor associated antigen defined by monoclonal antibody directed to gastric adenocarcinoma. *Cancer* 71: 2439-47, 1993.
- 2) 荒川文子, 上野あると, 松本久伸, 阿部裕典, 内田博子, 黒木政秀 : 新しい腫瘍関連抗原 MK-1 の基礎と臨床. *最新医学* 56: 1684-1692, 2001.
- 3) Litvinov SV, Velders MP, Bakker HA, Fleuren GJ, Warnaar SO : Ep-CAM: a human epithelial antigen is a homophilic cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 125: 437-46, 1994.
- 4) Balzar M, Winter MJ, de Boer CJ, Litvinov SV : The biology of the 17-1A antigen (Ep-CAM). *J Mol Med* 77: 699-712, 1999.
- 5) Martin IG, Cutts SG, Birbeck K, Gray S, Quirke P : Expression of the 17-1A antigen in gastric and gastro-oesophageal junction adenocarcinomas: a potential immunotherapeutic target? *J Clin Pathol* 52: 701-4, 1999.
- 6) Songun I, Litvinov SV, van de Velde CJ, Pals ST, Hermans J, van Krieken JH : Loss of Ep-CAM (CO17-1A) expression predicts survival in patients with gastric cancer. *Br J Cancer* 92: 1767-72, 2005.
- 7) Joo M, Kim H, Kim MK, Yu HJ, Kim JP : Expression of Ep-CAM in intestinal metaplasia, gastric epithelial dysplasia and gastric adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 20: 1039-45, 2005.
- 8) Went P, Vasei M, Bubendorf L, Terracciano L, Tornillo L, Riede U, Kononen J, Simon R, Sauter G, Baeuerle PA : Frequent high-level expression of the immunotherapeutic target Ep-CAM in colon, stomach, prostate and lung cancers. *Br J Cancer* 94: 128-35, 2006.
- 9) Momburg F, Moldenhauer G, Hammerling GJ, Moller, P :

- Immunohistochemical study of the expression of a Mr 34,000 human epithelium-specific surface glycoprotein in normal and malignant tissues. *Cancer Res* 47: 2883-91, 1987.
- 10) Ogura E, Senzaki H, Yoshizawa K, Hioki K, Tsubura A : Immunohistochemical localization of epithelial glycoprotein EGP-2 and carcinoembryonic antigen in normal colonic mucosa and colorectal tumors. *Anticancer Res* 18: 3669-75, 1998.
 - 11) Packeisen J, Kaup-Franzen C, Knieriem HJ : Detection of surface antigen 17-1A in breast and colorectal cancer. *Hybridoma* 18: 37-40, 1999.
 - 12) Went PT, Lugli A, Meier S, Bundi M, Mirlacher M, Sauter G, Dirnhofer S : Frequent EpCam protein expression in human carcinomas. *Hum Pathol* 35: 122-8, 2004.
 - 13) Varga M, Obrist P, Schneeberger S, Muhlmann G, Felgel-Farnholz C, Fong D, Zitt M, Brunhuber T, Schafer G, Gastl G, et al : Overexpression of epithelial cell adhesion molecule antigen in gallbladder carcinoma is an independent marker for poor survival. *Clin Cancer Res* 10: 3131-6, 2004.
 - 14) Hosch SB, Scheunemann P, Luth M, Inndorf S, Stoecklein NH, Erbersdobler A, Rehders A, Gundlach M, Knoefel WT, Izbicki JR : Expression of 17-1A antigen and complement resistance factors CD55 and CD59 on liver metastasis in colorectal cancer. *J Gastrointest Surg* 5: 673-9, 2001.
 - 15) Gastl G, Spizzo G, Obrist P, Dunser M, Mikuz G : Ep-CAM overexpression in breast cancer as a predictor of survival. *Lancet* 356: 1981-2, 2000.
 - 16) Spizzo G, Went P, Dirnhofer S, Obrist P, Simon R, Spichtin H, Maurer R, Metzger U, von Castelberg B, Bart R, et al : High Ep-CAM expression is associated with poor prognosis in node-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 86: 207-13, 2004.
 - 17) Spizzo G, Went P, Dirnhofer S, Obrist P, Moch H, Baeuerle PA, Mueller-Holzner E, Marth C, Gastl G, Zeimet AG : Overexpression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) is an independent prognostic marker for reduced survival of patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 103: 483-8, 2006.
 - 18) Hamada Y, Nakayama Y, Mizoguchi M, Ikeda S, Kuroki M, Iwasaki H : MK-1 expression in carcinoma of the ampulla of Vater as a predictor of improved prognosis after surgical resection. *Cancer Lett* 243: 211-6, 2006.
 - 19) Ikeda T, Nakayama Y, Hamada Y, Takeshita M, Iwasaki H, Maeshiro K, Yamashita Y, Kuroki M, Ikeda S : FU-MK-1 Expression in Human Gallbladder Carcinoma, An Antigenic Prediction Marker for a Better Postsurgical Prognosis. *Am J Clin Pathol* 132: 111-117, 2009.
 - 20) Hamilton SR, Rubio CA, B Vogelstein, Sobin LH, Kubo S, Fogt F, Riboli E, Winawer SJ, Nakamura S, Goldgar DE, et al : Tumours of the colon and rectum. In : Hamilton SR, Aaltonen LA (ed), World Health Organization Classification of Tumor. Pathology and Genetics of tumors of the Digestive System, pp. 103-43, International Agency for Research on Cancer (Lyon), 2000.
 - 21) 大腸癌研究会(編) : 大腸癌取扱い規約 第6版, 金原出版(東京), 1998.
 - 22) Hase K, Shatney C, Johnson D, Trollope M, Vierra M : Prognostic value of tumor "budding" in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 36: 627-35, 1993.
 - 23) Sobin LH, Wittekind C : TNM Classification of Malignant Tumors 6th ed. Wiley-Liss, Inc, 2002.
 - 24) 長谷和生 : 直腸癌先進部の biological attitude を示す組織学的所見の予後規定因子としての意義に関する研究. *日外会誌* 94 : 1022-32, 1993.
 - 25) 清水元治 : がんの浸潤・転移と細胞接着. 概説. 蛋白質・核酸・酵素 42 : 1664-1668, 1997
 - 26) 古巢央, 磯本一, 大仁田賢, 小田英俊, 嶋田定嘉, 原口増穂, 岩崎啓介, 鶴田英夫, 山尾拓史, 山川正規・他 : 大腸 sm 癌の臨床病理学的検討. *消化器の臨床* 7 : 199-205, 2004.
 - 27) Gosens MJ, van Kempen LC, van de Velde CJ, van Krieken JH, Nagtegaal ID: Loss of membranous Ep-CAM in budding colorectal carcinoma cells. *Modern Pathology* 20: 221-232, 2007.
 - 28) 長谷和生, 望月英隆, 吉村一克, 岩本一亜, 倉永憲二, 上野秀樹, 宇都宮勝之, 渡邊千之 : 直腸癌先進部組織型の臨床的意義に関する検討. *日本大腸肛門病学会雑誌* 50 : 71-9, 1997.
 - 29) Arakawa F, Yamamoto T, Kanda H, Watanabe T, Kuroki M : cDNA sequence analysis of monoclonal antibody FU-MK-1 specific for a transmembrane carcinoma-associated antigen, and construction of a mouse/human chimeric antibody. *Hybridoma* 18: 131-8, 1999.
 - 30) Yamamoto T, Arakawa F, Nakamura K, Senba T, Tomita Y, Ikeda S, Kuroki M : Enhanced antitumor activity of a combination treatment with a mouse/human chimeric anti-MK-1 antibody and lymphokine-activated killer cells in vitro and in a severe combined immunodeficient mouse xenograft model. *Cancer Immunol Immunother* 48: 165-71, 1999.
 - 31) Riethmuller G, Holz E, Schlimok G, Schmiegel W, Raab R, Hoffken K, Gruber R, Funke I, Pichlmaier H, Hirche H, et al : Monoclonal antibody therapy for resected Dukes' C colorectal cancer: seven-year outcome of a multicenter randomized trial. *J Clin Oncol* 16: 1788-94, 1998.
- (平成 24. 1. 10 受付, 平成 24. 3. 8 受理)

