

Clinicopathological and immunohistochemical studies of lymph node metastasis in submucosal gastric carcinoma

Tatsuhiko OISHI¹⁾, Akinori IWASHITA²⁾, Tsuneyoshi YAO¹⁾,
Sumitaka ARIMA³⁾, Toshiyuki MATSUI¹⁾ and Tadahiko FUCHIGAMI⁴⁾

¹⁾ *Department of Gastroenterology, Chikushi Hospital, Fukuoka University*

²⁾ *Department of Pathology, Chikushi Hospital, Fukuoka University*

³⁾ *Department of Surgery, Chikushi Hospital, Fukuoka University*

⁴⁾ *Institute of Gastroenterology, Matsuyama Red Cross Hospital*

Abstract : We investigated both the clinicopathological and immunohistochemical findings regarding the risk factors of lymph node invasion in patients with gastric carcinomas, which invaded the submucosa (SM). In total, 213 cases of gastric carcinoma, 92 cases of positive lymph node metastasis and 121 cases of negative lymph node metastasis were selected as the materials for our study. One hundred and twenty-seven (127) of these cases were well differentiated adenocarcinomas (WDA). Any cases with multiple lesions were excluded from this study. In an analysis of the clinicopathological findings, several factors were found to be significant based on observations of positive and negative lymph node metastasis in cases with SM and WDA. These factors included the site of the lesion, the diameter, the depth of invasion, and both the degrees of lymphatic and blood vessel permeation. In addition, tumor cell sprouting was found to be a risk factor in the cases with WDA. In an analysis of the immunohistochemical findings, several factors were found to be significant based on observations of cases with positive and negative lymph node metastasis. These factors included the positive CD44 and Ki-67 labeling index (LI) in the SM group, and positive findings for CD44, MUC1, human gastric mucin (HGM) and Ki-67LI in the WDA group. Based on the findings of a multivariate analysis, only lymphatic permeation was shown to be an independent factor for the risk of lymph node invasion in cases with SM. On the other hand, lymphatic permeation and positive findings for CD44 were found to be significant factors in cases with WDA. We thus concluded that the presence of lymphatic permeation and a positive finding for CD44 may therefore be a predictive factor for lymph node metastasis.

Key words : Submucosal gastric cancer, Lymph node metastasis, Immunohistochemical study

胃 sm 癌のリンパ節転移予測因子に関する臨床病理学的・ 免疫組織化学的研究

尾石 樹泰¹⁾ 岩下 明德²⁾ 八尾 恒良¹⁾
有馬 純孝³⁾ 松井 敏幸¹⁾ 淵上 忠彦⁴⁾

¹⁾ 福岡大学筑紫病院消化器科

²⁾ 同病院病理部

³⁾ 同病院外科

⁴⁾ 松山赤十字病院消化器科

要旨：胃粘膜下層癌のリンパ節転移に関する因子として臨床病理学的事項と免疫組織化学的所見を検索した。対象は多発癌を除いたリンパ節転移陽性例92例と陰性例121例の計213例（そのうち高分化型腺癌はリンパ節転移陽性例50例、陰性例77例の計127例）であった。全 sm 癌と高分化型腺癌に限った症例を対象として、リンパ節転移陽性群と陰性群で同様に比較検討したところ、臨床病理学的事項では共に占居部位、最大径、深達度、垂直方向 sm 浸潤、リンパ管侵襲、静脈侵襲でリンパ節転移陰性群と陽性群の間で有意差がみられた。それらに加え、高分化型腺癌においては簇出（癌の発育先進部における癌細胞の遊離）にも両群間での有意差があった。免疫組織化学的検討成績は全 sm 癌では CD44 と Ki-67LI が、高分化型腺癌については CD44, MUC1, HGM および Ki-67LI にリンパ節転移陽性群に対して有意差がみられた。多変量解析の結果、全 sm 癌のリンパ節転移に関与する因子はリンパ管侵襲のみであったが、高分化型腺癌を対象にするとリンパ管侵襲と CD44 の 2 因子であった。高分化型腺癌におけるリンパ管侵襲および CD44 の検索は、リンパ節転移を予測しうる可能性があることが示唆された。

索引用語：胃 sm 癌、リンパ節転移、免疫染色

はじめに

近年、胃癌診断の進歩とともに、より早期の癌発見の頻度が増えており¹⁾、開腹せずに胃粘膜内癌（以下、胃 m 癌）を根治できる内視鏡的胃粘膜切除術²⁾⁻⁴⁾ や腹腔鏡下胃局所切除術⁵⁾ が盛んに行われるようになった。しかし両者に共通することは、リンパ節郭清が行えないことで、その術式の適応はリンパ節転移がないことが条件となってくる。そこで、近年各施設それぞれの過去の手術材料をもとに適応基準を設定しているが、粘膜内癌と比べてリンパ節転移率の高い粘膜下層癌（以下、sm 癌）であることが病変の内視鏡的切除後の病理組織学的検索で判明した場合にリンパ節郭清の必要性がでてくる。そこで今回リンパ節転移に関連する因子を明らかにする目的で、外科的に切除された胃 sm 癌をリンパ節転移陰性のもとの陽性のものに大別し、臨床病理学的要因に加えて免疫組織化学的にもリンパ節転移予測因子について検討した。

対象と方法

I. 対象

福岡大学筑紫病院で1987年8月から1997年12月までに胃切除術、リンパ節郭清術が施行され、病理組織学的検索で胃粘膜下層癌（以後 sm 癌）と診断されたものに、1983年5月から1997年12月の期間に松山赤十字病院で胃切除術、リンパ節郭清術が行われたリンパ節転移陽性 sm 癌を加えた計243例のうち、多発癌を除いたリンパ節転移陽性胃 sm 癌92例とリンパ節転移陰性例121例の計213例を対象とした。なお最終診断はすべて同一病理医により行われている。

II. 方法

(1) 代表切片の選択

切除標本は10~20%ホルマリン溶液固定後、全例腫瘍全体を約 3~5 mm 幅の厚さで階段状に切り出した。各組織片はパラフィン包埋後、5~6 μm の厚さに薄切し、H・E (hematoxylin-eosin) 染色を施した。郭清したリンパ節は同様に固定後、すべて hilus を含む長軸方向の最大断面1枚を切り出し、同様の包埋・薄切・染色後、検鏡に供した。また、病変部H・E染色標本のうち、sm 浸潤の最も深い標本を代表切片として選択し、そのブロックを 4 μm 厚さに薄切し、数枚の連続切片を作製し免疫組織化学的染色に供した。

(2) 免疫組織化学的染色法

LSAB (labelled streptavidin biotin) 法により接着因子CD44 (DF1485, DAKO社)、糖鎖抗原 MUC 1 (DF3, TFB社)、腸型粘液の指標である MUC 2 (Cc-p58, NOVOCastra 社)、胃型粘液の指標である human gastric mucin (HGM) (45M1, NOVOCastra 社) の 4 種類の免疫染色をおこなった。

MUC 1 は10倍希釈で 4 °C 下に一昼夜、CD44 は40倍希釈、HGM は50倍希釈、MUC 2 は100倍希釈で、それぞれ室温下に60分間反応させた。二次抗体には biotinylated anti-mouse IgG (Vector Laboratories, Inc., CA, USA) を室温で40分間、さらに alkaline phosphatase streptavidin (Vector Laboratories, Inc., CA, USA) を室温で40分間反応させた。その後、基質として naphthol AS-BI phosphate を用い、new fuchsin で発色した。さらに EnVision 法により以下の 3 種類の免疫染色を行った。癌抑制遺伝子産物 p53モノクローナル抗体 (DO-7, NOVOCastra 社)、増殖因子受容体蛋白抗 c-erbB-2 ポリクローナル抗体 (Code : 310041, ニチレイ社)、細胞増殖能の指標となる抗 Ki-67モノクローナル抗体 (MIB1, Immunotech S. A社) の各一次抗体を使用した。組織切片はキシレン、エタノール系列で脱パラフィンし、TBS 中に浸透させた後、5%正常ヤギ血清で5分間非特異反応のブロッキングを行った。c-erbB-2 は100倍希釈で 4 °C 下に一昼夜、p53

と Ki-67 は100倍希釈で、それぞれ室温下に60分間反応させた。その後、上記の一次抗体と反応させた。2次抗体には EnVision (Labelled Polymer, Alkaline Phosphatase, DAKO 社) を室温で40分間反応させた。その後、基質として naphthol AS-BI phosphate を用い、new fuchsin で発色した。

核染にはカラッチ・ヘマトキシリンを用い、脱水後、透徹、封入した。各反応の間には TBS を用いて5分間3回の洗浄を行なった。また、抗原性賦活化のため、非特異反応ブロッキングの前に MUC1, p53 と Ki-67 染色に対してはマイクロウェーブ照射による加熱処理 (0.01%クエン酸緩衝液, pH 6.0, 100°C, 30分間) を行なった。

(3) 染色性の判定

CD44 (図1) と MUC1 は癌細胞全体の50%以上が染まるものを陽性、50%未満を陰性と判定した。MUC2 と HGM は慣例に従って癌全体の5%以上を陽性、5%未満を陰性と判定した。p53 陽性細胞の出現状況は、高度びまん性、中等度局所性を陽性、軽度散在性と全く染まらないものは陰性と判定した。

c-erbB-2 は少しでも染色されるものを陽性とした。Ki-67 は腫瘍内で最も強く染色される部位で500個以上の腫瘍細胞核当たりの陽性核を数え、百分率に換算し labelling index (以下、Ki-67LI) として表現した。

なお、染色性が悪く判定に適さないものは除外して検討した。

(4) 臨床病理学的検索方法

1. 腫瘍最大径

切出し時に標本に割を入れて撮影した切除標本の粘膜面のカラーコピー上に、病理組織学的所見を記入して再構築し、病変の最大径を計測した (一部は白黒コピーを使用)。

2. 垂直方向の sm 浸潤程度・胃壁深達度

全割された病変部のうち、病理組織学的に粘膜筋板から最も深い浸潤部位を固有筋層に垂直に計測した。同時に同部の粘膜下層の厚さを計測し、正確に3等分して粘膜下層浸潤が1/3以内にとどまるものを sm1, 1/3~2/3 のものを sm2, 2/3 以上のものを sm3 とした。消化性潰瘍のため計測不可能な7例は除外した。

3. 潰瘍

病巣中に合併した消化性潰瘍については、村上の分類⁶⁾に従った。

4. 肉眼分類は I, IIa, IIa+IIc を隆起型, IIc+IIa, IIc, IIc+III, III を陥凹型として2群に大別した。

5. 組織型は高分化型腺癌, 中分化型腺癌, 乳頭腺癌を分化型に、低分化腺癌, 印環細胞癌, 粘液癌を未分化型として2群に大別した。

6. 占居部位, リンパ管侵襲・静脈侵襲に関しては、胃癌取扱い規約 (第13版)⁷⁾に従った。

7. 簇出は今井⁸⁾の定義に従い、癌の発育先進部において癌細胞2~3個の幅に該当する細胞が索状を呈するか、あるいは個々遊離細胞状に発育する像を簇出像とし、高分化型腺癌のみを対象に検討した。

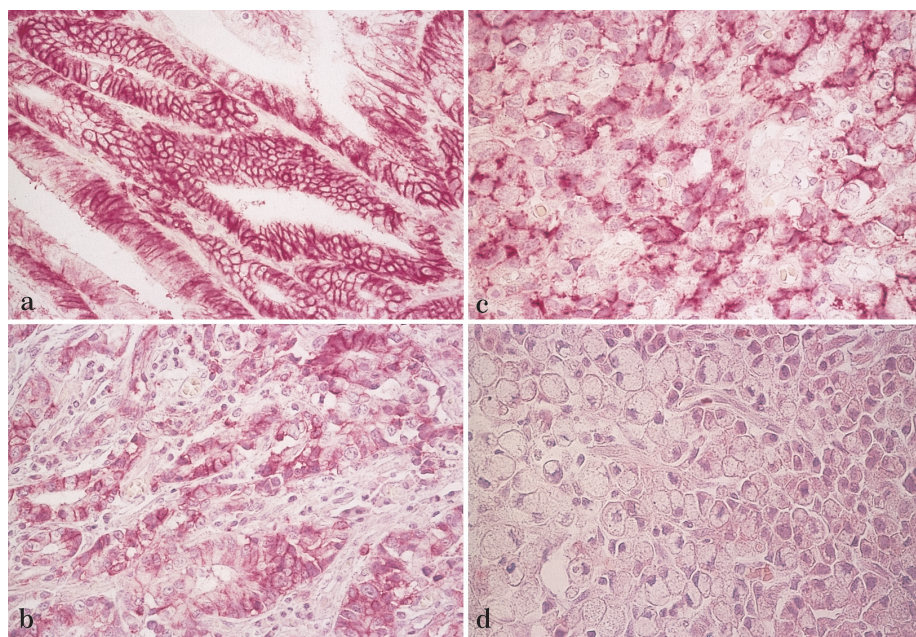


図1 CD44の組織型別発現状況
 a 高分化型腺癌 (×90) b 低分化型腺癌 (×150)
 c 中分化型腺癌 (×100) d 印環細胞癌 (×140)

(5) 検討項目

1. リンパ節転移陽性群とリンパ節転移陰性群に大別した臨床病理学的事項.
2. 免疫組織化学的染色法を用いたリンパ節転移陽性群とリンパ節転移陰性群における発現率の検討.
3. 高分化型腺癌における上記2項目の検討.

(6) 統計学的解析方法

単変量解析は、 χ^2 検定およびt検定を用い、多変量解析には、ロジスティック回帰分析 (stepwise 法) を用いた。統計的有意水準は危険率5%以下を有意差ありと判定した。

結 果

I. 全 sm 癌

(1) 臨床病理学的背景因子 (表1)

リンパ節転移陰性群では陽性群に比しU (上部), M (中部) 領域の癌が有意に多く見られた ($p=0.009$).

病変の最大径 (mm \pm SD) は、リンパ節転移陰性群33.4 \pm 20.4に対し、リンパ節転移陽性群46.1 \pm 31.1と後者に有意に高値であった ($p=0.001$).

垂直方向 sm 浸潤 (μ m \pm SD) は、リンパ節転移陰性群の1360 \pm 1040, リンパ節転移陽性群2320 \pm 1750と転移群で有意に高値を示した ($p=0.001$).

深達度別ではリンパ節転移陽性群に sm 2, 3の癌が有意に高率にみられた ($p=0.015$).

リンパ管侵襲陽性率はリンパ節転移陰性群で30.6%で陽性群の91.3%は有意に高かった ($p=0.001$).

静脈侵襲陽性率はリンパ節転移陰性群で25.6%, 陽性群で47.8%と後者で有意に高値であった ($p=0.001$).

年齢, 肉眼型, 組織型, 消化性潰瘍の有無別には有意差はなかった.

(2) 免疫組織化学的染色 (表2)

CD44陽性率はリンパ節転移陰性群40.5%に対し、陽性群56.5%と後者で有意に高率であった ($p=0.031$). Ki-67LI は、リンパ節転移陰性群19.4 \pm 14.0に対し、リンパ節転移陽性群25.1 \pm 13.5と後者で有意に高値を示した ($p=0.002$).

MUC1, HGM, MUC2, p53, c-erbB-2 は、それぞれ陰性群が46.3%, 48.8%, 55.4%, 48.8%, 31.4%であり、陽性群57.6%, 54.3%, 44.6%, 50.0%, 33.7%と有意差はなかった.

以上, 全 sm 癌の検索では、臨床病理学的背景因子は占居部位, 最大径, 垂直方向 sm 浸潤, 深達度, リンパ管侵襲, 静脈侵襲の6項目に有意差を認め、免疫組織化学的染色では、CD44 と Ki-67 の2項目に有意差があった.

表1 臨床病理学的背景因子 —全 sm 癌—

		リンパ節転移陽性群 [n=92]	リンパ節転移陰性群 [n=121]	P値
性	Male	54 (58.7)	89 (73.6)	$p=0.022$
	Female	38 (41.3)	32 (26.4)	
年齢		61.4 \pm 12.3	62.7 \pm 12.0	$p=0.447$
占居部位	U,M	46 (50.0)	82 (67.8)	$p=0.009$
	L	46 (50.0)	39 (32.2)	
最大径 (mm \pm SD)		46.1 \pm 31.1	33.4 \pm 20.4	$p=0.001$
肉眼型	隆起型	26 (28.3)	24 (19.8)	$p=0.151$
	陥凹型	66 (71.7)	97 (80.2)	
組織型	分化型	60 (65.2)	92 (76.0)	$p=0.084$
	未分化型	32 (34.8)	29 (24.0)	
深達度	sm 1	8 (8.7)	24 (19.8)	$p=0.015$
	sm 2,3	84 (91.3)	90 (74.4)	
垂直方向 sm 浸潤 (μ m \pm SD)		2320 \pm 1750	1360 \pm 1040	$p=0.001$
リンパ管侵襲	ly (-)	8 (8.7)	84 (69.4)	$p=0.001$
	ly (+)	84 (91.3)	37 (30.6)	
静脈侵襲	v (-)	48 (52.2)	90 (74.4)	$p=0.001$
	v (+)	44 (47.8)	31 (25.6)	
消化性潰瘍	ul (-)	53 (57.6)	61 (50.4)	$p=0.297$
	ul (+)	39 (42.4)	60 (49.6)	

() : %

II. 高分化型腺癌

(1) 臨床病理学的背景因子 (表3)

占居部位別では、リンパ節転移陽性群にL(下部)領域の癌が多く、陰性群との間に有意差を認めた ($p=0.009$).

病変の最大径 (mm) は、リンパ節転移陰性群30.4±18.9に対し、リンパ節転移陽性群43.4±25.2と後者に有

意に高値であった ($p=0.001$).

垂直方向sm浸潤 (μm) は、リンパ節転移陰性群の1200±1030、リンパ節転移陽性群2600±1940と転移群で有意に高値を示した ($p=0.001$).

深達度別ではリンパ節転移陽性群に深達度の深いsm 2, 3が高頻度にみられた ($p=0.017$).

リンパ管侵襲陽性率は、リンパ節転移陰性群の27.0%

表2 免疫組織化学染色 —全 sm 癌—

		リンパ節転移陽性群 [n=92]	リンパ節転移陰性群 [n=121]	p値
CD44	(-)	36 (39.1)	63 (52.1)	$p=0.031$
	(+)	52 (56.5)	49 (40.5)	
MUC1	(-)	34 (37.0)	55 (45.5)	$p=0.142$
	(+)	53 (57.6)	56 (46.3)	
HGM	(-)	38 (41.3)	59 (48.8)	$p=0.332$
	(+)	50 (54.3)	59 (48.8)	
MUC2	(-)	46 (50.0)	51 (42.1)	$p=0.171$
	(+)	41 (44.6)	67 (55.4)	
p53	(-)	42 (45.7)	61 (50.4)	$p=0.658$
	(+)	46 (50.0)	59 (48.8)	
c-erbB-2	(-)	53 (57.6)	77 (63.6)	$p=0.572$
	(+)	31 (33.7)	38 (31.4)	
Ki-67LI		25.1±13.5	19.4±14.0	$p=0.007$

() : %

表3 臨床病理学的背景因子 —高分化型腺癌—

		リンパ節転移陽性群 [n=50]	リンパ節転移陰性群 [n=77]	p値
性	Male	33 (67.3)	62 (83.8)	$p=0.033$
	Female	16 (32.7)	12 (16.2)	
年齢		65.6±9.0	65.2±10.4	$p=0.825$
占居部位	U,M	20 (40.8)	48 (64.9)	$p=0.009$
	L	29 (59.2)	26 (35.1)	
最大径 (mm±SD)		43.4±25.2	30.4±18.9	$p=0.001$
肉眼型	隆起型	19 (38.8)	21 (28.4)	$p=0.228$
	陥凹型	30 (61.2)	53 (71.6)	
深達度	m1	4 (8.2)	18 (24.3)	$p=0.017$
	sm 2,3	45 (91.8)	53 (70.1)	
垂直方向 sm 浸潤 ($\mu\text{m}\pm\text{SD}$)		2600±1940	1200±1030	$p=0.001$
リンパ管侵襲	ly (-)	2 (4.1)	54 (73.0)	$p=0.001$
	ly (+)	47 (95.9)	20 (27.0)	
静脈侵襲	v (-)	17 (34.7)	50 (67.6)	$p=0.001$
	v (+)	32 (65.3)	24 (32.4)	
消化性潰瘍	ul (-)	34 (69.4)	42 (56.8)	$p=0.158$
	ul (+)	15 (30.6)	32 (43.2)	
簇出	(-)	37 (75.5)	69 (93.2)	$p=0.005$
	(+)	12 (24.5)	5 (6.8)	

() : %

に対し、陽性群では95.9%と有意に高値であった ($p=0.001$)。

静脈侵襲は、リンパ節転移陰性群で32.4%、陽性群で65.3%と後者で有意に高値であった ($p=0.001$)。

簇出は、リンパ節転移陰性群で6.8%、陽性群では24.5%と後者で有意に高率に検出された ($p=0.005$)。

年齢、肉眼型、組織型、消化性潰瘍の有無別には有意差はなかった。

(2) 免疫組織化学的染色 (表4)

CD44陽性例は、リンパ節転移陰性群29.7%に対し、陽性群65.3%と後者で有意に高率であった ($p=0.001$)。

MUC1陽性率は、転移陰性群で54.1%、陽性群で75.5%と後者に有意に高率であった ($p=0.016$)。

HGMも、リンパ節転移陰性群で27.0%、陽性群44.9%と後者で有意に高率であった ($p=0.020$)。

Ki-67LIは、リンパ節転移陰性群の 20.3 ± 13.4 に対し、リンパ節転移陽性群では 26.2 ± 12.5 と有意に高値であった ($p=0.020$)。

MUC2, p53, c-erbB-2の陽性率は、リンパ節転移陰性群においてそれぞれ64.9%、52.7%、36.5%であり、陽性群ではそれぞれ53.1%、65.3%、40.8%と有意差は見られなかった。

以上、高分化型腺癌に限定すると、臨床病理学的背景因子は全sm癌と同様の占居部位、最大径、垂直方向sm浸潤、深達度、リンパ管侵襲、静脈侵襲に加えて簇出の計7項目に有意差を認めた。免疫組織化学的染色ではCD44とKi-67に加え、新たにMUC1とHGMがリンパ節転移と関連し、計4項目に有意差があった。

Ⅲ. 多変量解析

単変量解析でリンパ節転移に影響があると思われる9因子 ($p=0.100$ 以下)について多変量解析を行った。全sm癌におけるリンパ節転移に関する有意な因子は、リンパ管侵襲のみであった (表5)。

高分化型腺癌においてリンパ節転移に関連するものは、リンパ管侵襲とCD44の2因子であった (表6)。

表4 免疫組織化学染色 —高分化型腺癌—

		リンパ節転移陽性群 [n=50]	リンパ節転移陰性群 [n=77]	p値
CD44	(-)	15 (30.6)	46 (62.2)	$p=0.001$
	(+)	32 (65.3)	22 (29.7)	
MUC1	(-)	9 (18.4)	28 (37.8)	$p=0.016$
	(+)	37 (75.5)	40 (54.1)	
HGM	(-)	23 (46.9)	52 (70.3)	$p=0.020$
	(+)	22 (44.9)	20 (27.0)	
MUC2	(-)	20 (40.8)	23 (31.1)	$p=0.225$
	(+)	26 (53.1)	48 (64.9)	
p53	(-)	15 (30.6)	34 (45.9)	$p=0.111$
	(+)	32 (65.3)	39 (52.7)	
c-erbB-2	(-)	25 (51.0)	43 (58.1)	$p=0.532$
	(+)	20 (40.8)	27 (36.5)	
Ki-67LI		26.2 ± 12.5	20.3 ± 13.4	$p=0.020$

() : %

表5 多変量解析によるリンパ節転移予測因子の検索 (ロジスティックモデルによる回帰分析)
—全sm癌—

因子	回帰係数	標準誤差	p値	オッズ比 (95%信頼区間)
リンパ管侵襲	3.3474	0.5094	$p=0.001$	28.4295 (10.475~77.156)

リンパ管侵襲の予測確率: 64.9%

表6 多変量解析によるリンパ節転移予測因子の検索 (ロジスティックモデルによる回帰分析)
—高分化型腺癌—

因子	回帰係数	標準誤差	p値	オッズ比 (95%信頼区間)
リンパ管侵襲	3.9148	0.8149	$p=0.001$	50.1408 (10.151~247.647)
CD44	1.8059	0.5767	$p=0.0017$	6.0854 (1.965~18.845)

リンパ管侵襲単独の予測確率: 70.1%
リンパ管侵襲+CD44の予測確率: 82.8%

考 察

近年、早期胃癌の治療法として、内視鏡の粘膜切除術²⁾⁻⁴⁾や腹腔鏡下胃局所切除術⁵⁾などの縮小術が盛んになってきているが、その術式の適応はリンパ節転移がないことが条件となってくる。そういう背景下に、手術標本を用いた臨床病理学的解析からリンパ節転移の可能性の低い sm 癌が明らかにされてきた⁹⁾⁻¹⁸⁾。

一方、近年遺伝子や分子生物的手法を用いたリンパ節転移の検討も行われ、最近では早期胃癌を対象とした報告も散見されるようになってきた¹⁹⁾⁻²⁴⁾。しかし、これらの報告に共通するのは早期癌であるが故にリンパ節転移陽性例が少ないことである。そこで今回、外科的に切除され、同一病理医が最終診断を行った比較的多数の胃 sm 癌をリンパ節転移陽性のものと陰性のものに大別し、陽性例の臨床病理学的並びに免疫組織学的特徴を明らかにしようと試みた。そして、内視鏡的胃粘膜切除術を含む縮小術の適応基準である高分化型腺癌に着目した検討も行った。

I. 臨床病理学的項目の検討

従来報告では胃 sm 癌のリンパ節転移危険因子として腫瘍径、深達度、脈管侵襲（特にリンパ管侵襲）などが挙げられるが⁹⁾¹⁰⁾、今回の著者の成績もこれらの報告に矛盾せず、sm 癌全体および高分化型腺癌共に同様の結果であった。

II. 免疫組織化学的染色法を用いた検討

CD44 はリンパ節内の高内皮静脈に流入するリンパ球に高発現することから接着因子として研究が始まり、その後の検索でヒアルロン酸、コラーゲンタイプ I、タイプ IV、フィブロネクチン、セルグリシンなどをリガンドとする接着分子として注目された²⁵⁾。これまでに17個の変異型 CD44 が報告されている²⁶⁾が、そのうち CD44v6 の高発現がリンパ節転移を引き起こすことが基礎実験から判明している²⁷⁾。しかし、免疫染色を用いた胃癌手術材料の検索では必ずしも CD44v6 がリンパ節転移と相関せず、他の変異型がリンパ節転移と関連するとの報告もある²⁰⁾²⁸⁾。そして標準型の CD44 を高発現した際にも細胞の転移能を獲得すると言われる²⁹⁾ことから、現時点でリンパ節転移と密接に関与する CD44 の変異型を特定することは困難と判断し、すべての変異型を認識する CD44 抗体を用いて検索を行った。

Mayer ら³⁰⁾は、進行胃癌61例を対象とした検討で、CD44 が遠隔転移および局所再発に関連していると述べている。Hong ら³¹⁾は早期癌21例を含む103例を用いて CD44 と CD44v6 を免疫染色し、組織型をintestinal

type と diffuse type に2分して検討したところ、diffuse type で CD44v6 の発現がリンパ節転移と相関し、intestinal type では CD44v6、CD44 共にリンパ節転移との相関はなかった。Müller ら²⁸⁾は、早期胃癌97例を含む418例を用いて、CD44v5、v6 を免疫染色し、リンパ節転移との相関を検討したが、v5、v6 共にリンパ節転移とは相関しなかったと報告している。

早期胃癌のみを対象としたものでは、北条¹⁹⁾らの、胃 sm 癌リンパ節転移12例（対照38例）を用いた CD44v6 発現の検討があり、手術材料でリンパ節転移との相関はなかったと報告している。松崎ら²⁰⁾は早期胃癌リンパ節転移21例（対照40例）を CD44v9 を用いて免疫染色し、リンパ節転移と関連があったと記載している。

今回、胃 sm 癌リンパ節転移92例（対照121例）に対して CD44 発現を検討したところ、全 sm 癌、高分化型腺癌共にリンパ節転移に関して有意差を認め、しかし、高分化型腺癌以外の組織型では有意差はなかったことから、CD44 抗体発現に組織特異性があることが考えられた。以上のごとく抗体の違い、判定法の違い、症例数の差はあるものの、CD44 は癌の転移・再発と関連があると考えられ、特に CD44 陽性高分化型 sm 癌はリンパ節転移の可能性を有することが示唆された。

MUC1 は膜貫通型の糖蛋白であり、MUC1 抗体はそのコア蛋白を認識する。Ligtenberg ら³²⁾の基礎実験の結果から転移の過程における腫瘍からの細胞分離と宿主免疫からの回避という重要な段階に影響をおよぼすと考えられた。Utsunomiya ら³³⁾は136例（早期胃癌22例、進行胃癌114例）を対象とした検討で、予後およびリンパ節転移との関連があったと記載している。一方、辻ら²¹⁾の粘膜内癌リンパ節転移23例（対照46例）を免疫染色した報告では、これとリンパ節転移とは関連がないという結果であった。今回の検討では、対象全体では MUC1 はリンパ節転移陽性群と陰性群間に有意差がなかったものの高分化型腺癌に限定すると両者間に有意差を認め、少なくとも高分化型腺癌では MUC1 とリンパ節転移には相関がうかがわれた。

HGM は、胃の腺窩上皮に特異的な抗体で染色性が安定していることから、従来の GOS に代わって最近胃型粘液の判定に用いられるようになった³⁴⁾。今回の検討では対象全体では HGM はリンパ節転移陽性群と陰性群間に有意差がなかったが高分化型腺癌では転移陽性群に有意に高く、組織特異性があった。野田ら³⁵⁾は、粘液組織化学的染色を用いて、リンパ節転移との関連を検討したが、リンパ節転移陽性の分化型早期胃癌においては胃型形質の発現が高率であり、今回の高分化型腺癌における HGM 発現がリンパ節転移と相関していたことは一致する成績と考えられた。

抗 Ki-67 抗体は、増殖細胞周期 (G1, S, G2, M期)

にある細胞核内に発現する抗原を認識し、細胞増殖能の指標となる。Oyaら²²⁾は粘膜内癌リンパ節転移21例(対照25例)を用いた検討で、Ki-67LIはリンパ節転移との相関があったと述べている。今回のsm癌を対象とした検討でもKi-67LIはリンパ節転移陽性と陰性例間に有意差を示し、Ki-67LIとリンパ節転移との関連が示唆された。

杯細胞固有の粘液のcore proteinを認識するMUC2は、すべての検討で有意差を認めなかった。

p53やc-erbB-2とリンパ節転移とが相関するという報告はあるか²¹⁾²³⁾²⁴⁾、本研究では関連は証明出来なかった。これは抗体、判定法や染色法の違い、あるいは症例数の違いが原因と思われる。

Ⅲ. 多変量解析

今回対象とした全sm癌と高分化型腺癌に限定した検討に共通してリンパ管侵襲がリンパ節転移と最も関連の強い因子であった。全sm癌で計9項目のうち他の8因子は有用な因子とはなりえなかった。一方、高分化型腺癌に限定すると、リンパ管侵襲と共にCD44が有意かつ独立した因子となり、高分化型腺癌における前記2因子を検索することは、リンパ節転移を予測しうることが示唆された。

謝 辞

福岡大学筑紫病院病理部の小島勝己主任(現福岡大学病院病理部主任)をはじめとした病理部の方々の御協力に深謝いたします。

文 献

- 1) 太田博俊, 関 誠, 高木国夫・他: 早期胃癌手術2,000例の臨床的検討—前期1,000例と後期1,000例との比較—. 日臨外医学会誌, 51: 1404-1409, 1990.
- 2) 竹腰隆男, 藤井 彰, 高木国夫・他: 内視鏡的ポリペクトミーによる早期胃癌の治療—curative polypectomyとして—. 癌の臨床, 32: 1185-1190, 1986.
- 3) 平尾雅紀, 小林多加志, 長谷良志男・他: 胃の腫瘍性病変に対する内視鏡的切除法. Gastroenterol Endosc, 25: 1942-1953, 1983.
- 4) 多田正弘, 嶋田正勝, 柳井秀雄・他: 新しい胃生検法“strip” biopsyの開発. 胃と腸, 19: 1107-1116, 1984.
- 5) 大上正裕, 熊井浩一郎, 若林 剛・他: 早期胃癌に対する新しい治療法—lesion lifting法による腹腔鏡下胃局所切除術—. 胃と腸, 28: 1461-1468, 1993.
- 6) 村上忠重, 鈴木武松: 胃・十二指腸潰瘍のすべてV, 病理: 79-102, 南江堂, 1971.
- 7) 日本胃癌学会編. 胃癌取扱い規約, 第13版, 金原出版, 東京, 1999.
- 8) 今井 環: 人体癌腫発育状況の形態学的考察. 福岡医誌, 1954; 45: 72-1026.
- 9) 廣田映五, 山道 昇, 板橋正幸・他: sm胃癌の病理—特に肉眼所見と組織形態との対比—. 胃と腸, 17: 497-508, 1982.
- 10) 岩下明德, 古川敬一, 山田 豊・他: リンパ節転移陽性早期胃癌の形態的特徴. 消化器内視鏡, 7: 697-707, 1995.
- 11) 柳澤昭夫, 宇都宮公也, 加藤 洋: 胃癌sm浸潤の判定と深達度sm1の考え方. 胃と腸, 32: 15-19, 1997.
- 12) 猪狩 亨, 中村二郎, 滝澤登一郎・他: 胃sm癌の病理—内視鏡治療の可能性および根治性の検討. 胃と腸, 32: 21-29, 1997.
- 13) 大屋正文, 八尾隆史, 恒吉正澄: 胃sm癌の深達度と粘液形質および癌関連遺伝子産物の発現. 胃と腸, 32: 31-39, 1997.
- 14) 辻 直子, 石黒信吾, 春日井務・他: 胃sm癌の病理組織学的検討—リンパ節転移を指標として. 胃と腸, 32: 41-47, 1997.
- 15) 表 和彦, 磨伊正義, 溝口雅之・他: 胃sm癌の細分類とリンパ節転移に関する検討—根治的内視鏡的切除術の適応拡大の可能性. 胃と腸, 32: 49-55, 1997.
- 16) 掛地吉弘, 杉町圭蔵. 胃sm癌の浸潤・転移・再発と生物学的特徴. 胃と腸, 32: 41-47, 1997.
- 17) 藤崎順子, 下田忠和, 池上雅博・他: 早期胃癌粘膜下層浸潤の浸潤程度からみたリンパ節転移と脈管侵襲の検討. Gastroenterol Endosc, 37: 947-952, 1995.
- 18) 藤崎順子, 池上雅博, 新井弥生・他: 早期胃癌粘膜切除の適応拡大の限界—病理の立場から. 胃と腸, 31: 1091-1100, 1996.
- 19) 北條 裕: 胃癌のリンパ節転移における免疫組織化学的検討. 東邦医学会雑誌, 44: 32-45, 1997.
- 20) 松崎佳祐, 戸田智博, 川野豊一・他: 免疫組織学的遺伝子診断による早期胃癌のリンパ節転移能判定と臨床応用. 日消外会誌, 31: 2312-2318, 1998.
- 21) 辻 直子, 石黒信吾, 鈴木典子: 胃粘膜内癌におけるリンパ節転移の危険因子に関する臨床病理学的検討. Gastroenterol Endosc, 41: 1059-1065, 1999.
- 22) Oya M, Yao T, Nagai E, et al: Metastasizing intramucosal gastric carcinomas—well differentiated type and proliferative activity using proliferative cell nuclear antigen and Ki-67. CANCER, 75: 926-935, 1995.
- 23) 児山 新, 寺島信也, 高野祥直・他: 胃癌におけるp53蛋白発現と転移, 予後との関連についての臨床病理学的研究. 福島医学雑誌, 47: 131-142, 1997.
- 24) Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, et al: Correlation of c-erbB-2 protein expression and lymph node status in early gastric cancer. Oncology, 49: 363-367, 1992.
- 25) 藤井幸一, 田中良哉: CD44. 細胞接着 宮坂昌之, 矢原一郎編, 156-157, 1996, 羊土社.
- 26) 大澤朋子, 宮坂昌之: 多機能接着分子CD44. 臨床免疫30 [Suppl. 18]: 52-59, 1998.
- 27) Günthert U, Hofmann M, Rudy W, et al: A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. Cell, 65: 13-24, 1991.

- 28) Müller W, Schneiders A, Heider KH, et al : Expression and prognostic value of the CD44 splicing variants v 5 and v 6 in gastric cancer. *Journal of pathology*. 183 : 222-227, 1997.
- 29) Sy MS, Guo YJ, Stamenkovic I. : Inhibition of tumor growth in vivo with a soluble CD44-immunoglobulin fusion protein. *J. Exp. Med*, 176 : 623-627, 1992.
- 30) Mayer B, Jauch KW, Günthert U, et al : De-novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. *Lancet* 342 : 1019-1022, 1993.
- 31) Hong RL, Lee WJ, Shun CT, et al : Expression of CD44 and clinical implication in diffuse-type gastric adenocarcinomas. *Oncology*, 52 : 334-339, 1995.
- 32) Ligtenberg M. J. L, Buijs F, Vos H. L, and Hilkens J: Suppression of cellular aggregation by high levels of Episialin. *Cancer Res* 52 : 2318-2324, 1992.
- 33) Utsunomiya T, Yonezawa S, Sakamoto H, et al : Expression of MUC 1 and MUC 2 mucins in gastric carcinomas : Its relationship with the prognosis of the patients. *Clin. Cancer Res*, 4 : 2605-2614, 1995.
- 34) Bara J, Gautier R, Mouradian P, et al : Oncofetal mucin M 1 epitope family : Characterization and expression during colonic carcinogenesis. *Int J Cancer* 47 : 304-310, 1991.
- 35) 野田昌夫 : リンパ節転移陽性早期胃癌の特性について—粘液組織化学および顕微蛍光測光法を用いた検討—. *日消誌*, 92 : 742-750, 1995.

(平成16. 8.10受付, 16.10. 4受理)