

大腸癌肝転移と血清 laminin 濃度の関係に関する研究

東京女子医科大学第2外科(指導: 浜野恭一教授)

泉 公 成

大腸癌症例154例の末梢血および49例の灌流血中の血清 laminin 濃度を測定し、異時性肝転移予知因子としての血清 laminin 濃度を評価検討し、以下の結果を得た。1) 肝転移症例の血清 laminin 濃度は非肝転移症例と比較して有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。2) 壁深達度 ss (a1) 以上の症例の血清 laminin 濃度は、pm 以下の症例と比較して有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。3) リンパ管侵襲 ly 1~3 症例の血清 laminin 濃度は、ly0 症例と比較して有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。4) 静脈侵襲程度に相関して血清 laminin 濃度は有意 ($p < 0.001$) に上昇した。5) 肝転移症例、高度静脈侵襲 (v2v3) 症例において灌流静脈血中 laminin 濃度が末梢血よりも高い傾向がみられた。6) 肝転移再発の予測を目的とする血清 laminin 濃度は、現時点においては、静脈侵襲による判別区分点1.44U/ml 以上とするのが適当と考えられた。

Key words: hepatic metastasis of colorectal cancer, serum laminin concentration

I. 結 言

大腸癌の治療成績は、近年に至り、各種診断法の進歩と手術式の改善により著しい向上がみられている。しかし、大腸癌症例における肝転移は約20%に認められ、予後を大きく左右する最大の因子となっている。大腸癌手術時にすでに肝転移をきたしているいわゆる同時性肝転移症例に対しては、肝切除、肝動注化学療法や温熱療法などの集学的治療が行われているが、一方、術前検査および手術時の検索において肝転移を認めなかった治療切除症例においても、術後肝転移再発は約6~8%に認められている^{1)~4)}。そこで、術前に肝転移の high risk group を判別し、術中化学療法や肝動注用カテーテルの挿入、免疫療法などの積極的な予防的治療を実行することが治療成績の向上に最も必要であると思われる。

さて、癌細胞の特徴である周囲組織への浸潤、転移は癌細胞自身の細胞接着認識機構のなんらかの異常によるとの知見もあり、血行性転移の成立に細胞接着分子の質的、量的変化が関与するといわれている⁵⁾。そこで著者は、細胞接着分子のうち代表的な基質接着分子 (substrate adhesion molecule: SAM) で、基底膜の増生、破壊を反映するといわれる laminin⁶⁾に着目した。laminin は、電顕上では基底膜の lamina lucida に

存在する分子量約80万~100万の糖蛋白で、癌細胞の浸潤、転移に関与しているといわれており^{5)~12)}、laminin による癌の基底膜の染色性と肝転移との関係については、多くの報告^{2)9)13)~15)}がみられている。しかし、現在、研究者によって意見の一致をみておらず、理論的にも十分解明されていない。一方、血清 laminin 濃度に関しては、各種の癌で上昇するという報告^{8)16)~18)}が多くみられている。教室の斎藤¹⁹⁾は、大腸癌症例において血清 laminin 濃度を測定、またあわせて、大腸癌組織の laminin 染色を行い、肝転移症例では血清 laminin 濃度の陽性率が高く、laminin 染色の陰性例が多かったと報告している。著者はさらに、病理組織学的各因子のうち、特に肝転移と関係が強いといわれている壁深達度および脈管侵襲^{1)~4)10)15)20)~24)}と血清 laminin 濃度とを比較検討し、大腸癌の肝転移予知マーカーとしての意義について研究、さらに、cut off 値設定の前段階として、肝転移および静脈侵襲による血清 laminin 濃度の判別区分点の算定を試み、新たなる知見を得たので報告する。

II. 対象および方法

1. 対象

1988年7月より1990年12月までの間に、東京女子医科大学第2外科において大腸癌切除手術を施行された154例 (肝転移症例28例、非肝転移症例126例) を対象とし、術前の末梢血中の laminin 濃度を測定した。また同症例のうち、術中に採取し得た49例 (肝転移症例

8例,非肝転移症例41例)の灌流静脈血中の laminin 濃度も測定した。

対象症例の背景因子は,男性93例,女性61例,平均年齢61.5歳(23~84歳)である。腫瘍の占居部位は,結腸84例(盲腸12例,上行結腸16例,横行結腸16例,下行結腸4例,S状結腸36例),直腸70例(Rs 18例,Ra 16例,Rb 35例)であった。手術で腫瘍が摘出され病理的に検索された症例の組織学的所見は,高分化腺癌73例,中分化腺癌65例,低分化腺癌12例,粘膜癌1例であり,壁深達度はm 10例,sm 6例,pm 25例,ss (a1) 72例,s (a2) 27例,si (ai) 11例であった。Dukes 分類では,Dukes A 32例,Dukes B 51例,Dukes C 67例であった。

2. 方法

(1) 血清 laminin 濃度測定方法

血清は術前に大腸癌患者の末梢静脈血を約5ml採取,遠心分離の後,-20℃で凍結保存しておき,測定時にはこれを融解して使用した。

測定には,RIA-laminin-p1キット(ヘキスト社)を用い2抗体 radioimmunoassay 法で行った。まず被検血清100 μ lに対し抗 laminin-p1抗血清(第1抗体)200 μ lを加えたのち,4℃で20時間培養した。次に,¹²⁵I標識 laminin-p1を100 μ l加え,4℃で7時間培養の後,さらに沈澱試薬(第2抗体)500 μ lを加えて,再び4℃で20時間培養し,これを4℃,4,000回転で30分間遠心分離の後,上清を吸引除去したうえで,wash reagent solutionにて洗浄後,再び遠心した。さらに上清を棄却し,シンチレーションカウンターで測定,キットに付属の標準血清により作成した標準曲線をもとに血清 laminin 濃度を算定した(Table 1)。

(2) 研究方法

1) 血清 laminin 陽性率

予め健常人45例の血清 laminin 濃度を測定し,正常値を設定した。大腸癌症例154例の血清 laminin 濃度とを比較し,陽性率を求めた。また同時に,同一症例のCEA(正常値 \leq 2.9ng/ml),CA19-9(正常値 \leq 37U/ml),CA125(正常値 \leq 35U/ml)をも測定,大腸癌症例の陽性率を血清 laminin 濃度と比較した。

2) 肝転移と血清 laminin 濃度

肝転移症例,非肝転移症例の血清 laminin 濃度を比較検討した。

3) 病理組織学的因子(壁深達度,脈管侵襲)と血清 laminin 濃度

摘出標本より壁深達度の明らかな症例151例および

Table 1 Method of serum laminin measurement

- (1)Take 100 μ l serum.
- ↓
- (2)Add 200 μ l Antibody 1.
4 $^{\circ}$ C, 20 h. incubation
- ↓
- (3)Add 100 μ l ¹²⁵I-LAM sol.
4 $^{\circ}$ C, 7 h. incubation
- ↓
- (4)Add 500 μ l Antibody 2.
4 $^{\circ}$ C, 20 h. incubation
- ↓
- (5)Centrifuge at 4 $^{\circ}$ C, 4000rpm,30min.
Remove supernatant.
- ↓
- (6)Add 0.8ml wash reagent sol.
- ↓
- (7)Centrifuge at 4 $^{\circ}$ C, 4000rpm,30min.
Remove supernatant.
- ↓
- (8)Determine the radioactivity of precipitate.

脈管侵襲の明らかな148症例において,以下につき,血清 laminin 濃度を比較検討した。

a. 壁深達度と血清 laminin 濃度との関係

b. 脈管侵襲(リンパ管侵襲および静脈侵襲)の有無,脈管侵襲程度と血清 laminin 濃度との関係

4) 灌流血中 laminin 濃度

術中に採取し得た灌流血中の血清 laminin 濃度を同時に測定,末梢血中の laminin 濃度と比較検討した。

5) 判別区分点の算定

以上の研究成果を基に,血清 laminin 濃度を肝転移予知マーカーとして確立する前段階として,同時性肝転移の有無および静脈侵襲の有無による血清 laminin 濃度の判別区分点を算定した。

6) 静脈侵襲の有無による判別区分点での肝転移症例,高度静脈侵襲症例の陽性率

肝転移の有無は術前画像診断の所見および術中所見により診断し,脈管侵襲はHE染色,Elastica von Gieson 染色を行い同一の病理医によって判定した。また,臨床病理学的所見の記載は大腸癌取扱い規約²⁵⁾により行った。

なお,統計学的検討はt検定,Scheffeの多重比較,Fisherの直接確率およびu検定により,危険率5%以下をもって有意差ありとした。

III. 結果

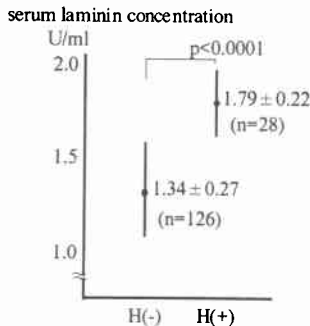
1. 血清 laminin 濃度の陽性率

健常人45例の血清 laminin 濃度測定の結果より,正常値を0.85~1.41U/mlとし,これを越える症例を陽性例とした。対象の154例中正常値を越える陽性例は82例53.2%であり,肝転移症例28例中では27例96.4%で

Table 2 Positive response rate for tumor markers (%)

	Total(n=154)	H(+)-cases(n=28)	H(-)-cases(n=126)
Laminin	53.2	96.4	43.6
CEA	35.7	89.3	23.8
CA19-9	23.1	52.0	16.5
CA125	8.6	36.0	1.9

Fig. 1 Relationship of hepatic metastasis to serum laminin concentration



あった。これは、同症例の他の腫瘍マーカーCEA (全症例：35.7%，肝転移症例：89.3%)，CA19-9 (全症例：23.1%，肝転移症例：52.0%)，CA125(全症例：8.6%，肝転移症例：36.0%)よりも高い陽性率であった (Table 2)。

2. 肝転移と血清 laminin 濃度

非肝転移症例 (126例) の血清 laminin 濃度は平均 1.34 ± 0.27 U/ml (Mean \pm S.D. : 以下同様) であったのに対し、肝転移症例 (28例) では 1.79 ± 0.22 U/ml であった。肝転移症例の血清 laminin 濃度は非肝転移症例と比較して有意 ($p < 0.0001$) に高値を示した (Fig. 1)。

3. 病理組織学的因子 (壁深達度、脈管侵襲) と血清 laminin 濃度

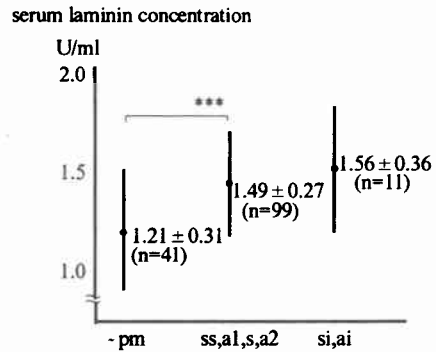
a. 壁深達度と血清 laminin 濃度

深達度 pm 以下の症例 (41例) の血清 laminin 濃度は 1.21 ± 0.31 U/ml であった。ss, a1, s, a2の症例 (99例) では、血清 laminin 濃度は 1.49 ± 0.27 U/ml であり、pm 以下の症例と比較して有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。si, ai 症例 (11例) では 1.56 ± 0.36 U/ml であり、これは ss, a1, s, a2症例と有意差は認められなかった (Fig. 2)。

b. 脈管侵襲と血清 laminin 濃度

1) リンパ管侵襲

Fig. 2 Relationship of intramural invasion to serum laminin concentration



Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by '***'

intramural comparison	simultaneous lower confidence limit	difference between means	simultaneous upper confidence limit
si,ai -ss,a1,s,a2	-0.14988	0.07771	0.30529
si,ai --pm	0.10823	0.35138	0.59453
ss,a1,s,a2-si,ai	-0.30529	-0.07771	0.14988
ss,a1,s,a2--pm	0.14068	0.27367	0.40666
-pm -si,ai	-0.59453	-0.35138	-0.10823
-pm -ss,a1,s,a2	-0.40666	-0.27367	-0.14068

ly0症例 (60例) の血清 laminin 濃度は 1.27 ± 0.27 U/ml、ly1症例 (51例) では 1.52 ± 0.31 U/ml、ly2症例 (26例) では 1.48 ± 0.32 U/ml、ly3症例 (11例) で 1.55 ± 0.25 U/ml であった。ly0症例と ly 1~3症例との間、すなわちリンパ管侵襲の有無で血清 laminin 濃度に有意差を認めたが ($p < 0.05$)、ly1, 2, 3間では有意差はなく、前述した肝転移と同様、侵襲程度との相関は認められなかった (Fig. 3)。

2) 静脈侵襲

v0症例 (97例) の血清 laminin 濃度は 1.29 ± 0.27 U/ml であり、v1症例 (28例) の場合は 1.52 ± 0.20 U/ml、v2v3症例 (23例) では 1.82 ± 0.22 U/ml であった。v0症例と v1症例との間、および v1症例と v2v3症例との間で血清 laminin 濃度は有意差 ($p < 0.05$) を認めた。すなわち、血清 laminin 濃度は、静脈侵襲程度と相関して上昇した (Fig. 4)。

4. 灌流静脈血中 laminin 濃度

術中に灌流静脈血を採取しえた49例のうち非肝転移症例は41例で、それらの灌流血 laminin 濃度は 1.42 ± 0.28 U/ml であり、これに対し、同症例の末梢血 laminin 濃度は 1.37 ± 0.25 U/ml であった。肝転移症例8例の灌流血 laminin 濃度は 1.87 ± 0.21 U/ml、末梢血 laminin 濃度は 1.76 ± 0.19 U/ml であった。いずれも血清 laminin 濃度は灌流血で高い傾向がみられたが、有意差はみられなかった (Fig. 5)。また、肝転移を予測

Fig. 3 Relationship of lymphatic invasion to serum laminin concentration

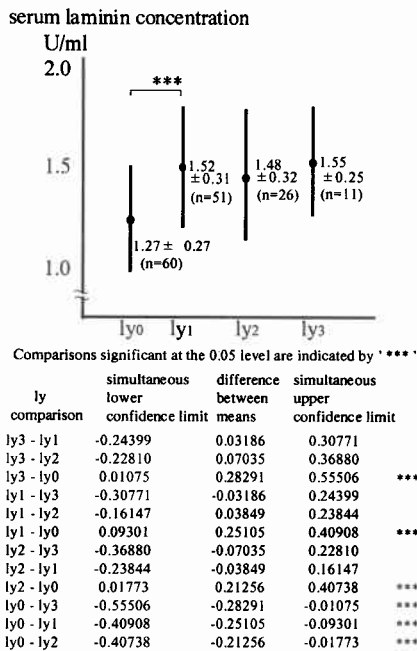
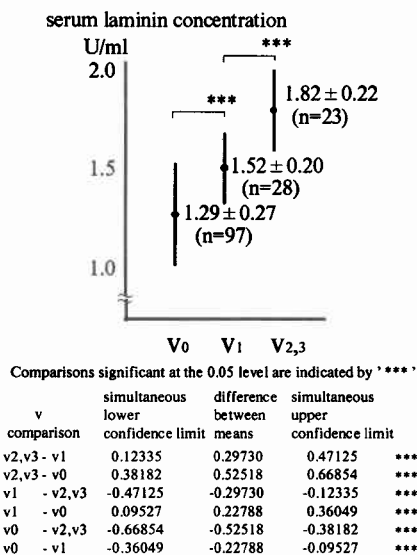


Fig. 4 Relationship of venous invasion to serum laminin concentration



する上で不可欠な静脈侵襲との関係で比較すると、灌流血では、v0症例(30例)で 1.33 ± 0.20 U/ml, v1症例(10例)で 1.63 ± 0.15 U/ml, v2v3症例(9例)では 1.90 ± 0.34 U/mlであったのに対し、末梢血 laminin

Fig. 5 Relationship of hepatic metastasis to difference in serum laminin concentration between returned and peripheral blood

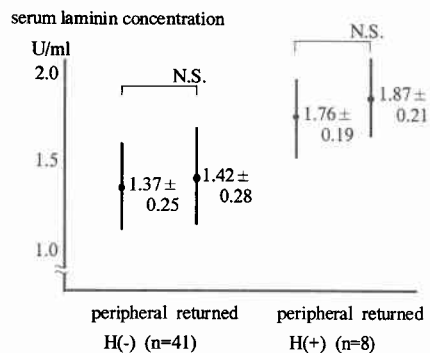
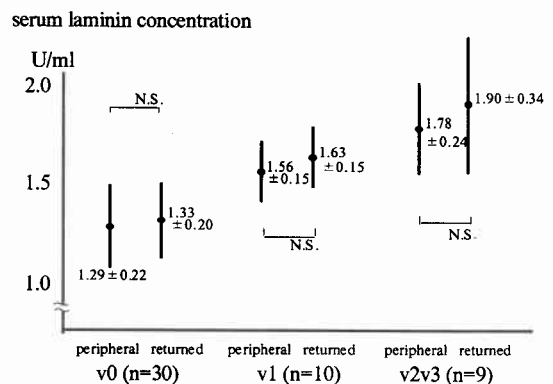


Fig. 6 Relationship of venous invasion to difference in serum laminin concentration between returned and peripheral blood



濃度は、v0症例で 1.29 ± 0.22 U/ml, v1症例で 1.56 ± 0.15 U/ml, v2v3症例では 1.78 ± 0.24 U/mlであり、いずれも灌流血中で高値を示したが、有意差は認められなかった (Fig. 6)。一方、非肝転移症例41例中24例58.5%で灌流血中 laminin 濃度が末梢血中の laminin 濃度よりも高値を示したにすぎないのに対し、肝転移症例では8例中7例87.5%で灌流血中 laminin 濃度の方が高値を示した (Table 3A)。また、特に肝転移との関係の強い静脈侵襲で比較すると v0v1症例の40例中23例57.5%に対し、v2v3症例では9例中8例88.9%で灌流血中でより高い値を示した (Table 3B)。

5. 判別区分点の算定

以上の成績を基に、肝転移症例と非肝転移症例の判別区分点および肝転移の危険因子として従来最も重要であるとされる静脈侵襲症例^{1)~4)10)20)~24)}と非静脈侵襲

Table 3 Difference in serum laminin concentration between returned blood and peripheral blood r; returned bl. P; peripheral bl.

A. Relationship of hepatic metastasis

	H(-)	H(+)	Total
r>p	24(58.5%)	7(87.5%)	31
r≤p	17	1	18
Total	41	8	49

(Fisher's exact test(2-tail):p=0.249)

B. Relationship of venous invasion

	v0,v1	v2,v3	Total
d>p	23(57.5%)	8(88.9%)	31
d≤p	17	1	18
Total	40	9	49

(Fisher's exact test(2-tail):p=0.127)

Fig. 7 Cut off value by hepatic metastasis

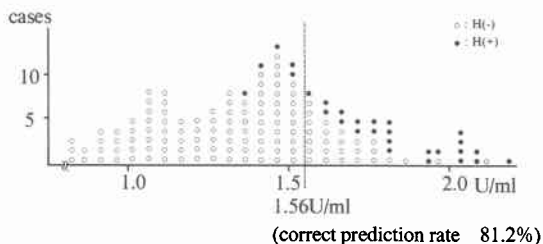
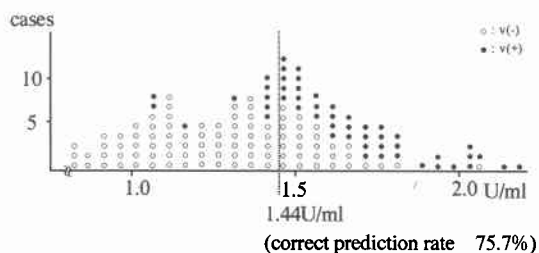


Fig. 8 Cut off value by venous invasion



症例との判別区分点を求めた。肝転移の有無による判別区分点は1.56U/mlであり、正診率に相当する判別の中率は81.2%であった (Fig. 7)。

静脈侵襲 v0群と v1~3群の判別区分点は1.44U/mlで、判別の中率は75.7%であった (Fig. 8)。

6. 静脈侵襲による判別区分点1.44U/mlでの肝転移症例および高度静脈侵襲 (v2v3) 症例の陽性率

非肝転移症例では126例中50例, 39.7%が、静脈侵襲による判別区分点1.44U/mlを越えるのに対し、肝転

Table 4 Serum laminin concentration and hepatic metastasis with cut off value by venous invasion at 1.44U/ml

serum laminin concentration	H(-)	H(+)	Total
>1.44	50	27(96.4%)	77
≤1.44	76	1	77
Total	126	28	154

(Fisher's exact test(2-tail):p=0.0001)

Table 5 Serum laminin concentration and venous invasion with cut off value by venous invasion at 1.44U/ml

serum laminin concentration	V0V1	V2V3	Total
>1.44	50	23(100%)	73
≤1.44	75	0	75
Total	125	23	148

(Fisher's exact test(2-tail):p=0.0001)

移症例では28例中27例96.4%が1.44U/mlを越える値を示した (Table 4)。

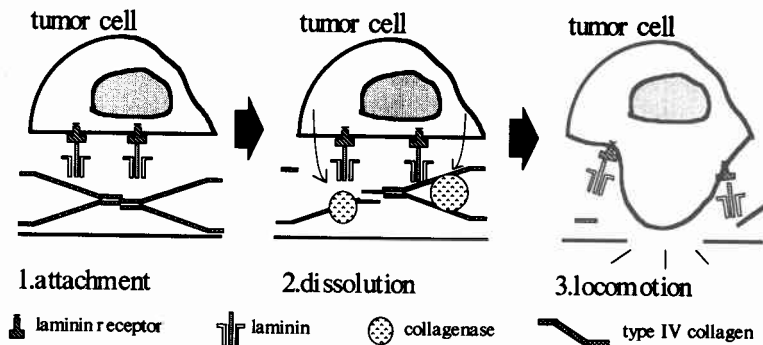
また、静脈侵襲 v0v1症例では1.44U/mlの判別区分点を越える症例は125例中50例, 40%であるのに対し、v2v3症例では23例全例, 100%が1.44U/mlを越える値を示した (Table 5)。

IV. 考 察

悪性腫瘍の特徴である周囲組織への浸潤や転移の際に、癌細胞による基底膜破壊は必須の条件であり、この意味で、基底膜とくに細胞接着分子との関係は非常に重要である。基底膜は type IV collagen を主体とするコラーゲン性蛋白と laminin などを主要な成分とする非コラーゲン性蛋白とからなり、特に laminin は細胞接着分子の一種、基底接着分子であり、基底膜などの細胞外基質への細胞の接着に関与し、その血中濃度は基底膜の破壊あるいは増生を反映するといわれている⁵⁾。

laminin は1979年、Timplら¹⁷⁾²⁶⁾²⁷⁾によって mouse の EHS sarcoma の腫瘍組織 (extracellular matrix) から単離された糖蛋白である。多くの研究者がその免疫学および生物学的特性について検討を重ね、肝線維化の指標としての血清 laminin 濃度についての報告^{28)~30)}や、悪性腫瘍における免疫組織学的研究⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾³¹⁾がなされている。特に、Brocksら³⁾⁸⁾は、乳癌、肺癌、前立腺癌などの癌で血清 laminin 濃度が有意に上昇することを報告している。また、大腸癌において重要な腫瘍マーカーである CEA と相関して血清 laminin 濃度が上昇したとの報告⁸⁾や、癌組織中に

Fig. 9 Three-step hypothesis of invasion (by Lance AL 1983)



において laminin receptor が増加している、その進行度と receptor の増加度が相関するとの報告³²⁾³³⁾もみられ、近年、癌の浸潤や転移に関与する因子または腫瘍マーカーとして注目されている。

血清中の laminin が他の腫瘍マーカー-CEA などと異なるのは、laminin 自体が癌の進行度や転移に自ら関与し、癌の存在や進行の結果としてのみならず、それらを助長する因子として血液中や腫瘍内に存在すると考えられる点にある。これについて Lance ら⁹⁾⁷⁾は three-step hypothesis をもって説明している (Fig. 9)。すなわち、まず第1段階として、腫瘍細胞表面の laminin receptor と基底膜上の laminin が結合する (attachment)。第2段階では、laminin と結合した腫瘍細胞が基底膜の骨格をなす type IV collagen を融解する protease (type IV collagenase) を分泌し、これが基底膜の破壊を惹起する (dissolution)。さらに第3段階では、融解された基底膜に腫瘍細胞が入り込み移動して行く (locomotion)。これらの step が繰り返されて腫瘍細胞の invasion が進行するという説である。この説を裏付けるように、癌組織中では laminin receptor や receptor の mRNA が近傍の正常組織と比較して増加しており、特に転移性の癌細胞で増加が著しいとの報告^{32)~34)}や、laminin が結合することで癌細胞の type IV collagenase 活性が数倍上昇するとの報告³⁵⁾がある。さらに、転移性の高い腫瘍細胞ほど試験管内での laminin との接着が速く、また、melanoma を laminin 上で培養した結果、転移率が高くなるという実験結果²⁷⁾も報告されている。そのうえ、抗 laminin 抗体が mouse 尾静脈から注入した癌細胞の転移形成を著しく阻害するという結果⁵⁾³⁴⁾³⁶⁾が報告されており、またほかにも laminin が肝転移と関係、またはこれを促進するとして報告^{13)16)31)37)~39)}が多くみられる。

悪性腫瘍、とくにその肝転移症例において、血清 laminin 濃度が上昇する機序についてはいまだ明らかではない。CEA と同様に腫瘍が産生するものであるのか、腺管基底膜や血管内皮の破壊に伴って血液中に流出した laminin による血清中濃度の上昇なのか、基底膜や内皮細胞の修復機転としての laminin の産生亢進の結果血中に上昇するものなのか、さまざまな可能性が考えられる。腫瘍産生性のものであるとすれば、原発腫瘍組織内での抗 laminin 抗体による免疫組織学的所見において、laminin 染色により染色性の強いもの (陽性例) に肝転移が高率にみられてしかるべきである。確かにそういった報告¹³⁾¹⁵⁾も認める。しかし、染色性と肝転移との関係は報告者によって意見が異なり、逆に染色性の低い症例に肝転移が多いとの報告⁹⁾¹⁴⁾¹⁹⁾もあり、この場合、以下に述べるごとく、基底膜等の破壊による血清 laminin 濃度の上昇であるとする説に一致する。今回用いた抗 laminin p1 抗体による血清 laminin 濃度は、laminin p1 抗体の認識部位をもつ laminin 分解産物の増量をも反映すると考えられる。肝線維化の指標としての血清 laminin 濃度の上昇の場合は主に肝組織の修復過程における laminin の産生亢進によるといわれているが、転移性肝癌のときの血中 laminin と肝線維化のときの laminin とは laminin の分解産物の分子量が異なるという報告³⁰⁾もあり、異なった機序による血清 laminin の上昇であると考えられた。したがって、Forster ら¹⁴⁾の報告のように癌組織内での laminin の減少が遠隔転移や予後の悪化と相関するのであれば、腫瘍による laminin 分解の亢進が考えられ、分解産物の血液中の増加が血清 laminin 濃度に反映することが示唆される。

いずれにしろ、大腸癌症例において血清 laminin 濃度は上昇し、また laminin 高濃度下での癌細胞は転移

能が上昇するという実験結果²⁷⁾が報告されていることを踏まえると、血清中の laminin 濃度が異時性肝転移の予知因子になりえることを示唆していると思われた。

本研究において、肝転移症例の血清 laminin 濃度は有意差をもって、非肝転移症例よりも高い値を示した。このことより、同時性肝転移マーカーとしての有用性は十分期待できると思われた。さらに、一步進めて、異時性肝転移の予知マーカーとしての有用性について検討した。

灌流血と末梢血の血清 laminin 濃度を測定したところ両者に有意差はないものの、灌流血で高い傾向がみられ、とくに肝転移症例や静脈侵襲 v2, v3症例で灌流血中 laminin 濃度が末梢血中の laminin 濃度よりも高値を示す傾向を認めている。このことより癌細胞とともに原発巣より血中に遊離した laminin が、灌流静脈を通して肝に向かい、癌細胞の着床、基底膜破壊の一助となると推察された。これは laminin が異時性肝転移の危険因子たり得ることの傍証になると思われる。

肝転移において静脈の侵襲は前提条件であり、染色方法や病理医の主観により客観性に問題があるといわれることがあるものの、静脈侵襲が肝転移再発の危険因子として重要であることは周知の知見^{1)~4)10)20)~24)}である。自験例においては v0症例で5.2%、v1症例では14.3%に同時性の肝転移を認めるに過ぎないのに対し、v2v3症例では65.2%と高率に肝転移を認めている (Table 6)。

また、肝転移の危険因子としては静脈侵襲ほどは重要視されていないが、大腸癌の進行度を決定する因子の一つである壁深達度についても肝転移とある程度の相関があるとする報告^{2)~4)15)~18)20)}もある。いずれも深達度 s または ss 以上で肝転移が有意に増加している。著者の自験例においても深達度 pm 以下の症例では肝転移は0例であるのに対し、ss (a1) s (a2) では20.2%、si (ai) 症例では45.5%であり、pm 以下と ss 以上との間で有意差を認めた (Table 7)。

このように肝転移は静脈侵襲、壁深達度との相関を認めたが、血清 laminin 濃度もまた、静脈侵襲や壁深達度と相関関係をみている。

特に、多くの文献^{1)~4)10)20)~24)}が指摘するように、静脈侵襲の存在は、侵襲の認められない場合と比較すると、将来の肝転移再発の可能性をより強く示唆するものであると考えられる。血清 laminin 濃度は、この静脈侵襲程度と相関しており、本研究の結果にしたがえば、

Table 6 Relationship of hepatic metastasis to venous invasion

	V0	V1	V2,3	Total
H(+)	5(5.2%)	4(14.3%)	15(65.2%)	24
H(-)	92	24	8	124
Total	97	28	23	148

(p=0.00001)

Table 7 Relationship of hepatic metastasis to intramural invasion

	~ pm	ss, s _{a1,a2}	si, ai	Total
H(+)	0	20(20.2%)	5(45.5%)	25
H(-)	41	79	6	126
Total	41	99	11	151

(p=0.00001)

血清 laminin 濃度を術前に測定することで、静脈侵襲の有無を術前に75.7%の確率で予測することが可能となりえる (Fig. 8)。したがって、血清 laminin 濃度は、同時性肝転移マーカーとしてのみならず、術後の肝転移再発の危険因子である静脈侵襲を術前より予測することで、間接的に異時性肝転移の予知マーカーとしての有用性があると考えられる。

現時点においては、異時性の肝転移再発症例についての検討がなされていないので、肝転移予知マーカーとしての cut off 値の設定は、本研究のみでは不十分であるが、今回、静脈侵襲を予測し得るという観点から、暫定的に、肝転移再発を予測する上での判別点の設定を試みた。

将来の肝転移予知という意味での判別点を設定する場合、現在の肝転移と非肝転移症例との判別区分点よりも、前述のごとく肝転移危険因子として重要な静脈侵襲を基にした値がより適切である。すなわち、静脈侵襲による判別区分点1.44U/mlを術後肝転移再発を予測する上での判別点とするのが適当であり、この値は、今後、血清 laminin 濃度を肝転移予知マーカーとして確立していく上での cut off 値設定の目安として重要になると思われた。

肝転移症例の28例中27例(96.4%)、肝転移率が有意に高い v2v3症例の23例全例(100%)が1.44U/mlを越える値を示し、specificityは低いものの、sensitivityは高く、術前に将来の肝転移再発を screening する cut off 値を1.44U/ml に設定することは意義があると思

われた。

本論文の要旨は第37回日本消化器外科学会総会および第91回日本外科学会総会において発表した。

稿を終わるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師浜野恭一教授に深甚なる感謝の意を捧げるとともに、直接御指導頂いた亀岡信悟講師に心よりの謝意を表します。

本研究は文部省科学研究費助成金一般研究C(課題番号02670593)によった。

文 献

- 1) 山村卓也, 瀬尾圭亮, 足立幸博ほか: 大腸癌肝転移再発の検討. 日臨外医会誌 52: 741-747, 1991
- 2) 松田泰次, 船井貞往, 安富正幸: 大腸癌肝転移の防止対策. 外科 51: 903-913, 1989
- 3) 多淵芳樹, 中江史朗, 今西 築ほか: 大腸癌術後血行性転移再発に関する臨床的病理学的研究—特にその予知と抑制に関する研究—. 日外会誌 85: 1359-1369, 1984
- 4) 小田奈芳紀, 更科広実, 齊藤典男ほか: 大腸癌肝転移症例の臨床病理学的特徴. 日消外会誌 23: 2251-2255, 1990
- 5) 関口清俊, 小山文隆: 細胞接着分子と細胞外基質. 病理と臨 8: 186-198, 1990
- 6) Lance AL, Rao CN, Sanford HB: Tumor invasion and the extracellular matrix. Lab Invest 49: 636-649, 1983
- 7) Lance AL: Tumor invasion and metastases—role of extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. Cancer Res 46: 1-7, 1986
- 8) Rochlitz CH, Hasslacher CH, Brocks DG et al: Serum concentration of laminin, and course of the disease in patients with various malignancies. J Clin Oncol 5: 1424-1429, 1987
- 9) Forster SJ, Talbot IC, Critchley DR: Laminin and fibronectin in rectal adenocarcinoma: Relationship to tumor grade, stage and metastasis. Br J Cancer 50: 51-61, 1984
- 10) 下川邦泰, 稲田 潔: 免疫組織化学の進歩とその応用—大腸癌の肝転移に関する研究—腫瘍組織基底膜よりの検討. 臨病理 38: 115-123, 1990
- 11) 河野公俊: ラミニン. 細胞 22: 231-234, 1990
- 12) Tuula K, Jaana I, Louise TC et al: Structure of human laminin B2 chain gene reveals extensive divergence from the laminin B1 chain gene. J Biol Chem 266: 221-228, 1991
- 13) 松田泰次, 坂口隆啓, 肥田仁一ほか: 胃癌における laminin の免疫組織学的検討—組織型および転移と laminin との関係—. 日消外会誌 22: 2778-2783, 1989
- 14) Forster SJ, Talbot IC, Clayton DG: Tumor basement membrane laminin in adenocarcinoma of rectum: An immunohistochemical study of biological and clinical significance. Int J Cancer 37: 813-817, 1986
- 15) 波江野善昭: 大腸癌原発巣と肝転移巣における laminin の局在に関する免疫組織学的検討. 近畿大医誌 14: 361-372, 1989
- 16) 岩田真二, 磯部英行, 藤目 真: 尿路移行上皮癌における血清ラミニン値の検討. 日泌尿会誌 81: 518-523, 1990
- 17) 橋本 博, 黒田一秀, 坂下茂夫: 膀胱癌と基底膜特異蛋白 laminin. 日泌尿会誌 75: 580-590, 1984
- 18) Brocks DG, Strecker H, Neubauer HP et al: Radioimmunoassay of laminin in serum and its application to cancer patients. Clin Chem 32: 787-791, 1986
- 19) 斎藤 登: 大腸癌肝転移予知としてのラミニンの血清学的および組織学的研究. 日本大腸肛門病会誌 44: 898-905, 1991
- 20) 神田 裕, 蜂須賀喜多男, 山口晃弘ほか: 肝転移を有する大腸癌の臨床病理学的特徴. 外科 50: 173-175, 1988
- 21) 稲田 潔, 下川邦泰, 池田庸子ほか: 大腸癌の動脈侵襲に関する臨床病理学的研究. 日消外会誌 21: 2278-2286, 1988
- 22) 小西文雄: 大腸癌の静脈浸潤に関する臨床病理学的研究. 日消病会誌 80: 1599-1609, 1983
- 23) 陳 文夫: 大腸癌の病理組織学的研究—とくに血管侵襲と予後を中心として—. 千葉医誌 59: 237-247, 1983
- 24) 岡島邦雄, 原 章倫: 大腸癌肝転移症例の臨床病理学的検討. 消外 10: 803-808, 1987
- 25) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 第4版, 金原出版, 東京, 1985
- 26) Timpl R, Rohde H, Robey PG et al: Laminin—a glycoprotein from basement membrane. J Biol Chem 252: 9933-9937, 1979
- 27) 林 利彦: ラミニン. 生体の科学 39: 275-279, 1988
- 28) 丸山勝也, 岡崎 勲, 亀谷麒与隆: アルコール性肝疾患における肝繊維化の指標としての血清ラミニンの測定. 肝臓 28: 1544-1549, 1987
- 29) 上野隆登, 島村拓司, 犬塚貞孝: 各種肝疾患における血清タイプコラーゲンNペプチド, ラミニンの変動と肝免疫組織学的検討. 肝臓 30: 429-438, 1989
- 30) 井戸英司, 大西三朗, 山本泰猛: 肝疾患における血清ラミニン値および分解産物とラミニンの肝組織内分布に関する研究. 肝臓 29: 537-545, 1988
- 31) 迎 徹: 胃癌組織における Fibronectin, Laminin の免疫組織学的検討. 日癌治療会誌 25: 2468-2476, 1990
- 32) Vittoria C, Vincent C, Barry MS et al: Increased expression of the laminin receptor in

- human colon cancer. *J Natl Cancer Inst* 83 : 29—36, 1991
- 33) Vincent C, Claude C, Anne PC et al: Immunodetection of the metastasis-associated laminin receptor in human breast cancer cell obtained by fine-needle aspiration biopsy. *Am J Pathol* 137 : 1373—1383, 1990
- 34) 下岡正志, 伊井一夫: フィブロネクチン, ラミニン. *代謝* 26 : 209—219, 1989
- 35) 岩本幸英, 山田吉彦: 癌一転移と基底膜. *実験医* 5 : 965—970, 1987
- 36) 林 正男: フィブロネクチン, ラミニン, ビトロネクチン. *代謝* 25 : 39—42, 1988
- 37) Ulla MW, Giulia T, Mark ES et al: Role of laminin receptor in tumor cell migration. *Cancer Res* 47 : 5691—5698, 1987
- 38) Charpin C, Andrac L, Habib MC et al: Correlation between laminin and type IV collagen distribution in breast carcinomas, and estrogen receptors expression, lymph node and vascular involvement. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 7 : 34—54, 1990
- 39) Terranova VP, Rohrbach DH, Martin GR: Role of laminin in attachment of PAM212 (epithelial) cells to basement membrane collagen. *Cell* 22 : 719—726, 1980

A Clinical Study on Serum Laminin Concentration on the Hepatic Metastasis in Colorectal Cancer

Kosei Izumi

Second Department of Surgery, Tokyo Women's Medical College

(Director: Prof. Kyoichi Hamano)

We determined the laminin concentration of peripheral blood in 154 cases of colorectal cancer [H+ (positive for hepatic metastasis), 28 cases; H- (negative for hepatic metastasis), 126 cases]; and that of returned venous blood in 49 cases [H+, 8 cases; H-, 41 cases] by radioimmunoassay, and examined the relationship of laminin concentration to hepatic metastasis, intramural invasion, lymphatic invasion and venous invasion, to evaluate the utility of laminin concentration as a predictor of hepatic metastasis. Serum laminin concentration was significantly elevated in H+ cases with ss or deeper invasion and positive vascular invasion. In particular, serum laminin level was correlated with the extent of venous invasion, which is an important risk factor for hepatic metastasis. In H+ cases with advanced venous invasion, laminin concentration tended to be higher, though not significantly, in the returned blood than in the peripheral blood. The above findings suggest that laminin concentration would serve as a good predictor of hepatic metastasis. Since venous invasion can predict hepatic metastasis and the laminin concentration is correlated with the venous invasion, the cut off point in the laminin concentration as a predictor was placed at 1.44 U/ml according to the criteria for prediction by venous invasion.

Reprint requests: Kosei Izumi Second Department of Surgery, Tokyo Women's Medical College
8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 162 JAPAN