

食道・胃・大腸癌およびヌードマウス可移植性胃癌に おける epidermal growth factor receptor, c-erbB-2遺伝子産物発現の意義

日本医科大学第1外科

水谷 崇 恩田 昌彦 徳永 昭

ヒト胃癌について食道癌, 大腸癌と対比, epidermal growth factor(EGF)結合能を測定, epidermal growth factor receptor (EGFR)量として定量的に表し, 臨床病理学的に検索した. またヌードマウス可移植性胃癌について c-erbB-2の遺伝子増幅をスロットプロット法で, 遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に調べた. 食道では非癌部, 癌部とも EGFR 量は胃・大腸に比べ高値を示し, 癌では1例を除きすべて EGFR 陽性であった. 胃では非癌部より癌部が EGFR 量, 陽性頻度ともに高値を示し, 癌では分化型に比べて未分化型で EGFR 量, 陽性頻度ともに高値であった. 大腸では非癌部, 癌部とで EGFR 量, 陽性頻度とも差はなかった. ヌードマウス可移植性胃癌においては分化型由来の2系統で c-erbB-2の増幅および発現が認められた. EGFR, c-erbB-2の発現に明らかな関連は認められなかったが, ヒト胃癌およびヌードマウス可移植性胃癌の増殖には EGFR または c-erbB-2の関与が示唆された.

Key words: epidermal growth factor receptor, c-erbB-2, esophageal cancer, gastric cancer, colonic cancer

はじめに

Epidermal growth factor receptor (EGFR) は細胞膜上に存在し, epidermal growth factor (EGF) と結合する分子量170kdの受容体型糖蛋白である¹⁾. EGF と結合後チロシンキナーゼ活性の上昇を示し, それによって細胞の増殖を促進すると考えられている²⁾³⁾. EGFR のチロシンキナーゼ活性をもつカルボキシル端側の半分と, トリ赤芽球症ウイルスの癌遺伝子 erb-B の産物のアミノ酸配列がほとんど同一であることが明らかにされている⁴⁾. さらにこの erb-B と極めて相同性の高い遺伝子の存在が確認され, c-erbB-2と命名された⁵⁾. c-erbB-2遺伝子のコードする蛋白質はアミノ酸配列において EGFR と高い相同性を有していることが報告されている⁶⁾.

EGFR は主に A431細胞をはじめとした扁平上皮癌細胞株や外科切除扁平上皮癌組織で過剰発現していることが見出され, EGFR の発現と細胞癌化または腫瘍増殖との密接な関係が示唆されている⁷⁾. また遺伝子

産物としての蛋白質レベルの研究から, EGFR は扁平上皮癌のみならず腺癌とくに胃癌でも発現が見出されている⁸⁾⁹⁾.

一方, c-erbB-2遺伝子はヒト乳癌において増幅例が報告され, 遺伝子増幅と患者の予後が関連し, 予後因子としての意義が注目されている¹⁰⁾¹¹⁾. 数多くのヒト癌組織の検索から, c-erbB-2遺伝子の増幅は腺癌で特異的にみられ, 胃癌の低分化型腺癌では増幅例がないが, 分化型腺癌では高頻度に増幅例が認められている¹²⁾. 遺伝子増幅のみならず抗 c-erbB-2抗体を用いた蛋白質レベルの解析も進められ, 癌細胞における c-erbB-2蛋白質の発現と転移能との関係が示唆されている¹³⁾.

EGFR, c-erbB-2の異常発現は癌の悪性度を表わす指標としての臨床応用への期待がもたれ研究が展開されている. われわれはヌードマウス可移植性胃癌における EGFR の発現を種々の方法で確認し, 腫瘍の EGF 結合能と増殖とが関連することを報告した¹⁴⁾. またヒト胃癌における c-erbB-2蛋白質の発現は分化型腺癌とくに乳頭腺癌に高率にみられ, さらに転移リンパ節では原発巣に比べ高頻度であることも報告した¹⁵⁾.

このように EGFR, c-erbB-2 の発現は臓器または癌の組織型により異なっている可能性や、増殖・転移など癌の悪性度と密接な関係を有することが示唆される。また EGFR, c-erbB-2 の同時発現を示す腫瘍の性質についてはこれまでほとんど情報が得られていない。そこで、ヒト胃癌について食道癌、大腸癌と対比、EGF 結合能を測定、EGFR 量として定量的に表し、臨床病理学的に検索した。またヌードマウス可移植性胃癌について c-erbB-2 の遺伝子増幅をスロットプロット法で、遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に調べた。これまでの自験の報告と併せ、胃癌における EGFR, c-erbB-2 の発現の意義について検討を加えた。

対象および方法

対象は当教室で切除された食道癌、胃癌、大腸癌およびヌードマウス可移植性胃癌である (Table 1)。

I. EGF 結合能測定

切除標本より癌と非癌部粘膜をそれぞれ約1g採取し生理食塩水で洗浄後、組織片を凍結。5mM sodium phosphate, 10% glycerol, 0.5mM dithiothreitol, 1mM PMSF を含むバッファーでホモジナイズ後 4℃, 1,000G で10分間遠心分離し、さらに 4℃, 100,000G で35分間超遠心沈殿分離し膜分画を抽出。Sainsbery の方法¹⁶⁾に準じて¹²⁵I-EGF との competitive binding assay を行った。Scatchard 解析により EGF 結合能を求め EGFR 量とし、10fmol/mg・protein 以上を EGFR 陽性とした。なお対照としてヒト正常分娩胎盤を用いた。

II. c-erbB-2 の免疫組織化学的染色

免疫組織化学的染色は Hsu らの方法¹⁷⁾に準じて行った。ヌードマウス可移植性胃癌組織を10%緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋後、4μm の切片に薄切。脱パラフィン後、0.3% H₂O₂ 加メタノール溶液、5% 正常ヤギ血清で処理した。1次抗体として抗 c-erbB-2 ポリクロナール抗体 (Triton Biosciences Inc., USA) を用い、20倍希釈液で切片と室温 (20℃) で60分間反応させた。2次抗体としてビオチン化ヤギ抗ウサギ血清を用い45分間反応、さらにアビチン・ビオチン・ペルオキシダーゼ複合体で45分間反応させ、ジアミノベンチジンで発色させた。なお対照として1次抗体を除いたバッファーを反応させた。また核染色はマイヤーのヘマトキシリンで行った。

III. c-erbB-2 のスロットプロット法

新鮮凍結材料から phenol-chloroform 法を用いて DNA を抽出、制限酵素の EcoRI (宝酒造, 京都) によって消化後、10μg の DNA をアルカリにて変性、中和化した後ニトロセルロースフィルターにスロットプロットティングした。フィルターは³²P でラベルした c-erbB-2 のヒト cDNA を用いて 42℃, 16時間ハイブリダイゼーションを行った。その後オートラジオグラフィーで c-erbB-2 遺伝子増幅を観察した。

IV. 胃癌の組織学的分類

胃癌の組織学的分類は胃癌取扱い規約¹⁸⁾に準拠して行い、さらに中村の提唱する分化型癌 (腸型)、未分化型癌 (胃型) に大別した¹⁹⁾。

Table 1 Histologic types of esophageal, gastric and colonic cancer and human gastric cancer xenografts in nude mice

	Histologic type	No. of cases
Esophageal cancer	squamous cell carcinoma	8
Gastric cancer	differentiated adenocarcinoma	21
	pap	3
	tub	18
	undifferentiated adenocarcinoma	29
	por	25
	sig	4
Colonic cancer	well differentiated adenocarcinoma	7
	moderately differentiated adenocarcinoma	10
	poorly differentiated adenocarcinoma	1
Human gastric cancer xenografts in nude mice	differentiated adenocarcinoma	3
	undifferentiated adenocarcinoma	3

pap: papillary adenocarcinoma, tub: tubular adenocarcinoma,

por: poorly differentiated adenocarcinoma, sig: signet-ring cell carcinoma

Table 2 Positive rate of EGFR and EGF binding capacity in esophagus, stomach and colon

	No. of cases		EGF binding capacity of positive cases (fmol/mg·protein) mean±S.E.
	examined	positive (%)	
Esophagus	8		
non-cancerous mucosa		8(100)	132±7.9
cancer		7(87.5)	770±34.7
Stomach	50		
non-cancerous mucosa		12(24.0)	56±6.0
cancer	25(50.0)	382±30.8	
Colon	18		
non-cancerous mucosa		8(44.4)	64±5.1
cancer	11(61.1)	62±5.9	
Placenta	5	5(100)	2346±29.8

*p<0.01

V. 統計学的検定

統計学的検定は χ^2 検定およびStudentのt検定に従った。

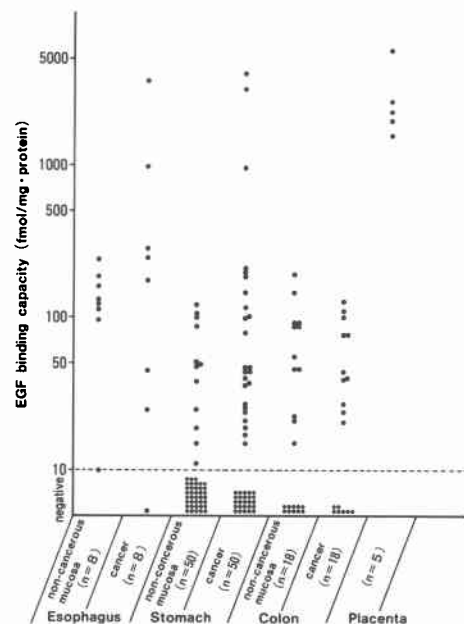
結 果

I. 1. EGF 結合能測定

食道非癌部粘膜および食道癌：食道におけるEGFR陽性率は、非癌部粘膜で8例中全例(100%)、癌で8例中7例(87.5%)であり、陽性例の平均EGF結合能はそれぞれ132±7.9, 770±34.7fmol/mg·protein(mean±SE)であった(**Fig. 1, Table 2**)。非癌部粘膜および癌ともにEGFR陽性が7例(87.5%)、非癌部粘膜のみ陽性が1例(12.5%)であった。

胃非癌部粘膜および胃癌：胃におけるEGFR陽性率は、非癌部粘膜で50例中12例(24.0%)、癌で50例中25例(50.0%)、陽性例の平均EGF結合能はそれぞれ55.6±6.0, 382±30.8fmol/mg·proteinで、癌におけるEGFR陽性率が非癌部より高く(p<0.01)、またEGF結合能もより高値を示した。非癌部粘膜および癌ともにEGFR陽性が8例(16.0%)、非癌部粘膜のみ陽性が4例(8.0%)、癌のみ陽性が17例(34.0%)、非癌部粘膜および癌ともに陰性が21例(42.0%)であった。

大腸非癌部粘膜および大腸癌：大腸におけるEGFR陽性率は、非癌部粘膜18例中8例(44.4%)、癌で18例中11例(61.1%)、陽性例の平均EGF結合能はそれぞれ64.4±5.1, 61.9±5.9fmol/mg·proteinであった。非癌部粘膜および癌ともにEGFR陽性が5例(27.8%)、非癌部粘膜のみ陽性が3例(16.7%)、癌のみ陽性が6例(33.3%)、非癌部粘膜および癌ともに陰性が4例(22.2%)であった。

Fig. 1 EGF binding capacity in esophagus, stomach, colon and placenta

I. 2. EGFR 陽性胃癌の病理組織学的検討

EGFR 陽性胃癌は、乳頭腺癌で3例中1例(33.3%)、管状腺癌で18例中6例(33.3%)、低分化腺癌で25例中18例(72.0%)、印環細胞癌で4例中陽性例なしで、低分化腺癌に有意に高率であった(p<0.05)(**Table 4**)。また中村の分類による分化型癌(腸型)で21例中7例(33.3%)、未分化型癌(胃型)で29例中18例(62.1%)と、未分化型癌に有意に高率に認められ

Table 3 Expression of EGFR in esophagus, stomach and colon

	non-cancerous mucosa	cancer	case (%)
Esophagus	+	+	7 (87.5)
	+	-	1 (12.5)
	-	+	0 (0)
	-	-	0 (0)
Stomach	+	+	8 (16.0)
	+	-	4 (8.0)
	-	+	17 (34.0)
	-	-	21 (42.0)
Colon	+	+	5 (27.8)
	+	-	3 (16.7)
	-	+	6 (33.3)
	-	-	4 (22.2)

+ : ≥ 10 fmol/mg•protein

- : < 10 fmol/mg•protein

た ($p < 0.05$). 陽性例の平均 EGF 結合能も分化型癌 90 ± 8.4 , 未分化型癌 497 ± 33.2 fmol/mg•protein と未分化型癌でより高値を示した. 間質量との関係は scirrhous type で18例中11例 (61.1%), non-scirrhous type で32例中14例 (43.8%) が EGFR 陽性で, 平均

EGF 結合能はそれぞれ 500 ± 33.3 , 291 ± 28.2 fmol/mg•protein と scirrhous type でより高値であった. またリンパ節転移に関しては, 転移陽性例で36例中18例 (50.0%), 転移陰性例で 9 例中 4 例(44.4%)が EGFR 陽性で, 平均 EGF 結合能はそれぞれ 495 ± 33.2 , 86 ± 8.2 fmol/mg•protein と転移陽性例でより高値を示した.

II. 1. ノードマウス可移植性胃癌における c-erbB-2 遺伝子産物の免疫組織化学的検索

6 系統のノードマウス可移植性胃癌において分化型癌由来の 2 系統 (NMS2, NMS24) に c-erbB-2 蛋白の発現を認め, 陽性例における染色性の局在は主として腫瘍細胞膜に認められた (Fig. 2, Table 5).

II. 2. ノードマウス可移植性胃癌におけるスロットプロット法による c-erbB-2 遺伝子増幅の検索

6 系統のノードマウス可移植性胃癌において分化型癌由来で免疫染色陽性であった 2 系統 (NMS2, NMS24) に c-erbB-2 遺伝子の増幅を認めた (Fig. 3). c-erbB-2 の免疫組織化学とスロットプロットの結果を Table 5 に示す. とともに分化型癌由来である NMS2 および NMS24 の 2 系統で c-erbB-2 遺伝子産物の発現と c-erbB-2 遺伝子の増幅が認められた.

III. ヒト胃癌における EGFR と c-erbB-2 の発現

同一症例で EGFR, c-erbB-2¹⁵⁾ とともに陽性は50例中 3 例(6.0%), EGFR のみ陽性が22例(44.0%), c-erbB-

Table 4 Positive rate of EGFR and EGF binding capacity in gastric cancer

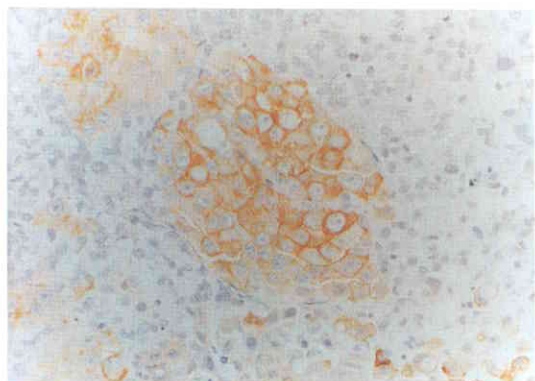
	No. of cases		EGF binding capacity of positive cases (fmol/mg•protein) mean \pm S.E.
	examined	positive (%)	
Histologic type			
differentiated	21	7(33.3)	90 \pm 8.4
pap	3	1(33.3)	
tub	18	6(33.3)	
undifferentiated	29	18(62.1)	497 \pm 33.2
por	25	18(72.0)	
sig	4	0(0)	
Growth pattern			
scirrhous	18	11(61.1)	500 \pm 33.3
non-scirrhous	32	14(43.8)	291 \pm 28.2
Lymph node metastasis			
positive	36	18(50.0)	495 \pm 33.2
negative	9	4(44.4)	86 \pm 8.2

* $p < 0.05$

pap : papillary adenocarcinoma, tub : tubular adenocarcinoma,

por : poorly differentiated adenocarcinoma, sig : signet-ring cell carcinoma

Fig. 2 Immunohistochemical demonstration of c-erbB-2 oncoprotein in a human gastric cancer xenograft of nude mice (NMS2). c-erbB-2 is confined mainly to the cell membrane of tumor cells without nuclear staining. (×200)



2のみ陽性が4例(8.0%), EGFR, c-erbB-2ともに陰性が21例(42.0%)であった(**Table 6**). EGFR, c-erbB-2ともに陽性例は全例分化型癌, non-scirrhoust typeでn₂以上のリンパ節転移を認めた。またEGFR, c-erbB-2ともに陰性例は, 分化型と未分化型がほぼ同数で, scirrhoust type 33%, non-scirrhoust type 67%, n₁以上76%, n₀ 24%であった。

IV. ノードマウス可移植性胃癌におけるEGFRとc-erbB-2の発現

同一系統でEGFR¹⁴, c-erbB-2ともに陽性は6系統

Table 5 Expression of c-erbB-2 in human gastric cancer xenografts of nude mice

Histology	Immunohistochemistry for c-erbB-2	Amplification of c-erbB-2
MMS 2 differentiated	+	+
6 differentiated	-	-
11 undifferentiated	-	-
12 undifferentiated	-	-
13 undifferentiated	-	-
24 differentiated	+	+

+ : positive, - : negative

Table 6 Expression of EGFR and c-erbB-2 in gastric cancer

EGFR	c-erbB-2	cases (%)
+	+	3 (6.0)
+	-	22 (44.0)
-	+	4 (8.0)
-	-	21 (42.0)

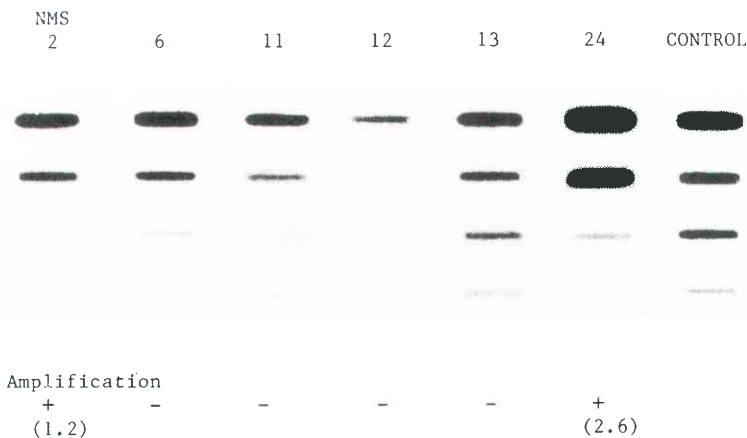
+ : positive, - : negative

Table 7 Expression of EGFR and c-erbB-2 in gastric cancer xenografts of nude mice

EGFR	c-erbB-2	cases (%)
+	+	2 (33.3)
+	-	4 (66.7)
-	+	0 (0)
-	-	0 (0)

+ : positive, - : negative

Fig. 3 Slot blotting of c-erbB-2 gene in human gastric cancer xenografts of nude mice. Amplification of the c-erbB-2 gene is shown in NMS2 and NMS24. (+ : positive, - : negative)



中2系統(33.3%), EGFRのみ陽性が4系統(66.7%)で, c-erbB-2のみ陽性またはEGFR, c-erbB-2ともに陰性のものは認められなかった (Table 7).

考 察

EGFRは細胞膜上に存在する分子量170kdの受容体型糖蛋白でEGFと結合しさまざまな生物学的作用を発現する²⁾. EGFRの大部分がいわゆる癌遺伝子であるトリ赤芽球症ウアルスの遺伝子産物v-erbBと同一であることよりEGFRそれ自体に潜在的な発癌性をもっている可能性が示唆される⁴⁾. ヒト扁平上皮癌細胞やA431細胞ではEGFR遺伝子の異常増幅が確認され⁷⁾, 癌細胞の増殖と密接な関連が指摘されている. EGFR遺伝子レベルではサザンブロットハイブリダイゼーション, ノーザンブロットハイブリダイゼーションによって検索される. 今回は各臓器ごとに非癌部粘膜および癌におけるEGFR量を定量的に比較検討する目的で¹²⁵I-EGFとの結合能測定により検討した.

EGF結合能の測定によってEGFRを定量的に表わすことが可能であった. 検索した材料のEGFに対する解離定数は $2.3 \times 10^{-10} \sim 2.6 \times 10^{-9} \text{M/mg} \cdot \text{protein}$ で胎盤における解離定数($3.0 \sim 9.0 \times 10^{-10} \text{M/mg} \cdot \text{protein}$)と変わりがなく, 腫瘍組織・胎盤とも同様にEGFとの親和性をもつことが示された.

食道では癌の1例を除きすべてEGFR陽性であり, 非癌部でもEGFR量は胃, 大腸に比べ高値を示したが, 癌部ではより高値であった. 食道では正常粘膜, 癌ともにEGFの影響を強く受けることが示唆される. 胃癌における陽性率は50%, 陽性例の平均EGF結合能は $382 \text{fmol/mg} \cdot \text{protein}$ と食道癌に比べてそれぞれ低値であったが, 胃癌の中にも食道癌と同程度に高いEGFR量を示す症例も認められた. この事実は胃癌細胞においても高頻度にEGFと結合する物質(EGFR)が存在し, 胃癌の増殖はEGFまたはEGFRによって調節されている可能性を示している. 著者らはヌードマウス可移植性胃癌株におけるEGFRの検索から, 腫瘍の増殖はEGFR量と相関することを報告している¹⁵⁾. 同様に腫瘍増殖とEGFR量との密接な関係がA431細胞²⁰⁾および絨毛癌²¹⁾のヌードマウス移植実験でも確認されている. 胃癌のうちEGF結合能が著明に高い例では増殖が早い可能性があり, 将来は腫瘍のEGFR量の測定から臨床上特別な治療を要する可能性も考えられる²²⁾²³⁾. 胃非癌部粘膜におけるEGFR陽性率は24%, 陽性例の平均EGFR量は55.6

$\text{fmol/mg} \cdot \text{protein}$ といずれも癌に比べて低値であった. 同一症例の胃における非癌部粘膜および癌のEGFR量の対比では, 72%で非癌部粘膜より癌が高値を示した. 慢性胃炎や前癌性変化の可能性が指摘されている腸上皮化生とEGFR発現との関連が認められない²⁴⁾ことを考え合わせると, EGFRはむしろ正常組織よりは癌組織において発現する頻度が高いものと考えられる²⁵⁾. EGFR陽性胃癌は未分化型, scirrhus typeに多いのが特徴であった. これらは臨床的にはBorrmann 4型に相当すると考えられ, 結合組織の著明な増生を伴う癌では, 間質細胞とEGFR発現との関連性も否定できないが, EGF-EGFR系の増殖に対する関与が示唆される.

大腸では非癌部, 癌部とでEGFR量, 陽性率とも明らかな差はみられなかった. 大腸組織では非癌部, 癌部ともにEGFによる影響は少ないものと考えられる.

ヌードマウス可移植性胃癌では全例EGFR陽性でいずれも高いEGF結合能を示していた¹⁵⁾. EGFR量と腫瘍増殖に相関が認められたことから, 胃癌増殖におけるEGFRの関与が示唆される. EGFRの遺伝子レベルでの増幅または蛋白質レベルでの発現と癌細胞の増殖能や癌患者の予後とが密接な関係を有する事実が報告され, EGFRの解析は扁平上皮癌のみならず胃癌²⁶⁾や乳癌²⁷⁾でも悪性度を知るうえで有用と考えられる.

c-erbB-2遺伝子は分子量185kdのチロシンキナーゼ活性を有する受容体型糖蛋白をコードしている²⁸⁾. c-erbB-2遺伝子の異常については乳癌, 胃癌をはじめ腺癌に偏り, 胃癌ではとくに分化型に高率に認められると報告されている¹²⁾. また乳癌患者においてc-erbB-2遺伝子増幅の腫瘍を持つ患者は増幅のない腫瘍を持つ患者よりも予後不良とされ¹⁰⁾¹¹⁾, c-erbB-2の生物学的意義が注目されている. 胃癌においても同様の報告がされている²⁹⁾. 胃癌転移巣における研究から, c-erbB-2増幅は原発巣よりも転移巣に高率にみられ, 癌細胞の転移能との関係が示唆される³⁰⁾. c-erbB-2遺伝子と癌細胞の転移能に関して, われわれは遺伝子産物の免疫組織化学的検索よりc-erbB-2の陽性頻度は転移リンパ節において原発巣よりも有意に高いことを示し¹⁵⁾, 鶴尾らはc-erbB-2遺伝子がtransfectされた低転移能細胞株が高転移能を示したと報告している³¹⁾. 今回の検索では6系統のヌードマウス可移植性胃癌のうち免疫組織化学的染色が陽性であったのは分化型癌由来の

2系統で、いずれもスロットプロット法で遺伝子増幅が認められた。しかしこの2系統の腫瘍倍加時間や転移能とc-erbB-2の発現、遺伝子増幅との関連については今回結論は得られなかった。

ヒト胃癌においてEGFRとc-erbB-2の発現に明らかな関連は見出せなかったが、胃癌の60%はEGFRまたはc-erbB-2陽性のことより、胃癌増殖がこれらの物質の調節を受けている可能性が示唆される。ヌードマウス可移植性胃癌においては、EGFR, c-erbB-2ともに陽性は2系統、EGFRのみ陽性は4系統で、両者の発現に明らかな関連は認められなかった。

ヒト胃癌においてEGFR陽性頻度が高いことが示され、EGFまたはEGFRの増殖に対する関与が示唆された。ヌードマウス可移植性胃癌の増殖とc-erbB-2の発現には明らかな関連はみられなかった。しかしEGFRとc-erbB-2が共同し胃癌の増殖、進展に寄与している可能性も指摘され³²⁾、今後さらにEGFRおよびc-erbB-2遺伝子および遺伝子産物の胃癌の増殖、浸潤、転移における役割について検索する必要があると考えられる。

本研究は厚生省がん研究助成金による総合研究「3-5、胃がんの発生要因解析とその応用に関する研究」班の分担研究費および日本私学振興財団学術研究振興資金によった。

文 献

- Cohen S, Ushio H, Stoccheck C et al: Anative 170,000 epidermal growth factor receptor-kinase complex from shed plasma membrane vesicle. *J Biol Chem* 257 : 1523—1531, 1982
- 清水信義: EGF レセプター/c-erbB 遺伝子と発がん. 渋谷正史, 山本 雅 編. *がん遺伝子研究*. 中外医学社, 東京, 1988, p64—69
- Lee K, Tanaka M, Shigeno C et al: Epidermal growth factor stimulates the anchorage-independent growth of human squamous cell carcinomas overexpressing its receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 168 : 905—911, 1990
- Downward J, Yarden Y, Mayes E et al: Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* 307 : 521—527, 1984
- Semba K, Kamata N, Toyoshima K: A verbB-related protooncogene, c-erbB-2, is distinct from the c-erbB01/epidermal growth factor-receptor gene and is amplified in a human salivary gland adenocarcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 : 6497—9501, 1985
- Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T et al: Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 319 : 230—234, 1986
- Yamamoto T, Kamata N, Kawano H et al: High incidence of amplification of the epidermal growth factor receptor gene in human squamous carcinoma cell lines. *Cancer Res* 46 : 414—416, 1986
- Sakai K, Mori S, Kawamoto T et al: Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 77 : 477—483, 1986
- Yasui W, Sumiyoshi H, Hata J et al: Expression of epidermal growth factor receptor in human gastric and colonic carcinomas. *Cancer Res* 48 : 137—141, 1988
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG et al: Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235 : 177—182, 1987
- Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y et al: Correlation between long-term survival in breast cancer patients and amplification of two putative oncogene/amplification units: hst-1/int-2 and c-erbB-2/ear-1. *Cancer Res* 49 : 3104—3108, 1989
- Yokota J, Yamamoto T, Miyajima N et al: Genetic alterations of the c-erbB-2 oncogene occur frequently in tubular adenocarcinoma of the stomach and are often accompanied by amplification of the v-erbA homologue. *Oncogene* 2 : 283—287, 1988
- 山本 雅: erbB 関連遺伝子—c-erbB-1/EGF レセプターとc-erbB-2. *臨検* 33 : 1302—1308, 1989
- Kiyama T, Onda M, Tokunaga A et al: Correlation between epidermal growth factor receptor concentration and the growth of human gastric cancer xenografts in nude mice. *Gastroenterol Jpn* 27 : 459—465, 1992
- Mizutani T, Onda M, Tokunaga A et al: Correlation of c-erbB-2 with invasion and metastasis in human gastric cancer. *Gastroenterol Jpn* 27 : 424, 1992
- Sainsbery JRC, Farndon JR, Harris AL et al: Epidermal growth factor receptors on human breast cancers. *Br J Surg* 72 : 186—188, 1985
- Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: *J Histochem Cytochem* 29 : 577—580, 1981
- 胃癌研究会編: *胃癌取扱い規約*. 改訂11版, 金原出版, 東京, 1985
- 中村恭一: *胃癌の構造*. 医学書院, 東京, 1982, p7—30
- Santon JB, Cronin MT, Macleod CL et al: Effects of epidermal growth factor receptor

- concentration on tumorigenicity of A431 cells in nude mice. *Cancer Res* 46 : 4701—4705, 1986
- 21) Miyachi Y, Terazono T, Nagao N et al: Epidermal growth factor (EGF) receptors in human chorionic gonadotropin-producing tumor: Transplantation in nude mice and the effect of EGF on tumor growth. *J Clin Endocrinol Metab* 71 : 329—334, 1990
- 22) Masui H, Kawamoto T, Sato JT et al: Growth inhibition of human tumor cells in athymic mice by anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody. *Cancer Res* 44 : 1002—1007, 1984
- 23) 上田政和, 清水信義, 阿部令彦: 増殖因子受容体を標的としたターゲット療法. 蛋・核・酵 36 : 474—480, 1991
- 24) 松倉則夫, 恩田昌彦, 徳永 昭ほか: ヒト胃癌, ノドマウス可移植性ヒト胃癌における EGFR (epidermal growth factor receptor) の定量的検索. 日本消化器癌発生研究会編. 消化器癌の発生と進展 2. 日本消化器癌発生研究会, 東京, 1990, p97—100
- 25) Pfeiffer A, Rothbauer E, Wiebecke B et al: Increased epidermal growth factor receptors in gastric carcinomas. *Gastroenterology* 98 : 961—967, 1990
- 26) Yasui W, Hata J, Yokozaki H et al: Interaction between epidermal growth factor and its receptor in progression of human gastric carcinoma. *Int J Cancer* 41 : 211—217, 1988
- 27) Toi M, Hamada Y, Nakamura T et al: Immunocytochemical and biochemical analysis of epidermal growth factor receptor expression in human breast cancer tissues: Relationship to estrogen receptor and lymphatic invasion. *Int J Cancer* 43 : 220—225, 1989
- 28) Akiyama T, Sudo C, Ogawara H et al: The product of the human c-erbB-2 gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 232 : 1644—1646, 1986
- 29) Yonemura Y, Ninomiya Y, Ohoyama S et al: Expression of c-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma. *Cancer* 67 : 2914—2918, 1990
- 30) Tsujino T, Yoshida K, Nakayama H et al: Alterations of oncogenes in metastatic tumors of human gastric carcinomas. *Br J Cancer* 62 : 226—230, 1990
- 31) Yusa K, Sugimoto Y, Yamori T et al: Low metastatic potential of clone from murine colon adenocarcinoma 26 increased by transfection of activated c-erbB-2 gene. *J Natl Cancer Inst* 82 : 1633—1636, 1990
- 32) 安井 弥, 吉田和弘, 田原榮一: ヒト消化器癌と増殖因子. 蛋・核・酵 36 : 409—416, 1991

Expression of EGFR and c-erbB-2 in Esophageal, Gastric and Colonic Cancer and in Human Gastric Cancer Xenografts of Nude Mice

Takashi Mizutani, Masahiko Onda and Akira Tokunaga
First Department of Surgery, Nippon Medical School

Epidermal growth factor receptor (EGFR) shares homology with, but is distinct from, c-erbB-2 oncoprotein. While amplification of EGFR is found in both squamous cell carcinoma and adenocarcinoma, that of the c-erbB-2 gene is found only in adenocarcinoma. EGFR is shown to be coexpressed with c-erbB-2 in advanced gastric cancer with metastasis. This study was, therefore, designed to examine the expression of EGFR in human gastric cancer in comparison with esophageal and colonic cancer, and to examine the presence of c-erbB-2 in human gastric cancer xenografts of nude mice. The expression of EGFR was examined by ¹²⁵I-EGF binding assay. Slot blotting and immunohistochemistry for c-erbB-2 were also done. EGF binding capacity of non-cancerous mucosa and cancer in esophagus was higher than that in stomach or colon. EGF binding capacity and the positive rate of EGFR in gastric cancer were higher than those in non-cancerous gastric mucosa, and those in undifferentiated gastric carcinoma were higher than those in differentiated gastric carcinoma. No difference in EGF binding capacity and the positive rate of EGFR was found in non-cancerous mucosa and cancer of colon. Both amplification and protein expression of c-erbB-2 were found in two differentiated adenocarcinomas of human gastric cancer xenografts in nude mice. The expression of EGFR and/or c-erbB-2 appeared to be related to the growth of human gastric cancer and its xenografts in nude mice. However, it is open to question whether coexpression of EGFR and c-erbB-2 in the tumor contribute to metastasis and/or invasion of cancer cells.

Reprint requests: Takashi Mizutani First Department of Surgery, Nippon Medical School
1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 JAPAN