

## 血中シリアル-Tn 抗原高値を示した胃癌患者の臨床的 および病理組織学的検討

滋賀医科大学第1外科, 同 第1病理\*

馬 暁春 寺田 信國 小玉 正智  
九嶋 亮治\* 服部 隆則\*

胃癌患者137例において血中シリアル Tn 抗原 (STN) の測定を行い, 20例 (15%) が陽性を示した。血中 STN は CEA, CA19-9 との間に相関が認められなかった。STN 高値を呈する胃癌の病期別の検討では stage III, IV 癌が16例で, 進行した癌で高い陽性率がみられた。組織所見においては, 多くは低分化型癌で, 漿膜下層以上浸潤した癌が14例で, 17例にリンパ節転移を認めた。STN 高値を示した症例では, 胃癌の組織でも全例で STN 陽性を示し, 癌組織の proliferating cell nuclear antigen 陽性率は14例において50%を越えていた。術前血中 STN 高値の症例は術後ほとんど低下し, 術後高値が続いた症例は残存病変を認め, まもなく死亡した。術後再発した症例は STN の再上昇がみられた。以上より, 血中 STN は癌細胞の浸潤や増殖の程度と関連し, 癌の進行度や再発の判定に有用なマーカーであることが示唆された。

**Key words:** gastric cancer, sialyl-Tn antigen, recurrence of gastric cancer

### 1. 結 言

糖鎖抗原の癌性変化については古くから研究されているが, 近年, 目的とした糖鎖に対する特異的なモノクローナル抗体が比較的容易に作成されるようになり, 癌の糖鎖抗原または糖鎖マーカーが詳細に研究されるようになった。シリアル Tn 抗原 (sialyl-Tn antigen, STN) はこれまで知られている糖鎖性癌関連抗原の CA19-9, carbohydrate 50 (CA50), sialyl-Le<sup>x</sup>-i (SLX) などとは基本骨格が異なり, 母核糖鎖に属する抗原である<sup>1)</sup>。本抗原は卵巣癌, 子宮頸癌における血中陽性率が高く, その臨床的な有用性が確認された<sup>2)3)</sup>。一方, 消化器癌においては血中陽性率が低く, とくに胃癌に関してはまだ詳細な検討はなされていない。そこで今回われわれは血中シリアル Tn 高値を示した胃癌患者について臨床的および病理組織学的検討を行い, 若干の知見を得たので報告する。

### 2. 対象と方法

#### 1) 対象

1989年4月から1992年4月までの間に当教室に入院あるいは以前に手術を行い, この期間に経過観察して

いる外来患者137例に対して血中の STN 測定を行った。Ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) 入りのスピッツに採血された血漿は数時間以内に分離され, 測定まで-20℃で冷凍保存された。なお, 同一採血での血漿と血清の間では STN 値は, ほとんどデータに差がないことを最初に確かめておいた ( $y = 0.987x - 1.24$ ,  $r = 0.9985$ ,  $n = 51$ )。その値が45.0U/ml 以上を示した20症例を本研究の対象とした。またこれらのサンプルを用いて, 血中 STN 値とともに CEA, CA19-9 値を同時に測定した。同対象の組織像について STN と proliferating cell nuclear antigen (PCNA) の免疫染色も行った。

#### 2) 測定方法

STN の測定にはヒツジ顎下腺ムチンを免疫原として作られたモノクローナル抗体 TKH-2 を用いた RIA キット (大塚アッセイ研究所) により行い, cut off 値は45.0U/ml とした<sup>4)</sup>。CEA は EIA (cut off 値5.0ng/ml), CA19-9 は RIA (cut off 値37.0U/ml) を用いて測定した。

#### 3) 免疫組織染色

STN の腫瘍組織内局在様式と PCNA 染色陽性率を調べるための免疫組織化学的検討は, 手術標本のパラフィン包埋切片を用いて, ABC 法により行った。脱

<1993年3月3日受理> 別刷請求先: 馬 暁春  
〒520-21 滋賀県大津市瀬田月輪町 滋賀医科大学第1外科

パラフィン後、0.3%過酸化水素加メタノール溶液と室温で30分間反応させ内因性ペルオキシダーゼ活性を除去した。PBSにて洗浄し、2次抗体の由来するウマの10%正常血清と室温で30分間反応させ、2次抗体の組織への非特異的吸着を阻止した。抗シアリル Tn 抗体 TKH-2 (大塚アッセイ研究所) と抗 PCNA 抗体 PC10 (DAKO) は1次抗体として使用した。1次抗体と反応後、PBSにて洗浄し、2次抗体と反応させた。すなわちビオチン化抗マウス免疫グロブリン、Vectastain ABC 試薬とそれぞれ室温下30分間反応させ、3,3-diaminobenzidine で発色させ、明瞭な茶褐色に染色された場合を組織陽性とした。染色の特異性については、1次抗体を正常血清で置換することにより確認した。

#### 4) 評価方法

STN の染色判定は、癌細胞が10%以下染色されたもの：(-)、10%~30%染色されたもの：(+), 30%~50%染色されたもの：(++)、50%以上染色されたもの：(+++) とした4段階に分類した。

PCNA の陽性率判定は、同一視野に1,000個以上の癌細胞をカウントして陽性細胞はパーセントとして算出した<sup>5)</sup>。

臨床病理学的事項に関しては胃癌取扱規約<sup>6)</sup>に従った。陽性率の検定は Chi-square test を用いた。

### 3. 結果

#### 1) 血中 STN と CEA, CA19-9 との比較

術前において、血中高値を示した20例の患者の STN の最高値は1,158U/ml、最低値は45U/ml であった。また術前に血中 CEA および CA19-9 も同時に測定したが、それぞれ10例と11例が陽性を呈した。STN 高

Fig. 1 Correlation between STN and CEA in patients with gastric cancer

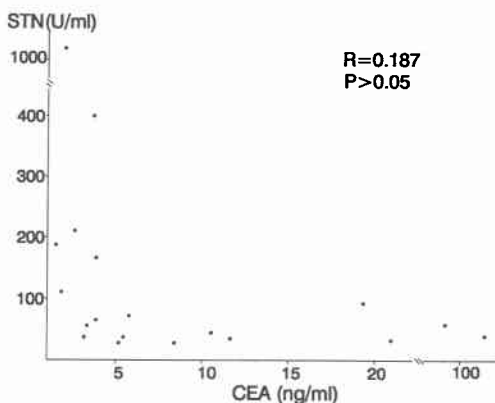
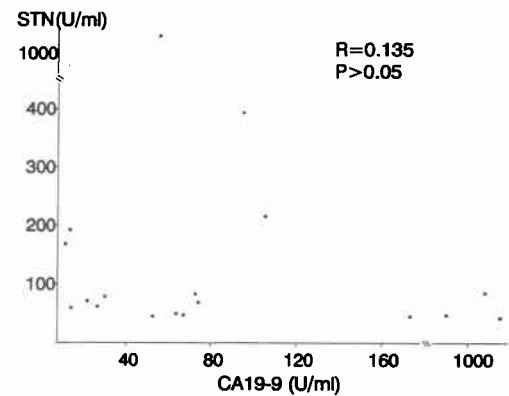


Fig. 2 Correlation between STN and CA19-9 in patients with gastric cancer



値症例では必ずしも CEA あるいは CA19-9 高値ではなく、STN は CEA, CA19-9 との間に有意の相関がみられなかった (Fig. 1, 2)。

#### 2) 血中 STN 高値胃癌の肉眼所見

137例の胃癌患者で血中 STN の測定を行ったが、20症例(15%)が陽性であった。血中 STN 陽性を示す胃癌症例の平均年齢は59.0歳(17~83歳)、男性8例、女性12例であった。占居部位は胃上部(C)は2例、胃中部(M)は10例、胃下部(A)は7例で、胃上部と胃中部2か所同時に癌が存在する症例いわゆる胃内2重癌が1例であった。肉眼分類では早期癌のIicが3例で、他は進行癌で、Borrmann 2と3型はそれぞれ6例で、4型は4例、5型は1例であった (Table 1)。

Stage から見ると stage I と II はそれぞれ2例(3%)と3例(12%)で、stage III は6例(20%)、stage IV は9例(36%)で、stage の進むに連れて陽性率は有意に高くなった ( $p < 0.05$ , Table 2)。

#### 3) 血中 STN 高値胃癌の組織学所見

20症例の組織型では、多くは低分化型腺癌と診断されるもので、癌細胞群が索状ないし小腺房状に増殖し、腺腔形成がごくわずかあるいは完全充実状に配列するいわゆる髄様型低分化腺癌が多かった (Fig. 3)。他に膠様腺癌は2例、印環細胞癌は2例で、中分化型腺癌は8例であった (Table 3)。

2例 stage IV 患者は胃切除手術をしなかったので癌組織への浸潤度を検討できないが、そのほかの18症例には粘膜下層浸潤(sm)は3例、筋層(pm)までは1例、漿膜下層浸潤(ss)は3例、漿膜面露出(se)は11例で、癌浸潤が深くなるにつれて陽性率が高くなった ( $p < 0.05$ )。リンパ節転移については17例に陽性を

**Table 1** Clinical characteristics of patients with gastric cancer that were positive for blood STN antigen

Case	Age	Sex	Borrmann	Location	Diameter (cm)	Stage
1	60	F	3	M	8.0	IV
2	65	F	4	M	7.7	III
3	65	M	4	M	7.0	IV
4	17	F	2	M	5.7	IV
5	54	M	2	A	3.1	II
6 <sup>a</sup>	47	M	4	A		IV
7 <sup>a</sup>	83	M	3	C, M		IV
8	66	F	3	M	8.0	III
9	54	F	3	M	6.0	III
10	65	M	IIc	A	3.3	II
11	57	M	5	M	2.0	I
12	56	F	2	M	3.3	III
13	67	M	3	M	6.0	IV
14	57	M	2	C	6.5	IV
15	57	M	2	A	3.3	III
16	59	M	IIc	A	2.2	I
17	72	F	2	A	10.0	IV
18	69	F	IIc	M	6.5	II
19	50	F	3	C	5.0	IV
20	59	M	3	M	6.0	III

<sup>a</sup> : not operated

**Table 3** Histological characteristics of patients with gastric cancer that were positive for blood STN antigen

Case	Histologic type	Invasion	v	Ly	n	STN	PCNA
1	por	se	V <sub>1</sub>	Ly <sub>2</sub>	n <sub>1</sub>	+	86%
2	por	se	V <sub>0</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>1</sub>	+	63%
3	tub2	se	V <sub>3</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>4</sub>	+	68%
4	por	se	V <sub>3</sub>	Ly <sub>1</sub>	n <sub>3</sub>	+	48%
5	tub2	sm	V <sub>0</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>1</sub>	+	20%
6 <sup>a</sup>	por					+	63%
7 <sup>a</sup>	tub2					+	71%
8	muc	se	V <sub>1</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>1</sub>	+	68%
9	por	se	V <sub>2</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>1</sub>	+	78%
10	tub2	ss	V <sub>0</sub>	Ly <sub>2</sub>	n <sub>1</sub>	+	80%
11	por	pm	V <sub>1</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>0</sub>	+	50%
12	sig	ss	V <sub>2</sub>	Ly <sub>2</sub>	n <sub>1</sub>	+	51%
13	por	se	V <sub>1</sub>	Ly <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	+	60%
14	sig	se	V <sub>0</sub>	Ly <sub>2</sub>	n <sub>4</sub>	+	39%
15	tub2	se	V <sub>1</sub>	Ly <sub>2</sub>	n <sub>1</sub>	+	49%
16	tub2	sm	V <sub>0</sub>	Ly <sub>1</sub>	n <sub>0</sub>	+	86%
17	tub2	se	V <sub>1</sub>	Ly <sub>2</sub>	n <sub>1</sub>	+	78%
18	tub2	sm	V <sub>0</sub>	Ly <sub>0</sub>	n <sub>0</sub>	+	19%
19	muc	se	V <sub>3</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>1</sub>	+	39%
20	por	ss	V <sub>1</sub>	Ly <sub>3</sub>	n <sub>2</sub>	+	90%

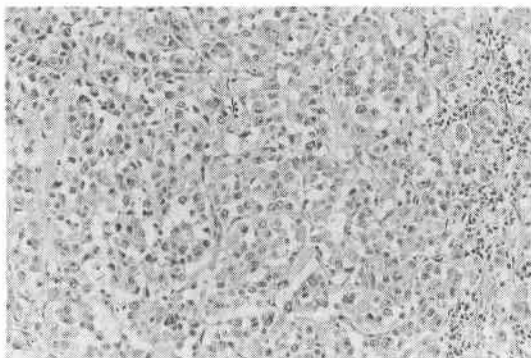
<sup>a</sup> : not operated

**Table 2** Positive rate of blood STN according to stage in gastric cancers

Stage	No. of cases	Positive-STN (%)
I	66	2 ( 3) <sup>a</sup>
II	17	3 (12)
III	29	6 (20)
IV	25	9 (36)

<sup>b</sup> : p<0.01. P value based on the chi-square test

**Fig. 3** Poorly differentiated adenocarcinoma. The tumor cells are large, polygonal and nuclei are large and have prominent nucleoli (HE×300).



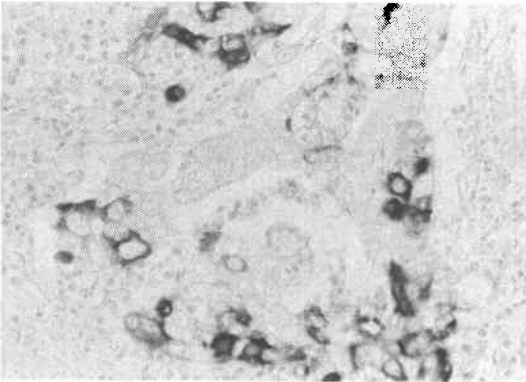
**Table 4** Positive rate of blood STN according to pathologic characteristics in gastric cancers

Variable	No. of cases	Positive-STN (%) <sup>a</sup>
Histologic type		
tub1	31	0 ( 0)
tub2	42	8 (19)
por	32	8 (25)
sig	32	4 (13)
Depth of invasion		
m	43	0 ( 0) <sup>b</sup>
sm	15	3 (20)
pm	16	1 ( 7)
ss	21	2 (15)
se	40	11 (28)
Lymphnode metastasis		
positive	60	17 (28) <sup>b</sup>
negative	77	3 ( 4)
Lymphatic invasion		
positive	68	17 (25) <sup>b</sup>
negative	67	1 ( 2)
Venous invasion		
positive	41	10 (24) <sup>b</sup>
negative	94	8 ( 9)

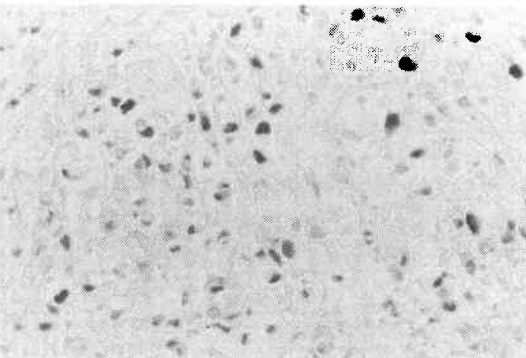
<sup>a</sup> : Two cases with blood positive STN do not operated

<sup>b</sup> : p<0.05. P value based on the chi-square test.

**Fig. 4** Immunohistochemical staining (black) of gastric cancer by TKH2 ( $\times 600$ ).



**Fig. 5** Gastric cancer cells stained by PC10 antibody and showing nuclei expressing PCNA ( $\times 600$ ).



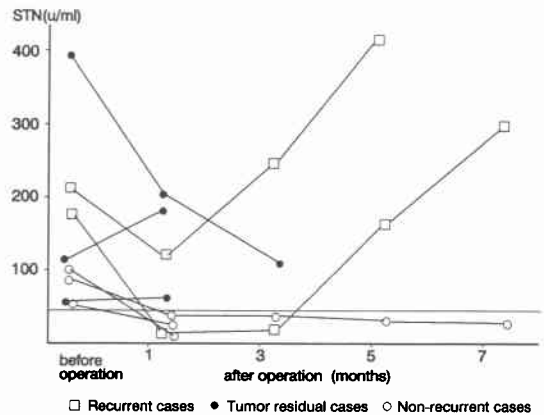
認め、高い陽性率を示した ( $p < 0.05$ )。リンパ管侵襲のある症例は17例、静脈侵襲のある症例は10例で、いずれも高い陽性率がみられた ( $p < 0.05$ , Table 4)。

#### 4) STN の局所的所見と血中 STN 値および PCNA 陽性率との比較

胃癌組織における STN の局在については酵素抗体法を用いて検索した。STN は癌細胞の細胞膜および細胞質にみられ、20例全例に陽性所見がみられた (Fig. 4)。また染色の陽性率と STN 値を比較するとその間に有意の相関は認められなかった。PCNA の染色では増殖能を持つ細胞の核が染色された (Fig. 5)。腫瘍細胞の PCNA 陽性率は50%以上を示す症例は14例であった。局所 STN の発現と PCNA の間に相関は認められなかった。

#### 5) 血中 STN 高値患者の STN 値と臨床経過

**Fig. 6** Serial determination of blood STN in patients with gastric cancers



術前に STN 高値を示した20例の中に術後理学的所見や画像診断により再発を確認した症例は8例で、再発症例の57% (8/14) を占めた。また20例の中、3年以内に11例が死亡した。血中 STN 値の変動と臨床経過との関連を検討するために8例は術後も STN 測定を行ったが、その中の6例は STN の降下を認めた。また術後 STN は正常に戻った3例はその1年後に再発が認められなかった。その一方、STN が術後も上昇あるいは高値をそのまま維持した3例は残存病変を認め、まもなく再燃死亡した。また術後再発した症例においては再発とともに STN が再び上昇した (Fig. 6)。

#### 4. 考 察

癌細胞では悪性化により糖鎖の不完全合成がみられ、その前駆体が蓄積することが知られている<sup>7)</sup>。シアリル Tn 抗原の癌組織内の存在はその例の1つである。最近、このシアリル Tn 抗原を認識するモノクローナル抗体 (TKH2) が作成され、RIA 法によるアッセイ系が確立されたことによって血中における抗原の測定が可能となった<sup>4)</sup>。

シアリル Tn 抗原については、正常人と良性疾患の患者においては陽性をほとんど認めず、癌特異性が高いことがその特徴である<sup>8)</sup>。産婦人科においては45%の腫瘍患者の血中には陽性を認め<sup>2)</sup>、またその値の高低は患者の臨床経過と関連し<sup>2)3)</sup>、さらに患者の予後を反映する腫瘍マーカーとしての有用性も確認されたが<sup>9)</sup>、消化器癌においては血中 STN 陽性率は10~20%の低い範囲に留まり<sup>8)</sup>、われわれの検討においても原発胃癌における血中 STN 陽性率は15%しかみられな

かった。STN 高値胃癌の病期別の検討においては stage I と II より stage III と IV のような進行した癌が多かった。胃癌における血中 STN の陽性率が低いものの、癌の進行度を反映することから、いわゆる detection marker としての意義が薄い癌の進行度を予測するのに有用であると思われる。また、STN と CEA, CA19-9 の関係については、互いに相関がみられず、STN と CEA, CA19-9 を産生する胃癌細胞は異なると考えられている。

STN 高値胃癌の組織所見に関しては、Hakomori ら<sup>7)</sup>は消化器癌の中、とくに低分化腺癌と粘液腺癌に特異性が高いと報告している。自験例では、低分化型のものが多く、中分化腺癌が8例であったが、その組織にいずれもかなり量の低分化腺癌を混在しており、一般的な分化型腺癌とは明らかに異なる組織型であった。免疫組織染色により STN 局所発現については血中 STN 陽性症例全例に陽性所見がみられたが、染色の陽性率と血中 STN の間に相関関係を認めなかった。われわれはかつて85例の原発胃癌患者において切除組織標本で STN 発現を免疫組織化学的に調べたが、67%に陽性所見を認め、血中 STN の陽性率より4倍ほど高いことになる。Inoue ら<sup>2)</sup>は卵巣腫瘍内容液の STN 測定を行い、80%の陽性率がみられ、また Itzkowitz ら<sup>10)</sup>は大腸癌の検索においても組織中の STN が64%の陽性率を認め、いずれも血中 STN より高い陽性率を示した。このことは、細胞レベルで部分的に STN が発現されても、それが血中で高値ととらえられないことを意味している。量的な問題と考えることもできるが、癌細胞に存在している糖鎖抗原が血中に遊離するメカニズムの問題も考えなければならない。癌細胞は血管への浸潤、組織の破壊、または癌組織による分泌機序が異なることなどが想定される。

卵巣癌においては、術前血中 STN 高値を示した症例は術後低値となり、再発の際再上昇し、患者の臨床像をよく反映すると報告されている<sup>2)</sup>。われわれの検討においても、術後 STN が正常に戻った症例は再発が認められず、その一方、術後でも STN 値が上昇あるいは高値そのまま維持する症例は残存病変がみられ、間もなく死亡した。また早期癌と進行癌の再発例では STN の再上昇が観察された。STN は卵巣癌だけではなく、胃癌患者においても、follow up に有用なマーカーであることが判明した。

Kobayashi ら<sup>9)</sup>は血中 STN 高値の産婦人科腫瘍、Itzkowitz ら<sup>11)</sup>は組織に陽性を呈する大腸癌などはい

ずれも予後が悪いと報告したが、今回の検討においても、血中 STN 高値胃癌には再発が多く、3年以内に半数以上が死亡した。STN 高値の患者では、腫瘍細胞のリンパ管侵襲とリンパ節転移が高率であり、浸潤能と STN 高値との関連性が示唆された。また STN 高値胃癌では PCNA の陽性率が高く、癌細胞の増殖が非常に活発であることが示された。癌細胞の浸潤能や増殖能と STN との関連については今後さらに検討する必要があると思われる。

#### 文 献

- 1) Hakomori S: Tumor-associated carbohydrate antigens. *Ann Rev Immunol* 2: 103-126, 1984
- 2) Inoue M, Ogawa H, Nakanishi K et al: Clinical value of sialyl Tn antigen in patients with gynecologic tumors. *Obstet Gynecol* 75: 1032-1036, 1990
- 3) Kobayashi H, Terao T, Kawashima Y: Clinical evaluation of circulating serum sialyl Tn antigen levels in patients with epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 9: 983-987, 1991
- 4) 井村裕夫, 森 徹, 大倉久直ほか: 血清中シアリル Tn 抗原の測定の基礎的検討ならびに臨床的有用性。(1) 正常値及び測定条件の基礎的検討。癌と化療 16: 3213-3220, 1989
- 5) Jain S, Filipe M, Weseen N et al: Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 44: 655-659, 1991
- 6) 胃癌研究会編: 胃癌取り扱い規約。改訂第11版。金原出版, 東京, 1985
- 7) Hakomori S: Aberrant glycosylation in cancer cell membranes as focused on glycolipids. *Cancer Res* 45: 2405-2410, 1985
- 8) 井村裕夫, 森 徹, 大倉久直ほか: 血清中シアリル Tn 抗原の測定の基礎的検討ならびに臨床的有用性(2) 各種悪性および非悪性患者血清の測定結果。癌と化療 16: 3321-3320, 1989
- 9) Kobayashi K, Terao T, Kawashima Y: Serum sialyl Tn as an independent predictor of poor prognosis in patiente with epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 10: 95-101, 1992
- 10) Itzkowitz SH, Yuan M, Montgomery CK et al: Expression of Tn, sialosyl-Tn and T antigens in human colon cancer. *Cancer Res* 49: 197-204, 1989
- 11) Itzkowitz SH, Bloom EJ, Kokal WA et al: Sialosyl-Tn. A novel mucin antigen associated with prognosis in colo rectal cancer patients. *Cancer* 66: 1960-1966, 1990

### **Clinical and Pathologic Characteristics of Gastric Cancers with High Blood Sialyl-Tn Antigen Levels**

XiaoChun Ma, Nobukuni Terate, Masashi Kodama, Ryoji Kushima\* and Takanori Hattori\*  
First Department of Surgery and First Department of Pathology\*, Shiga University of Medical Science

Blood sialyl-Tn antigen (STN) levels were studied in 137 patients with gastric cancer. High STN levels were observed in 20 cases (15%). STN levels were not correlated with those of CEA or CA19-9. STN levels were higher in advanced cancers, such as stage III and stage IV. Serosal invasion was seen in 14 out of the 20 cases, and lymph node metastasis was detected in 17 cases. On histological examination, the gastric cancers with high STN levels were found to be undifferentiated cancers. On immunohistochemical analysis, STN-positive cancer cells were identified in every cases. The PCNA-indices of the cancer cells were than more 50% in high-STN gastric cancers. STN levels decreased after gastrectomy, but in several cases, they remained high, thereby indicating residual tumor after the operation. Recurrence occurred in several cases, and the STN level became high again. These results suggested that STN is correlated with the penetration and proliferation of cancer cells, etc, and the measurement of STN is useful in assessing the clinical stage and the recurrence of gastric cancers.

**Reprint requests:** XiaoChun Ma First Department of Surgery, Shiga University of Medical Science  
Seta Tsukinowa, Otsu, 520-21 JAPAN

---