

胃癌における新しい予後因子 —胃癌組織内の ER, PgR の予後因子としての 有用性ならびに予後向上対策—

京都府立医科大学第1外科

小島 治 吉岡 裕司 湊 博史 飯塚 亮二
大辻 英吾 下間 正隆 北村 和也 谷口 弘毅
萩原 明於 山根 哲郎 山口 俊晴 沢井 清司
高橋 俊雄

胃癌組織内 estrogen receptor (ER), progesteron receptor (PgR) の局在が新しい胃癌の予後因子になりうるかどうか検討し、さらに ER, PgR の予後不良因子の生物学的意義, ER, PgR を介した内分泌療法の効果について検討した。その結果, ①胃癌組織内の ER, PgR の有無と予後がリンパ節転移有無や癌組織型よりよく相関した。② ER 陽性胃癌の proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 陽性率が ER 陰性胃癌に比べ高く、癌細胞の増殖能が ER 陽性胃癌で高い傾向を示した。③治癒切除スキルス胃癌40例の術後に、封筒法で内分泌化学療法群と化学療法群にわけて、5年累積生存率を検討したところ、内分泌化学療法群の予後は化学療法群に比べ予後良好であった。以上、胃癌組織内 ER, PgR は胃癌の予後因子の1つになりうると考えられ、予後不良の性ホルモンレセプター陽性胃癌の予後向上に内分泌療法の有用性が示唆された。

Key words: prognostic factor of gastric cancer, estrogen receptor, progesteron receptor

はじめに

従来から胃癌の予後因子には、癌進行度、リンパ節転移度、漿膜浸潤度等臨床病理学的因子がある。最近の分子生物学の進歩に伴い、胃癌 DNA パターン、各種癌遺伝子、接着物質等が胃癌の予後因子として注目されてきている。胃癌は性ホルモン標的臓器より発生した癌ではないが、性ホルモンレセプターや性ホルモンが胃癌細胞内に存在することが知られている。我々は性ホルモンレセプターの局在を免疫組織学的染色で調べたところ estrogen receptor (ER) と progesteron receptor (PgR) 陽性胃癌の予後はこれらホルモンレセプター陰性胃癌に比して有意に悪かった¹⁾。この事実をふまえ、これら性ホルモンレセプターと従来の因子

との関係を比較検討した。さらに最近増殖能を表すとされている proliferating cell nuclear antigen (PCNA) および epidermal growth factor receptor (EGF-receptor) と構造が似ており、胃癌の予後因子の一つとされている c-erbB₂ 蛋白との関係を調べた。更に予後不良の ER 陽性胃癌に対する内分泌療法の可能性についても明らかにしたので報告する。

検索対象ならびに方法

(1) 性ホルモンレセプター, c-erbB₂ 蛋白, PCNA の免疫組織学染色法: 京都府立医科大学第1外科学教室で治癒手術がなされ、予後の判明している進行胃癌90名を検索対象とした。90名の患者の切除組織より、10%ホルマリン固定、パラフィン包埋標本を作成し、4 μ m の組織切片を使い、avidin-biotin peroxidase complex (ABC) 法にて染色した。Greene²⁾の作った抗 ER モノクローナル抗体, ER-ICA キット (H222, アボット社製) を1次抗体として48時間反応させた。ビオチン化抗ラット IgG 抗体と ABC に2時間反応させて行っ

*第41回日消外会総会シンポジウム・消化器癌の新しい予後因子—細胞生物学的並びに分子生物学的アプローチ—
<1993年6月14日受理> 別刷請求先: 小島 治
〒602 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465
京都府立医科大学第1外科

た. 詳しくは教室の論文¹³⁾を参照されたい. PgR 染色は Perrot-Applanat⁴⁾の作った PgR モノクローナル抗体(コスモ社製)を, c-erbB₂蛋白染色は NCL-CB11抗体を用い, PCNA 染色は抗 PCNA モノクローナル抗体(Signet Labo.)により前述と同一組織標本で ABC 法で行った.

(2) 胃癌患者の累積生存率: Kaplan-Meier 法で求め, 有意差は generalized Wilcoxon 法で検定した.

(3) 胃癌の内分泌療法: スキルス胃癌患者で治癒切除された20例の術後に内分泌化学療法がなされた. 内分泌化学療法群か化学療法群(20例)かは, 封筒法により振り分けられた. Tamoxifen 群は治癒切除後 Mitomycin C を20mg 静注し, ついで5-fluorouracil 200mg と Tamoxifen 20mg を経口投与した. 経口投与の期間は6か月以上, できるだけ長く投与した. コントロール群には化学療法のみで治療した.

検索成績

(1) ER, PgR, c-erbB₂蛋白, PCNA の胃癌細胞にお

ける局在: ER, PgR 共に胃癌細胞の核に局在を認め, 陽性細胞と陰性細胞の混在が認められた. c-erbB₂蛋白は胃癌細胞膜に, PCNA は核に存在した.

(2) 胃癌組織内に於ける ER, PgR と予後: 治癒切除例における ER の有無と予後との関係を見ると, ER 陽性例の8年生存率は15.7%, ER 陰性例のそれは62.7%と有意に ER 陽性例の予後は不良であった(Fig. 1). 一方, PgR 陽性例の8年生存率は18.2%, 同陰性例のそれは48.3%と, ER と同様に PgR 陽性胃癌の予後は有意に不良であった(Fig. 2).

(3) 胃癌組織内 ER, PgR, リンパ節転移, および組織型と予後の関係: 累積8年生存率は ER, PgR の陽,

Fig. 1 Eight year survival rate in gastric cancer patients according to ER

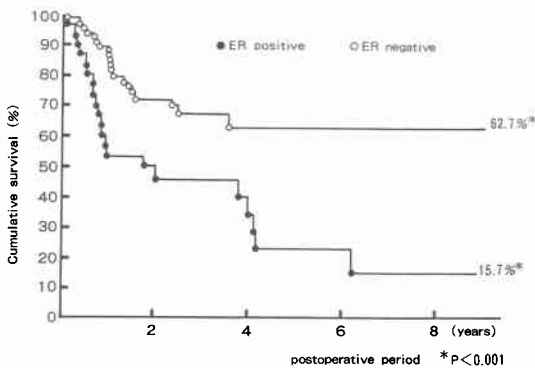


Fig. 2 Eight year survival rate in gastric cancer patients according to PgR

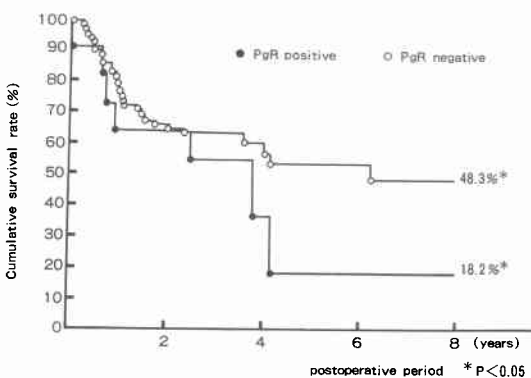


Fig. 3 Relationship between ER stainability and PCNA stainability-

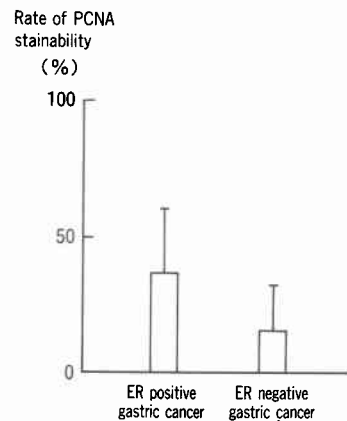


Table 1 Eight year survival rate and ER stainability, PgR stainability, lymph node metastasis and histologic types

| | | cumulative survival rate after 8 years |
|-----------------------|----------------------------|--|
| ER | positive | 15.7% |
| | negative | 62.7% |
| | | $P < 0.001$ |
| PgR | positive | 18.2% |
| | negative | 48.3% |
| | | $P < 0.05$ |
| Lymph node metastasis | positive | 34.9% |
| | negative | 60.9% |
| Histologic type | well differentiated type | 58.2% |
| | poorly differentiated type | 38.7% |

陰性間にのみ有意差が認められ、リンパ節転移有無では陽性例は予後不良であったが有意差はなく、組織型別でも低分化癌に予後不良の傾向を示したが、有意差はなかった (Table 1)。

(4) 胃癌組織内 ER の陽、陰性と c-erbB₂ 蛋白、PCNA との関係：胃癌組織内 ER の有無と c-erbB₂ 蛋白との関係では、ER 陽性例は同陰性例に比し、c-erbB₂ 蛋白発現は少なかった。一方、ER 陽性例では同陰性例に比べ、PCNA 陽性細胞率が高い傾向を認めた (Fig. 3)。

(5) 胃癌内分泌療法成績：組織学的に確かめられたスキルス胃癌内分泌療法群20例の累積5年生存率は40%、コントロール群20例のそれは20%であった。しかし、両群間には有意の差は認められなかった。ER の有無と内分泌療法成績との関係は、ER 陽性胃癌で5年生存率は66.7%、同陰性胃癌では16.7%と、予後の向上をみとめた。一方、ER 陰性胃癌では内分泌療法群で30%、コントロール群では20%と、ER 陽性癌ほど予後の向上はなかった。

考 察

一部の胃癌の増殖に女性ホルモンが関与しているのではないかと以前より考えられてきている。すなわち、胃癌培養細胞に女性ホルモンを投与すると増殖が促進する⁵⁾こと、ヒト胃癌組織に ER、PgR¹²⁾、エストロゲンやプロゲステロンが認められること^{6)~8)}、さらに、胃癌は男性に多いが、スキルス胃癌だけは若年女性に好発する事実⁹⁾などにより、一部の胃癌増殖と女性ホルモンに密接な関連があることが示唆される。胃癌に存在する性ホルモンレセプターが予後に影響するか否かを検討したところ、ER、PgR 陽性胃癌はそれぞれ陰性胃癌に比べ、有意に予後不良であった。ER、PgR のそれぞれの陽陰性群間で、癌の進行度やリンパ節転移度に差は認められなかった。

胃癌組織内の性ホルモンレセプターの働きは未だ明らかではない。ER、PgR の胃癌細胞における局在は乳癌、子宮内膜と同じで、癌細胞の核のみ局在し、周囲の非癌細胞には全く存在しなかった。これらの事実は、胃では癌に伴って ER、PgR が発現したと考えられ、ER と PgR の働きが注目される。

胃癌組織内の ER を dextran coated charcoal (DCC) 法で抽出した教室の¹⁰⁾結果は26例中、5例で陽性であった。ER の結合部位は乳癌と同じであり、胃癌の ER を各種性ホルモンやステロイドホルモンで結合を抑制すると、エストラジオールでのみ特異的に抑制

された。以上より、胃癌組織内の ER も乳癌のそれとほぼ同様の蛋白とみなされる。

現在まで最も研究されている乳癌細胞の ER、PgR の働きにも不明の点が少なくない。内因性エストロゲンが細胞膜を通過し、細胞質で核より来た ER と結合し、核内に入り、ホルモン標的遺伝子の特定の DNA 配列をもつエストロゲン反応部位に結合する。その結果、構造遺伝子の転写の活性化、mRNA の特異的生成がおこり、各種特異的蛋白 (増殖因子およびそのレセプターとプロゲステロンレセプター) を誘導し、腫瘍細胞および非腫瘍性間質細胞双方の増殖をもたらすとの考えが有力である。我々の研究では、胃癌における ER とエストロゲン局在は乳癌と同様であった。乳癌で PgR やプロゲステロンの役割は、現在 ER やエストロゲンよりさらにはっきりした見解はなく、PgR が胃癌内分泌治療の指標になるとされているが、PgR と増殖因子との関係も ER ほど明らかにされていない。

乳癌の増殖因子については、epidermal growth factor (EGF)、transforming growth factor- α (TGF- α) などがある¹¹⁾。したがって、c-erbB₂ 蛋白は EGF と TGF- α との共通のレセプターである EGF レセプターとよく似た構造をもっており、乳癌で組織中の ER や PgR の発現が e-erbB₂ 蛋白の発現と相関するかないか現在研究されている。今回の胃癌の検討では、ER の発現と c-erbB₂ 蛋白発現に相関は認められなかった。胃癌組織中の ER と c-erbB₂ 蛋白の関係をみるよりむしろ、胃癌組織内の ER と fibroblast growth factor (FGF) および同レセプターとの関係が検討するほうが重要であると考えられる。

近年、PCNA は全身性エリテマトーデス患者の増殖細胞の核とのみ反応する血中自己抗体として見出された抗体で、G₁後期からS期に合成され、DNA polymerase- δ の補助蛋白であり、DNA 合成と深くかわり、この陽性率は腫瘍細胞の増殖率と関連性があると考えられている。今回、ER 陽性胃癌で PCNA 陽性率が ER 陰性胃癌に比べ高く、この事実は ER 陽性胃癌の方が細胞の増殖率が高いことを示し、ER 陽性胃癌の予後不良の一因と考えられた。

Borrmann IV 型胃癌やスキルス胃癌に対する Tamoxifen を用いた内分泌化学療法の有効性 (有意差はないが) を北岡¹²⁾や我々は報告している。今回注目されたのは予後不良の ER 陽性胃癌に予後の改善が認められたことである。Tamoxifen 単独では、胃癌患者血中のエストロゲンが多い時治療効果が少ないと考えら

れ, さらに内分泌療法の効果を上げるには, ヒト内因性エストロゲンを特異的に低下させる薬物治療との併用が必要かもしれない。

胃癌組織内 ER, PgR は予後因子として有用であった。ER, PgR 陽性胃癌が何故予後不良になるかは今回の検討では不明であった。予後不良の機序を解明するためには, ER, PgR の有無と増殖因子, 増殖因子のレセプターの陽性率との関係や腫瘍細胞の増殖能との関係を検討する必要がある。Tamoxifen を用いる胃癌の内分泌療法は, 予後不良である ER 陽性胃癌の補助療法に対する有用性が示唆された。

文 献

- 1) Matsui M, Kojima O, Kawakami S et al: Patients with gastric cancer possessing sex hormone had poor prognosis. *Jpn J Surg* 22: 421-425, 1992
- 2) Greene GL, Nolan C, Engler JP et al: Monoclonal antibodies to human estrogen receptor. *Natl Acad Sci USA* 77: 5115-5119, 1980
- 3) Kojima O, Takahashi T, Kawakami S et al: Localization of estrogen receptor in gastric cancer-using immunohistochemical staining of monoclonal antibody. *Cancer* 67: 2401-2405, 1991
- 4) Perrot-Applanat M, Groyer-Picard MT, Lorenzo F et al: Immunocytochemical study with monoclonal antibodies to progesteron receptor in human breast Tumors. *Cancer Res* 47: 2652-2661, 1987
- 5) Harrison JD, Bsc W, Morris DL: The effect of sex hormones and tamoxifen on the growth of human gastric and colorectal cancer cell lines. *Cancer* 63: 2148-2151, 1989
- 6) 上原泰夫, 小島 治, 間島 孝ほか: スキルス胃癌における内因性 estrogen 局在の検索の試み—酵素抗体法を用いて. *日消外会誌* 18: 726, 1985
- 7) Uehara Y, Takahashi T, Kojima O et al: Peroxidase-antiperoxidase staining in scirrhus type of gastric cancer: Possible existence of estrogen receptor. *Jpn J Surg* 16: 245-249, 1986
- 8) Uehara Y, Takahashi T, Kojima O et al: Endogenous estrogen and progesteron in carcinoma of the stomach. *J Exp Clin Cancer Res* 6: 97-102, 1987
- 9) 松井道宣, 小島 治, 川上定男ほか: 女性胃癌の更年期前後における臨床病理学的特徴. *日消外会誌* 23: 705-708, 1990
- 10) Matsui M, Kojima O, Uehara Y et al: Characterization of estrogen receptor in human gastric cancer. *Cancer* 68: 305-308, 1991
- 11) Dickson RB, Huff KK, Spencer EM et al: Induction of epidermal growth factor-related polypeptide by 17- estradiol in MCF-7 human breast cancer cells. *Endocrinology* 118: 138-142, 1983
- 12) 北岡久三: Borrmann 4 型胃癌の集学的治療, 私のプロトコール, 手術+内分泌化学療法. *臨外* 41: 205-208, 1986

Prognostic Factor of Gastric Carcinoma-Usefulness for Prognostic Factor and Improvement of Prognosis in Patients with Gastric Cancer

Osamu Kojima, Yuuji Yoshioka, Hiroshi Minato, Ryouji Iiduka, Eigo Otsuji, Masataka Shimotsuma, Hiroki Taniguchi, Akeo Hagiwara, Tetsuro Yamane, Toshiharu Yamaguchi, Seiji Sawai and Toshio Takahashi

First Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

In this study, we examined the association of estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PgR) with the prognosis of 90 advanced gastric cancer patients and clinicopathological variables. Furthermore, we investigated whether endocrine therapy was effective for gastric cancer. ER and PgR were immunohistologically investigated in 90 advanced gastric cancer patients who underwent curative resection. The cumulative 8-year survival rate was 62.7% in the ER-negative patients and 15.7% in the ER-positive patients, the difference being significant. A significant difference between the PgR status and 8-year survival rate was also observed. The ER-positive cancers showed a higher rate of proliferating cell nuclear antigen-positive cells than those of ER-negative cancers. In the scirrhus type of gastric cancer, patients with administration of tamoxifen had a better prognosis than those without tamoxifen. In conclusion, the present data suggest that ER and PgR in gastric cancer tissues are useful prognostic parameters for gastric cancer, and endocrine therapy might be an effective treatment for ER-positive cancer.

Reprint requests: Osamu Kojima First Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine
465 Kajiicho, Kawaramachi, Kamigyo-ku, Kyoto, 602 JAPAN