日消外会誌　27（3）：725～734，1994年

会長講演

胃癌・大腸癌の発育進展―教室15年の歩み―

大阪医科大学一般・消化器外科
岡　島　邦　雄

胃癌・大腸癌の発育・進展を検索し次の結論を得た．

1．癌組織中のcollagenとcollagenase活性の検索によりスキルス胃癌の成因は癌細胞と線維芽細胞により産生されるcollagenaseの活性が低分化型癌の進展先進部において著明に上昇し，この部の膠原線維が破壊され，そのあとに癌細胞が浸潤し，さらにcollagen合成が促進され特徴的なスキルスとなる．

2．癌組織を分子生物学的に検索し，癌の発育進展を考察し，増殖因子―受容体系の異常発現や癌遺伝子の異常発現が癌進展に関与するという結果，すなわち限局性発育はEGF，c-myc，c-erb B2が関与し，浸潤性発育にはTGF-βが，リンパ節転移にはc-myc，PCNAが，血行性転移にはEGF，c-myc，c-erbB2が，腹膜播種にはTGF-βが関与する．また，癌対宿主のinteractionの因子としては宿主の免疫応答に直結してHLA抗原が癌の進展に関与し，HLA抗原の発現が軽度な場合は特に癌が進展しやすいという結果を得た（escape theory）．

これらの研究結果は直ちに臨床上に応用しうる有用なものと考える．

Key words：growth and advancement of cancer，collagenase activity and collagen synthesis in cancer，scirrhus cancer of stomach，genetic aspect of cancer，expression of HLA antigen of cancer

はじめに

胃癌の外科治療の3大原則は広範囲切除，拡大郭清，循環遮断であり，従来はこれに則る拡大手術が画一的に行われてきた．その術式は癌の発育，進展を考慮した治療法として基本的には妥当なものと思われてきたが，外科医は個々の癌側の癌の進展状況を認識して治療に当たることが肝要と考え，まず外科手術材料を用いて癌進展を病理組織学的に検索してきた．はじめはリンパ節転移の特徴を求めたのであるが，これらの転移は主病巣の癌組織の影響が強いため，主癌巣の検索に入った．

胃癌の組織像は分化型から低分化型に至るまで多彩な像を示すが，その組織像は癌胞巣と間質の相関により規定され，それが癌巣の発育様式すなわち膨張性発育あるいは浸潤性発育として表現されると考えた．癌胞巣と間質が混在し例えば癌細胞がsingle cell様に分散し，その間に間質が混在している像は浸潤性発育の所見であり，塊状の癌細胞の周囲を間質がとりまく像は膨張性発育の所見と考える．古くから，悪性腫瘍をめぐる研究のなかで発育増殖の研究も数多く行われているが，発育増殖の検索には腫瘍細胞のみでなく，間質の役割もないがしろにしてはならないことが認識され，その検索により，間質は腫瘍の増殖に促進的に働くとすると考えと，barrierとして働くと考する考えがみられる．

教室では間質とくに線維性間質の変化をとりあげ，線維性間質の1つであるcollagenを特異的に分解するcollagenaseの動態と癌の発育増殖の関係に注目して検索をはじめた．

さらにヒト胃癌由来細胞株の培養実験においてcollagenaseの動態とcollagbn増生の関係を検索し，その両者の相関から癌の発育進展とくにスキルス胃癌の成因を考察した．

ついで近年，癌についての分子生物学的研究が進み癌の発生，増殖，進展には多種の癌遺伝子，癌抑制遺伝子の変化と，多くの増殖因子・受容体系の異常発現が関与することが知られるようになり，さらに癌の発育・進展の場における宿主側の特異的免疫応答の主役

＊第42回日消外会総会
＜1993年11月1日受理＞
別刷請求先：岡島　邦雄
〒569　高槻市大学町2―7　大阪医科大学一般・消化器外科

である T cell と T cell が癌細胞を認識するに必要な human leucocyte associate antigen（以下，HLA と略記）の発現が必要であるという観点からこれら癌の生物学的特性の研究を行い胃癌，大腸癌の発育進展を考察してきた．本稿ではこれら一連の教室研究の経過と結果について研究途上ではあるが，報告する．

I. 胃癌組織中の collagen，collagenase 活性の検索とスキルス胃癌の成因

腫瘍組織中の collagenase 活性の測定：^{14}C-glycin 標識基質 collagen より gel 状の再生 collagen を作製し，これと胃癌新鮮組織片をともに組織培養し，得られた培養上清の分画を液体 scintillation counter で^{14}C 値を測定し，これを collagenase 活性値とする実験方法にて検索した．

胃癌組織には collagenase の活性が胃癌の組織型によっても異なることが知られ，さらに非癌胃（潰瘍胃など）組織よりも collagenase 活性が高いことを知った．しかも組織中の各部位（癌巣中心部，癌巣内癌進展先進部，癌巣隣接非癌部胃壁内）の collagenase 活性はそれぞれ異なることを知った．すなわち低分化型癌（低分化腺癌，印鑑細胞癌，粘液癌）は高分化型癌（乳頭腺癌，管状腺癌）より高値を示し（**Fig. 1**），また癌巣内では癌進展先進部は癌巣中心部より高値を示す．さらにその癌巣隣接部でも非癌胃（潰瘍胃など）よりも collagenase 活性は高値を示す（**Fig. 2**）．この所見は，低分化型癌に著明であり，とくにスキルス胃癌に強くみられることを知った[1]．

スキルス胃癌は線維性間質の増生（collagen の増生）が特徴であるから collagen と collagenase の動態をみることによってスキルス胃癌の成因の一部が解明しうると考え，酵素抗体法を用いて collagenase 陽性細胞の胃癌組織中の局在と出現頻度を検討した結果，癌巣内の胃癌細胞と線維芽細胞に collagenase の局在がみられ，さらに肉眼分類の浸潤型（3，4型）は限局型（1，2型）より高頻度に出現し，また collagenase 局在細胞は癌巣中心部より進展先進部に多くみられるという結果を得た[2]（**Table 1**）．

これを実験的に明らかにするため，ヒト胃癌由来細

Fig. 1　Collagenase activity in the cancerous tissue according to the histological classification

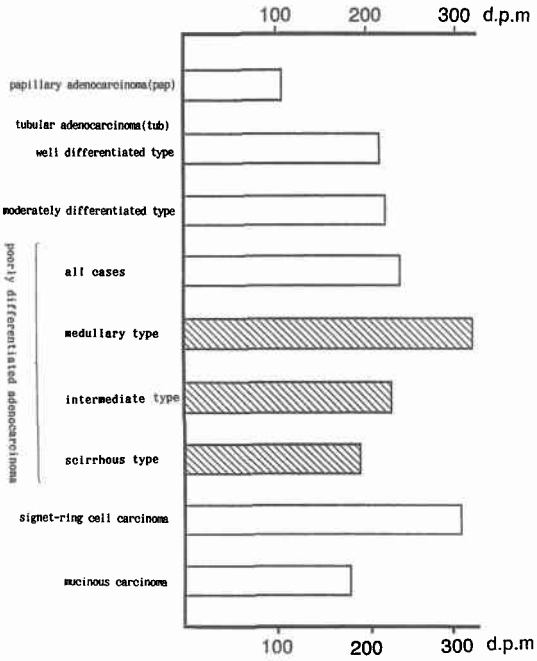


Fig. 2　Collagenase activity in the gastric cancer

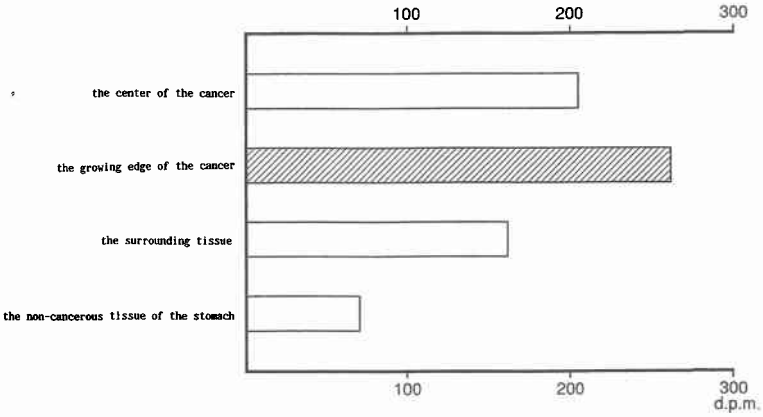
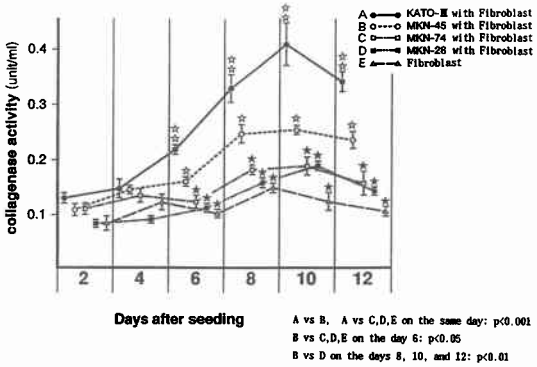


Table 1 Macroscopic classification and the rate of collagenase positive cells

	Localized type	Infiltrative type
Cancerous cell	31.6%	62.5%
Fibloblast	42.1%	60.2%

Fig. 3 Collagenase activity in the mixed culture of gastric cancer cells and fibroblasts and the culture of fibroblasts



胞株および線維芽細胞の混合培養における培養液中の collagenase 活性を検討した[3] (**Fig. 3**).

この場合の collagenase 活性は fluorescein isothiocyanate 標識 collagen を基質とする collagenase 微量測定法（コラゲノキット CLN-100, 高研究（株）製造）によって測定した.

胃癌細胞と線維芽細胞の混合培養においてはヒト印鑑細胞癌由来の KATO-III 株, 髄様型低分化腺癌由来の MKN-45株は中間型の高分化型腺癌由来の MKN-74株, MKN-28株より有意に collagenase 活性が高値であり, さらにこの高値を示す時期は cell cycle からみて S 期に相当することが判明した.

つぎに, KATO-III 株および MKN-28を同調培養し, それぞれの胃癌細胞の cell cycle 各期における collagen 代謝を調べ, さらに胃癌細胞の cell cycle 各期の conditioned medium（胃癌細胞を一定期間培養した培養液）が線維芽細胞のコラーゲン代謝に及ぼす影響を検討した[4] (**Fig. 4**). その結果 KATO-III 株の S 期の conditioned medium を線維芽細胞培養液中に加えた場合は control 群（線維芽細胞単独培養）より有意に高い collagen の形成（hydrooxyproline 量として表示）がみられたが, 他の conditioned medium を用いた場合は control との間に有意差は認めなかった.

Fig. 4 Collagen synthesis of fibroblasts according to the conditioned medium in each phase of the cell cycle

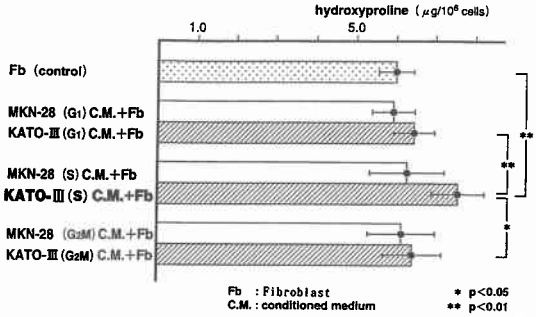
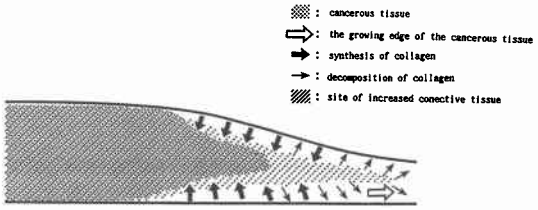


Fig. 5 The mechanism of growth and advancement of the scirrhous cancer of stomach



なおこの場合線維芽細胞の培養液を癌細胞株系に加えても有意なコラーゲン合成の促進作用は認めなかった.

以上の結果をスキルス胃癌の形成機序にあてはめて考察してみれば, 次のごとくなる. すなわちスキルス胃癌では癌組織中の進展先進部で collagenase 活性が著明に上昇し, その部の膠原線維が強く破壊され, そのあとに癌細胞の浸潤が加わり, さらに線維芽細胞による collagen の合成が促進され, 癌細胞の浸潤性増殖とびまん性に広がる結合組織の増生をみる特徴的なスキルス胃癌の組織構成が形成されるものと考える (**Fig. 5**).

II. 癌の発育進展に関する生物学的特性の研究

近年, 癌の発育進展に関して分子病理学的アプローチにより癌の生物学的特性を求める研究が急速に進み種々な報告がみられる. 教室においても癌の発育・進展を癌細胞側因子と宿主側因子の両面から検討した.

1. 癌細胞側因子の検討

胃癌には多種の癌遺伝子の変化がみられるとともにそのリガンドである増殖因子の受容体系の過剰発現もあらわれる[5]. また, cell cycle の面から増殖期の細胞比を求めることは癌の増殖・発育の一面をあらわすも

のと考え，各項目を検討した．

1）増殖因子・受容体系の検討

a．EGF

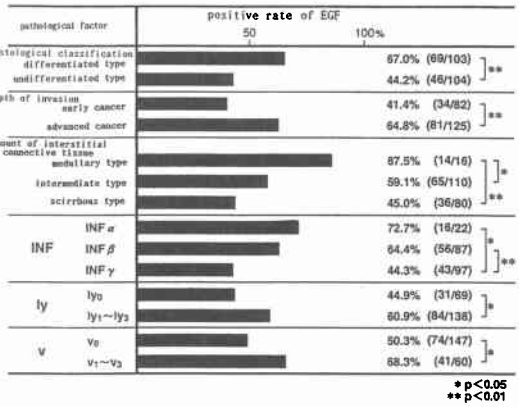
Epidermal growth factor（以下，EGF と略記）はそのレセプターである epidermal growth factor receptor（以下，EGFR と略記）を介して細胞の増殖・分化に影響を及ぼす増殖因子の1つといわれている．胃癌組織中の EGF 陽性細胞の発現の有無と胃癌の組織所見，遠隔成績，進行度，再発形式との関連を検討した．EGF 活性発現の検索はパラフィン包埋ブロックを用い，間接酵素抗体法による免疫組織化学染色にて行った．判定は陽性癌細胞の発現頻度が10%以上を陽性，10%未満を陰性とした．

EGF 発現状態と臨床病学的諸因子の検討結果は **Fig. 6** に示す．すなわち組織型では分化型癌が低分化型癌に比べ，深達度は進行癌が早期癌に比べ，間質量は髄様型が中間型，硬性型に比べ，浸潤増殖様式は α，β 型が γ 型に比べ有意に高率にみられ，脈管侵襲陽性のものは陰性のものより有意に高率である．

遠隔成績を累積生存率にて組織型，深達度別に EGF 陽性と陰性別に比較すると（**Fig. 7**），分化型癌・進行癌では EGF 陽性群が陰性群に比べ有意に低率である．低分化型癌では EGF 陽性，陰性両群に差はみられなかった．

stage 別に累積生存率を比較すると stage II において EGF 陽性群は陰性群に比べ有意に低い生存率を示したが，stage I, III, IV では生存率に有意差はみられなかった．

Fig. 6　Positive rate of EGF according to pathological factor (no significant difference in n, H, and P)



再発の有無と再発形式別に EGF 発現状態をみると（**Fig. 8**），再発群は非再発群に比べ EGF 陽性率はやや高率であるが，有意差はみられなかった（64.1%，51.3%）．しかし再発形式では血行性再発群の EGF 陽性率（83.3%）は腹膜再発群（51.4%）より有意（$p<0.01$）に高率にみられた．また，組織型別に再発の有無を比較すると分化型の再発例（94.7%）は非再発例（58.9%）に比べ有意（$p<0.01$）に高率であった．低分化型では EGF 陽性と再発，非再発に相関はみられ

Fig. 7　Cumulative survival rate according to histological classification and the depth of invasion with or without EGF expression

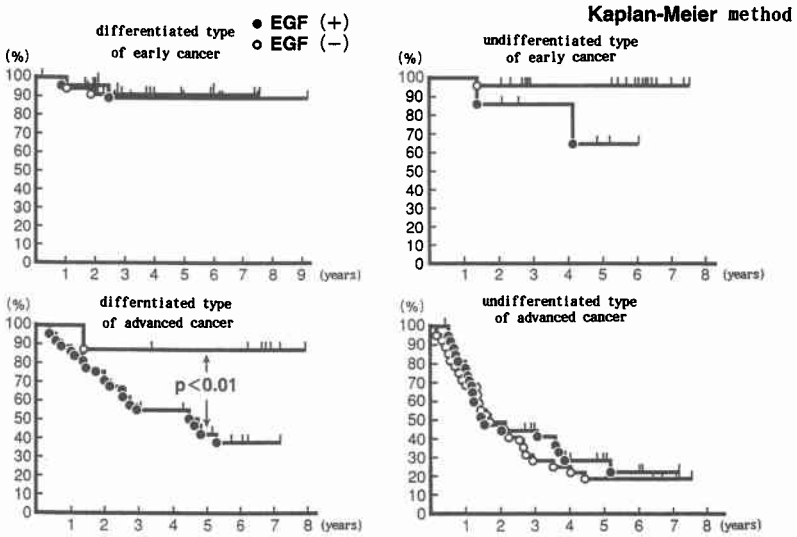
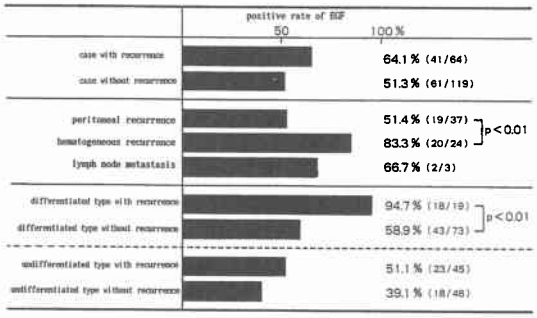


Fig. 8 Positive rate of EGF according to the cancerous recurrence and its type of recurrence



なかった．

以上よりEGFは血行性転移を規定する因子の1つと考えられることから，術前生検組織のEGFの発現状態を検索し，これが陽性であれば，血行性再発特に肝再発に留意すべきであると考える．すなわちEGFの検索は肝再発のhigh risk群を術前にcheckすることができ，この情報のもとに術中肝再発の予防処置，例えば肝動脈あるいは門脈内挿管による制癌剤注入により，肝再発防止に有効な処置が行えるものと考える．

b. TGF-β

癌細胞にはEGF，TGF-αのごとく細胞増殖に正に作用するものと，細胞増殖を抑制する負の増殖因子TGF-βを発現している．また，TGF-βは癌細胞周囲の線維芽細胞にパラクリン的に作用し，collagen合成を促し，スキルス胃癌の発育・進展にも重要な役割を果たすといわれている．

われわれは切除胃癌のTGF-βの発現状態と胃癌組織の臨床病理学的諸因子を検討し，胃癌の発育・進展におけるTGF-βの意義を考察した．

TGF-βの検索は切除標本のパラフィン包埋ブロックを用い，間接酵素抗体法による免疫組織化学染色にて行った．TGF-β陽性の判定は癌進展先進部における染色陽性細胞の発現頻度が10%以上のものを陽性と判定し，検討例中の陽性頻度をTGF-β陽性率とした．

胃癌組織の臨床病理学的諸因子別にTGF-β陽性率を比較検討した（**Fig. 9**）．壁深達度では進行癌（61.8%）が早期癌（11.1%）に比べ，組織型では低分化型癌（59.3%）が分化型癌（33.3%）に比べ，間質量では硬性型（64.3%）が中間型（29.2%）に比べ，有意に高い陽性率を示した．しかし浸潤増殖因子，リンパ節転移，脈管侵襲の差はみられなかった．

つぎに遠隔成績を組織学的に治癒切除しえた予後的

Fig. 9 Positive rate of TGF-β according to the pathological factors (no significant difference in n, ly, and v)

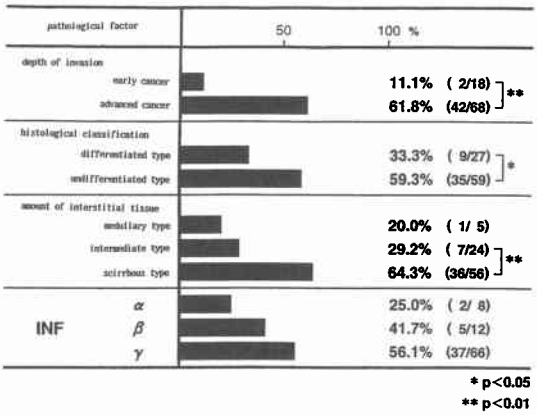
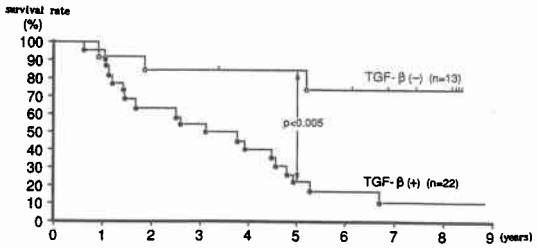


Fig. 10 Survival rate of gastric cancer with prognostic serosal invasion undergone the histologically curative resection with or without TGF-β expression.



漿膜侵襲陽性（ps(＋)）例についてみると（**Fig. 10**），TGF-β陽性群は陰性群に比べ，有意に低率である．

さらに組織学的治癒切除しえた低分化型癌で深達度がps(＋)，間質量が硬性型の症例について腹膜再発の有無をみると，TGF-β陽性率は腹膜再発例87.5%（14/16），非再発例23.1%（3/13）であり，有意（$p<0.01$）にTGF-β陽性例は腹膜再発率が高値である．

以上の結果より，TGF-βは腹膜再発規定因子と考え，術前生検組織の検索でTGF-βが陽性であれば，治癒切除しえた進行癌に対しても腹膜再発のhigh riskと考え腹膜再発の予防的処置，例えば腹腔内温熱化学療法やマイトマイシン吸着微粒子活性炭の腹腔内散布などを行う必要がある．

2）癌遺伝子，遺伝子産物の検討

遺伝子の面からヒト発癌機構も研究され，さらに多くの遺伝子異常の組合わせが癌の発育・進展に関与することが示されている．我々もこれら癌遺伝子異常に

ついて検索を進めた．

a．c-myc

c-myc は細胞増殖に関与する重要な癌遺伝子の1つであり，この遺伝子産物である c-myc 蛋白は DNA 結合能をもつ核内蛋白として知られている．胃癌組織中において c-myc 蛋白の発現状態を検索し，臨床病理学的諸因子と比較し，胃癌の発育・進展における c-myc 蛋白の臨床的意義を検討した．

c-myc 蛋白の発現は間接酵素抗体法による免疫組織化学染色により観察した．判定は免疫染色陽性の癌細胞数が10%以上を陽性，10%未満を陰性とした．c-myc 蛋白の発現は核および細胞質にみられた．

胃癌組織中の c-myc 蛋白陽性例の占める割合は組織型では分化型癌59.6%，低分化型癌38.0%であり，分化型癌が低分化型癌に比べ有意に高率（$p<0.01$）であった．早期癌，進行癌の別では早期癌38.0%，進行癌53.0%で進行癌が有意（$p<0.05$）に高率であった．リンパ筋転移では n(−) 38.3%，n(+) 55.3%（$p<0.05$）であり，リンパ管侵襲では ly(−)31.3%，ly(+) 53.1%（$p<0.01$）であり，リンパ節転移陽性例，リンパ管侵襲陽性例では陰性例に比べ有意に高率であった（**Fig. 11**）．

Fig. 11　Positive rate of c-myc protein according to pathological factors (the overall positive rate of c-myc protein in gastric cancer was 47.7%.)

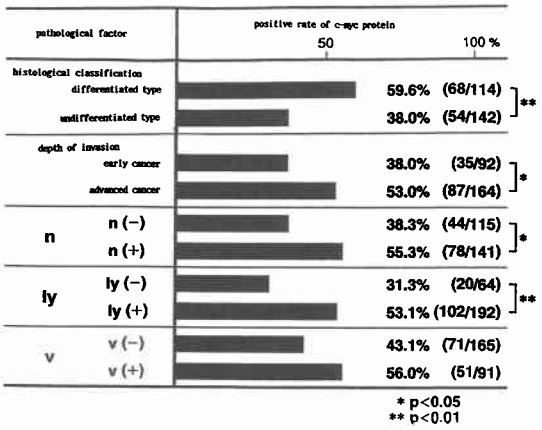
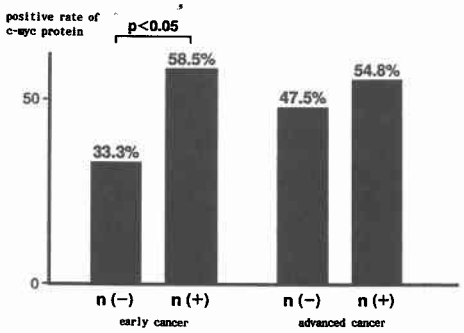


Fig. 12　Positive rate of c-myc protein according to lymph node metasis



つぎにリンパ節転移と c-myc 蛋白陽性率の関連を早期癌と進行癌のそれぞれについてみると（**Fig. 12**），早期癌では n(−) 33.3%（25/75），n(+) 58.5%（10/17）であり，n(+) 群が有意（$p<0.05$）に高率であった．進行癌においては n(−) 47.5%（19/40），n(+) 54.8%（68/124）であり，有意差は認めなかった．

c-myc 蛋白の発現状況を検索することは早期癌のリンパ節転移の有無を予測する1指標となると考えられ，術前，生検組織の c-myc 検索の結果は縮小手術選択の指標であると考える．

以上より c-myc 蛋白の異常発現は分化型癌に関与し，胃癌の壁深達度，リンパ節転移に関わる重要な遺伝子産物と考える．

b．c-erb B2

c-erb B2遺伝子は EGFR と極めて相同性の高い細胞膜レセプター型癌遺伝子で腺癌に特異的に増幅がみられるものである．

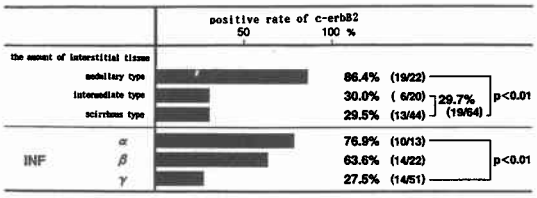
c-erb B2蛋白の検索方法は切除標本のパラフィン包埋ブロックを用い，間接酵素抗体法による免疫組織化学染色にて行った．c-erb B2蛋白陽性の判定は染色陽性細胞の発現頻度が全癌細胞の10%以上のものを陽性と判定し，検索症例中陽性例の頻度を c-erb B2蛋白陽性率とした．

胃癌組織の臨床病理学的諸因子別に c-erb B2蛋白陽性率をみると組織型では分化型癌74.0%（54/73），低分化型癌36.9%（48/130）であり，分化型癌が有意（$p<0.01$）に高率である．深達度では早期癌42.2%（27/64），進行癌，54.0%（75/139），リンパ節転移では n(−) 40.7%（35/86），n(+) 57.3%（67/117）であり，いずれも有意差は認めなかった．

さらに低分化型癌のみをとりあげ，間質結合織と浸潤増殖様式についてみると，間質量では髄様型86.4%は中間型（30.0%），硬性型（29.5%）より有意（$p<0.01$）に髄様型が高率であり，浸潤増殖様式では α 型76.9%，β 型63.6%，γ 27.5%であり，α 型は γ 型に比べ有意（$p<0.01$）に高率である（**Fig. 13**）．

絶対非治癒切除例を除く症例において stage 別に c-erb B2蛋白発現状況から累積生存率を Kaplan-

Fig. 13 Positive rate of c-erbB-2 in undifferentiated type according to the amount of interstitial tissue and INF



Meier 法でみると5生率は stage II において c-erb B2 蛋白(−) 100%, c-erb B2蛋白(+) 40%で有意 ($p<0.01$) に c-erb B2蛋白陰性例の生存率が高率であったが, 他の stage I, III, IV では差はみられなかった. これは前述の増殖因子 EGF とほぼ同様の結果を示すものである.

c. 増殖期細胞比率

増殖期細胞比率をあらわすものに proliferating cell nuclear antigen(以下, PCNA と略記)がある. PCNA は DNA polymerase δ の補助蛋白であり, 細胞周期 G_1後期から S 期にかけて細胞核内に蓄積するといわれている.

我々は胃癌組織中の PCNA 発現状況を検索し, 臨床病理学的諸因子と比較し, 胃癌の発育・進展における意義を検討した.

PCNA 発現は間接酵素抗体法による免疫組織化学染色にて行った. 判定は癌進展先進部の癌細胞500個以上を数え, その中の陽性細胞数により陽性率を算出した.

臨床病理学的因子別に検討すると組織型では分化型 32.4±19.1%, 低分化型36.3±23.1%で有意差はなく, 深達度では早期癌20.3±13.5%, 進行癌51.4±15.8%で進行癌に有意 ($p<0.01$) に高率である. リンパ節転移では n(−) 21.4±17.9%, n(+) 47.6±15.4%で n(+) に有意 ($p<0.01$) に高率であり, リンパ管侵襲では ly(−) 19.1±14.9%, ly(+) 43.5±19.2%で ly(+) に有意 ($p<0.01$) に高率であり, 静脈侵襲では v(−) 30.0±22.0%, V(+) 45.8±13.7%で有意 ($p<0.01$) に V(+) が高率である (**Fig. 14**).

壁深達度を早期癌と進行癌に分け, PCNA 陽性細胞率とリンパ節転移の関係を検討すると (**Fig. 15**), PCNA 陽性細胞率は早期癌において n(−), 14.7±9.1%, n(+) 36.9±10.2%で有意 ($p<0.01$) に n(+) 群に高率である. しかし, 進行癌では n(−) 50.5±18.5%, n(+) 51.7±15.2%で, 有意差はない. このことは PCNA は早期癌においてリンパ節転移を規定する因子の1つと考えられるから, 術前生検組織における PCNA の結果は早期癌縮小手術の適応の1指標となると考える.

Fig. 14 Positive rate of PCNA according to pathological factors (The average of positive rate was 34.4%±21.2%)

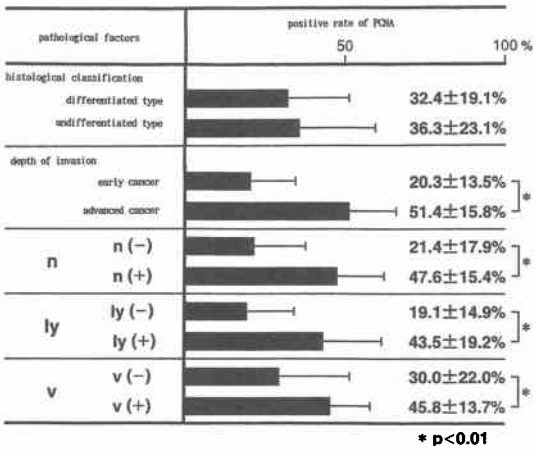
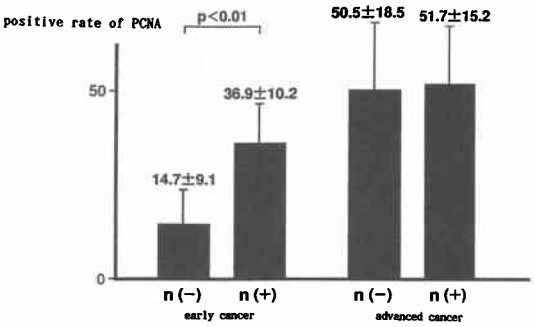


Fig. 15 Positive rate of PCNA according to lymph node metastasis



なお, PCNA 陽性細胞率を20%以上と20%未満に分け, リンパ節転移の有無をみると, PCNA 陽性細胞率20%以上の症例中のリンパ節転移陽性例 (PCNA のリンパ節転移陽性的中度) は55.3%, 20%未満群ではリンパ節転移陰性例 (陰性的中率) は100%であった.

2. 宿主側因子, 癌対宿主の interaction

癌の発育進展における宿主側因子を考察する場合, まず宿主の癌に対する免疫応答が重要である. 免疫応答は NK cell のように癌細胞を非特異的に攻撃する場合と T cell のように癌細胞を認識して特異的に攻

撃する場合があるが，癌免疫の主役は後者，T cell 系の特異的免疫応答である．

この場合，免疫担当細胞が癌細胞を認識するためには癌細胞の膜表面に腫瘍抗原とともに HLA 抗原の発現が必要である．

癌に対する免疫応答は T cell による（major histocompatibility complex（以下，MHC と略記）拘束型の免疫応答が主体をなすため，免疫応答の観点から癌の発育・進展を論ずるとき，“HLA 抗原の発現が減弱した癌は宿主の免疫応答から escape し，進展しやすい”という理論が考えられる．われわれはこれを HLA 抗原の loss による“escape theory”と呼んでいる．なお，HLA 抗原は Class I, II, III に亜分類され，Class I 抗原の ABC 抗原が cytotoxic T cell の，Class II 抗原の DR 抗原が helper T cell の細胞認識に関連するといわれている．

われわれはこの“escape theory”が消化器癌の臨床例で成立するか否か検討したいと考え，次の 3 項目について検索した．すなわち消化器癌の HLA 抗原発現状態と，①癌の進展程度との関連をみる，②免疫応答の effector である腫瘍浸潤リンパ球（tumor infiltrating lymphocyte：以下 TIL と略記）との関連をみる，③癌手術後の再発との関連を prospective にみる，の 3 点である．この研究は大腸癌症例について検討した．

HLA 抗原発現状態の検索は間接酵素抗体法による，免疫組織化学染色にて行った．この場合，Class I 抗原には 1 次抗体に抗 HLA-ABC モノクローナル抗体（W6/32）を用い，Class II 抗原には 1 次抗体に抗 HLA-DR モノクローナル抗体（L243）を用いた．判定は発色細胞の出現頻度で行い％で表示した．

正常大腸上皮と大腸癌の HLA 抗原発現状態を比較し，大腸癌の ABC 抗原，DR 抗原発現状態を以下のように分類した．ABC 抗原発現状態は90％を境とし，90％以上を陽性，90％未満を減弱とした．検索大腸癌の ABC 抗原陽性例は75％(72/96)，減弱例は25％(24/96)であった．DR 抗原発現状態は30％を境とし，30％以上を高度発現，30％未満を軽度発現とした．DR 抗原高度発現症例は26％（25/96），軽度発現例は74％（71/96）であった．

この様に検索した大腸癌の HLA 発現状態を臨床病理学的因子と比較した．

まず HLA-ABC 抗原との関連である（**Fig. 16**）．壁深達度では m～pm までのものより ss 以上深達した

Fig. 16 Expression of the HLA-ABC antigen in the primary lesion of the cancer of large intestine according to the clinicopathological factors

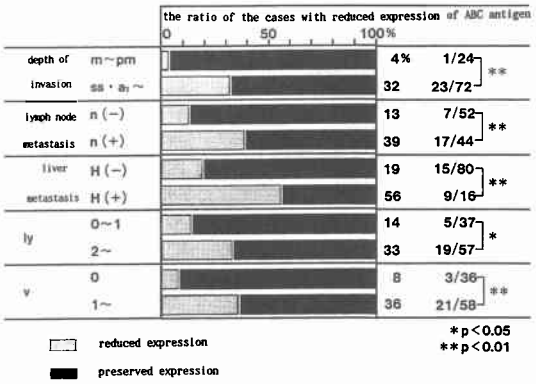
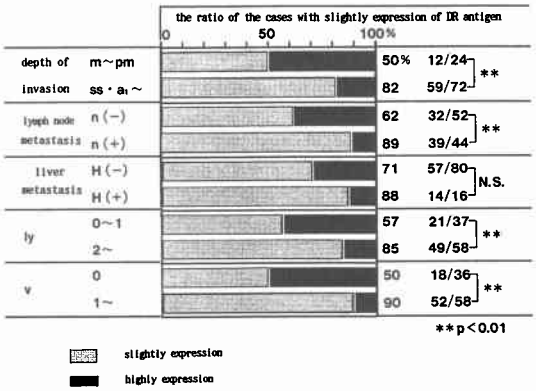


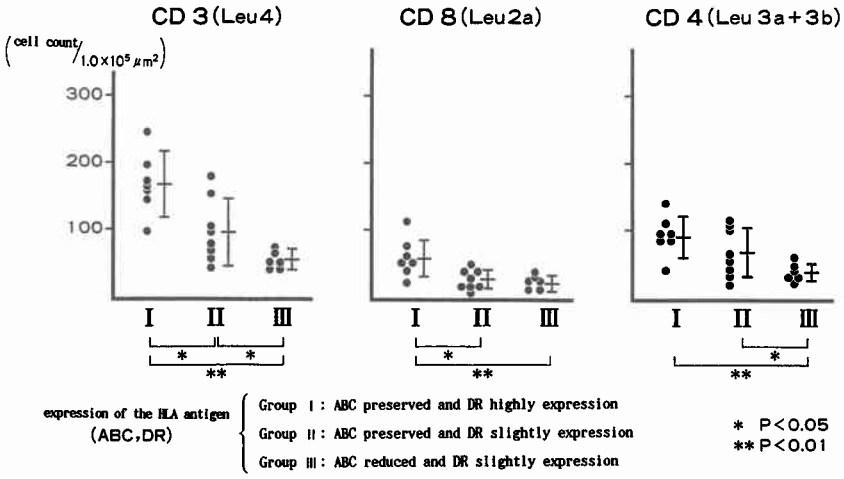
Fig. 17 Expression of the HLA-DR antigen in the primary lesion of the cancer of large intestine according to the clinicopathological factors



ものは減弱例が有意（$p<0.01$）に高率である（32％，4％）．リンパ節転移では n(−)13％，n(+)39％，肝転移では H(−) 19％，H(+) 56％，リンパ管侵襲では $ly_{0\sim1}$ 14％，$ly_{2,3}$ 33％，，静脈侵襲では V_0 8％，$V_{1\sim}$ 36％でありいずれも有意の関連を認めた．すなわち ABC 抗原の減弱した大腸癌は有意に壁深達度が深く，脈管侵襲が高度で転移も高率にみられた．

つぎに DR 抗原軽度発現例の占める割合をみると壁深達度では m～pm 50％，ss a_1～82％，リンパ節転移では n(−)62％，n(+)89％，肝転移では H(−)71％，H(+) 88％，$ly_{0,1}$ 57％，$ly_{2,3}$ 85％，静脈侵襲では V_0 50％，$V_{1\sim}$ 90％であり，肝転移以外は有意の関連を認めた（**Fig. 17**）．すなわち DR 抗原の発現が軽度な癌は有意に壁深達度が深く，脈管侵襲も高度で，リンパ節

Fig. 18 Correlation of the expression of the HLA antigen in the large intestine and TIL



転移も高率にみられた．

以上より HLA 抗原発現が軽度な大腸癌は進展しやすいという escape theory の第 1 の検討項目は成立したと考える．

次は第 2 番目の検討項目である TIL と HLA 抗原発現状態との関連である．

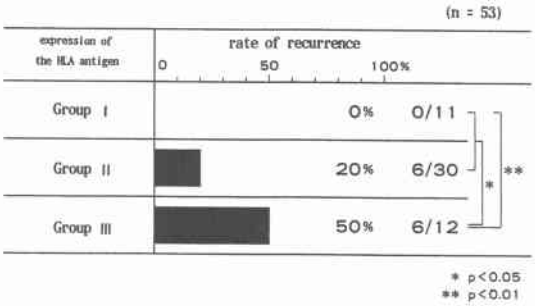
TIL は pan T cell(CD 3)，helper /inducer T cell (CD 4)，cytotoxic/suppressor T cell(CD 8) を検索した．検索方法はそれぞれのモノクローナル抗体(MoAb)を用いた間接酵素抗体法で免疫組織化学染色を行い，染色された TIL を objective micrometer を用い，光学顕微鏡下に算定し，これらの数値を単位面積($1.0\times10^5\mu m^2$)あたりの各リンパ球サブセットの陽性細胞数として定量的に表現した．

また，大腸癌症例の ABC 抗原と DR 抗原の発現状態を組合せ，次のグループに分けた．すなわち，第 I 群：ABC 抗原が陽性でかつ DR 抗原も高度に発現しているもの．第 II 群：ABC 抗原が陽性で DR 抗原は軽度発現のもの．第III群：ABC 抗原が減弱し，DR 抗原も軽度発現の 3 群である．

以上の HLA 発現状態の各群においての TIL の状態をみると(**Fig. 18**)，CD3陽性細胞数は第 I 群で多く第III群で少ないという結果である．CD8, CD4においても同様に ABC 抗原が陽性で DR 抗原も高度に発現している第 I 群に多く，この逆の第III群で少ないという有意差を認めた．

以上，HLA 抗原発現が軽度な癌では TIL が少ないという結果は escape theory の第 2 の問題点もクリアーしたと考える．

Fig. 19 Correlation of expression of the HLA antigen and recurrence in the cases of Dukes B and C



次は再発に関する検討である (**Fig. 19**)．

HLA 抗原発現状態を検索した症例を follow up し，再発との関係を prospective に検討した．検討対象は Dukes B，C 症例で治癒切除され術後 1 年以上経過した症例である．再発率は I 群 0 %，II 群20%，III群50%であり，ABC 抗原減弱，DR 抗原軽度発現群の再発率は有意に高率である．このことは HLA 抗原発現が軽度な癌は再発が多く，escape theory は成立したことを示すと考える．

以上，大腸癌では HLA 抗原は免疫系を介して癌の進展に関与していると考える．

また，HLA 抗原発現状態の検索は術後再発の予測

という臨床応用に有用であるのみならず，術前生検組織でのHLA抗原発現状態の検索が可能になれば，術式決定の指針になるという治療面への応用も期待される．

文　献

1) 三村哲重：悪性腫瘍とcollagenase．第2編．胃癌の進展とcollagenase活性．岡山医会誌　89：1165—1176，1977
2) 植田直樹：胃癌の進展とこれに関与するcollagenaseの研究—酵素抗体法による胃癌組織内collagenase陽性細胞の検討—．大阪医大誌　43：194—207，1984
3) 水谷　均：培養細胞によるスキルス胃癌の成因に関する研究．大阪医大誌　46：11—26，1987
4) 中田英二：胃癌の進展と間質反応に関する研究—胃癌細胞周期からみたコラーゲン代謝の検討—．大阪医大誌　48：30—43，1989
5) Tahara E: Growth factors and oncogenes in human gastrointestinal carcinomas. J Cancer Res Clin Oncol 116：121—131，1990
6) 豊田昌夫，岡島邦雄，水谷　均ほか：大腸癌におけるHLA抗原発現状態と再発．消癌の発生と進展 4：477—480，1992

Growth and Advance of Gastric and Colorectal Cancer

Kunio Okajima
Department of Surgery, Osaka Medical College

Growth and advance of gastric cancer and colo-rectal cancer were investigated by the following two methods. 1. Biochemical Studies: Collagen and collagenase activity in the cancerous tissue were examined to clarify the etiology of scirrhus cancer of the stomach, which is characterized by diffuse cancerous invasion and remarked proliferation of fibrous connective tissue in the cancerous tissue. Collagenase activity of cancer cells and fibroblasts was markedly high at the growing edge of the cancer, where collagen fibers were decomposed and replaced by the invading cancer cells and the markedly proliferating collagens promoted by fibroblasts. This leads to the characteristic appearance of scirrhus cancer of the stomach. 2. Immunohistochemical Studies: The biological characteristics of cancer were investigated immunohistochemically to clarify the growth and advance of cancer. Abnormal expression of the "growth factor-receptor system" or oncogenes was closely related to advance of the cancer. The HLA antigen, as one of the factors of the "cancer vs host interaction", was proved to be correlated to advance of cancer through the immune response of the host. This correlation was supported by the finding that the cancer was apt to advance especially when the HLA antigen was only slightly expressed ("escape theory").

Reprint requests: Kunio Okajima　Department of Surgery, Osaka Medical College
2-7 Daigaku-machi, Takatsuki-city, 569 JAPAN