日消外会誌　27（4）：974～978，1994年

特集 8

食道癌および胃癌におけるEカドヘリン，αカテニンの発現性とリンパ節転移との関連

大阪大学第2外科
井上　雅智　塩崎　均　田村　茂行
門脇　隆敏　松井　成生　辻仲　利政
村田　厚夫　西嶌　準一　森　武貞

上皮細胞間接着因子であるE型カドヘリン（以下，E-cad）とカドヘリンの膜裏打ちタンパクでその機能を制御しているαカテニン（以下，α-cat）の発現性を食道癌46例と胃癌54例につき免疫組織学的手法を用い調べた．また，分化度，浸潤様式，リンパ節転移との相関も検討した．食道癌でE-cad，α-catとも80.5%，胃癌でE-cadが57.5%，α-catが70.4%と高頻度に発現の減弱・消失が見られ，分化度と浸潤様式に有意の相関を認めた．リンパ節転移との相関は食道癌の転移陽性例でE-cad，α-catとも有意に低下していたが，胃癌ではα-catとのみ有意差を認めた．E-cadとα-catのcoexpressionをみるとα-catがE-cadより減弱・消失が高度である症例は食道癌で45.7%，胃癌で27.8%あり，このような症例で高いリンパ節転移率を示した．すなわちα-catはE-cadよりリンパ節転移とより高い相関を示し，今後術前の転移の検索に有用な因子となりうることが示唆された．

Key words: E-cadherin, α-cat, lymphnode metastasis of esophageal and gastric cancer

はじめに

我々は細胞間接着因子であるE型カドヘリン（以下，E-cad）が癌組織において高頻度に減弱し，癌の転移・浸潤を引き起こす重要な因子の1つであることを報告してきた[1)2)]．しかし，一部の転移症例ではE-cadが発現しており必ずしも相関はしなかった．近年報告されたαカテニン（以下，α-cat）は細胞内においてE-cadの機能を制御していると考えられ[3)]，今回我々は癌におけるE-cadの発現低下のみでなく，その機能を検討する目的で，E-cadとα-catの発現を食道癌および胃癌につき免疫組織学的手法を用い検討した．また，分化度，浸潤様式，リンパ節転移とα-catの発現性との相関を調べ，今後E-cadとともにα-catも浸潤，転移の予知に有用な因子となり得るかを検討した．

対象と方法

対象は1990年3月から1993年3月までに当科で手術を行った術前未治療の食道癌46例と，胃癌54例である．男女比は食道癌が40：6，胃癌が38：16で，平均年齢はそれぞれ61.3歳（40～82歳），59.8歳（28～82歳）であった．

新鮮切除標本より，正常粘膜を含む腫瘍組織の凍結標本の5μmの連続切片を作成し，それぞれ抗E-cadモノクロナール抗体（HECD-1），抗α-catモノクロナール抗体（α18）を用いABC法にて免疫組織染色を行った．E-cadとα-catの発現性の評価はおのおのの正常上皮細胞の発現を陽性の基準とし，これと同等の発現をしている細胞が90%以上占めている場合を正染（＋），90～10%を減弱（±），10%未満を消失（－）と分類した．

各疾患の臨床病理学的所見とE-cadおよびα-catの発現性を比較検討した．さらにE-cadとα-catの発現性の相違を検討した．なお統計処理はMann-Whitney検定により行い，危険率5%以下を有意差ありと判定した．

結　果

1）E-cadとα-catの発現性

正常上皮におけるE-cadとα-catの発現は食道粘

＊第42回日消外会総会シンポ2・消化器癌の転移の予知とその対策

＜1993年12月8日受理＞別刷請求先：井上　雅智
〒565　吹田市山田丘2－2　大阪大学医学部第2外科

Fig. 1 Immunohistochemical stainings of E-cadherin (A, C) and α-catenin (B, D) in normal epithelium. A, B, esophageal mucosa and C, D, gastric mucosa. E-cadherin and α-catenin can be seen on all epithelial cell-cell boundaries. (×200)

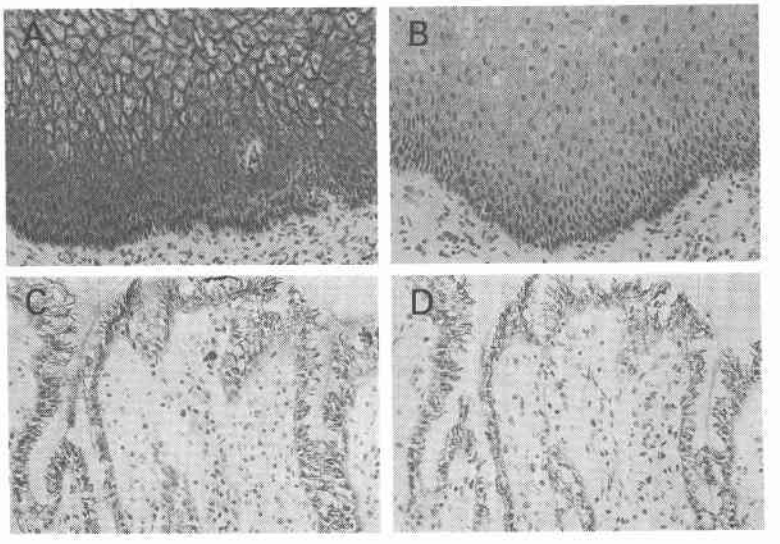


Table 1 Expression of E-cad and α-cat in esophageal and gastric cancer

	n	E-cad			α-cat		
		(+)	(±)	(−)	(+)	(±)	(−)
Esophageal cancer	46	9 (19.5%)	36 (78.3%)	1 (2.2%)	9 (19.6%)	15 (32.6%)	22 (47.8%)
Gastric cancer	54	23 (42.5%)	18 (33.3%)	13 (24.2%)	16 (29.6%)	14 (25.9%)	24 (44.5%)

膜，胃粘膜ともに上皮細胞の膜に一致して染色され，上皮全体に均一に認められた(**Fig. 1**)．一方，癌組織においては，E-cadは食道癌で約80%，胃癌で約57%に減弱あるいは消失しており，またα-catは食道癌で約80%，胃癌で約70%の減弱が見られた．E-cadとα-catの発現頻度を比較すると，食道癌，胃癌ともにα-catはE-cadより減弱あるいは消失する率が高くなっていた(**Table 1**)．減弱例の染色態度は，1切片上に正常発現している部分と減弱または消失している部分がモザイク状に混在しているものが多く，α-cat発現部位ではE-cadも発現していたが，逆は必ずしも一致しなかった(**Fig. 2**)．

2) 臨床病理学的所見とE-cad，α-catの発現性

食道癌の分化度とE-cadの発現性の相関を見ると，分化度が低下するにしたがいE-cadは減弱する傾向を認めた．また，浸潤様式とE-cadとの相関も浸潤傾向が強くなるにしたがいE-cadは減弱していた．α-catと分化度，浸潤様式との相関もE-cadと同様の傾向を認めたが，相関係数はα-catの方が高くより強い相関を認めた(**Table 2**)．胃癌においても食道癌と全く同様の相関を示すデータが得られている．

3) リンパ節転移とE-cadおよびα-catの発現性

食道癌のN(−)症例ではE-cadが(±)あるいは(−)の比率が10/17(58.8%)であるのに対し，N(+)症例では26/29(89.7%)と，リンパ節転移陽性症例においてE-cadは有意に減弱・消失していた．α-catについてもN(−)症例のα-cat(±)または(−)が10/17(58.8%)に対し，N(+)症例は27/29(93.1%)とE-cadと同様の相関を示した．

一方，胃癌においてはN(−)症例のE-cad(±)または(−)が7/20(35.0%)に対し，N(+)症例では24/34(70.6%)と，リンパ節転移陽性例でE-cadが減弱する傾向を認めたが有意差はなかった．しかし，α-catについてはN(−)症例での(±)，(−)が8/

Fig. 2 Expression of E-cad (A, C) and α-cat (B, D) in carcinoma. A, B, esophageal cancer and C, D, gastric cancer. Heterogenous expressions of E-cad and α-cat and they were classified as E-cad (+)/α-cat (+). (×200)

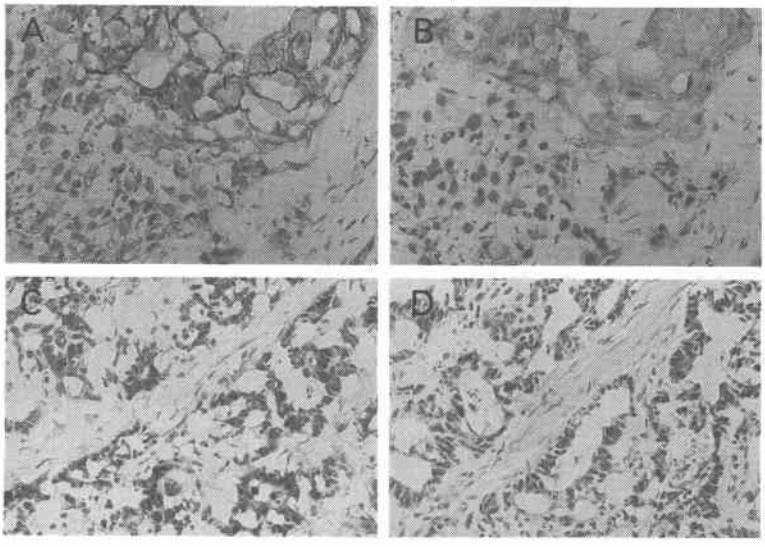


Table 2 Relationship between E-cad and α cat expression and clinicopathological findings in esophageal cancer

	n	E-cad			p value	α-cat			p value
		(+)	(±)	(−)		(+)	(±)	(−)	
Differentiation grade									
well	18	6	12	0		6	7	5	
moderlately	12	3	9	0	p<0.01	3	3	6	p<0.01
poorly	16	0	15	1		0	5	11	
Growth pattern									
INF α	13	7	6	0		7	3	3	
β	25	2	22	1	p<0.01	2	9	14	p<0.01
γ	8	0	8	0		0	3	5	

Table 3 Relationship between E-cad and α-cat expression and lymph node metastasis in esophageal and gastric cancer

		n	E-cad			α-cat		
			(+)	(±)	(−)	(+)	(±)	(−)
Esophageal cancer	N(−)	17	7	10	0*	7	7	3*
	N(+)	29	2	26	1	2	8	19
Gastric cancer	N(−)	20	13	2	5	12	0	8*
	N(+)	34	10	16	8	4	14	16

N (−) : cancer with no lymph node metastasis
N (+) : cancer with lymph node metastasis
*　: p<0.01

20 (40.0%) に対し，N (+) 症例では30/34 (88.2%) と有意に転移例で減弱・消失例が多く，リンパ節転移とα-catはE-cadより強い相関を示した (**Table 3**).

4) E-cadとα-catのco-expression

食道癌においてE-cadとα-catの発現性が一致している症例はE-cad (+)/α-cat (+) 9例，(±)/(±) 15例，(−)/(−)が1例で，α-catの発現がE-cadに比べより強度に減弱あるいは消失している症例は21例 (45.7%)であった．しかし，逆の発現性を示した症例は存在しなかった (**Table 4**). 胃癌の場合もα-catがE-cadより発現の低下している症例はE-cad (+)/α-cat (±) 3例，(+)/(−) 5例，(±)/(−) 7例計15例 (27.8%) であり，逆の発現性を示したものは印環

Table 4 Relationship between E-cad and α-cat expression in esophageal cancer

		α-cat		
		(+)	(±)	(−)
E-cad	(+)	9(2)	0	0
	(±)	0	15(8)	21(18)
	(−)	0	0	1(1)

( ): number of cases with lymph node metastasis

Table 5 Relationship between E-cad and α-cat expression in gastric cancer

		α-cat		
		(+)	(±)	(−)
E-cad	(+)	15(4)	3(3)	5(3)
	(±)	0	11(11)	7(5)
	(−)	1(0)	0	12(8)

( ): number of cases with lymph node metastasis

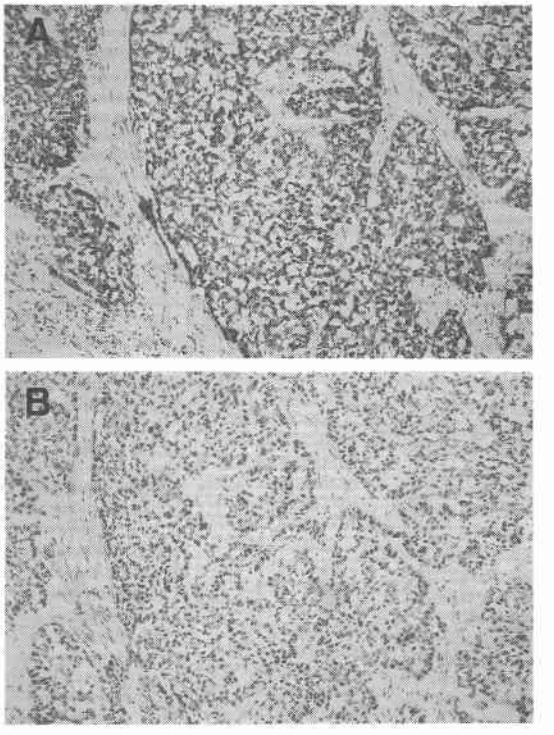
細胞癌の1例のみであった（**Table 5**）.

胃癌のE-cad（+）/α-cat（+）例のリンパ節転移陽性例は4/15(26.7%)に比べ，（+）/（±）が3/3(100%)，（+）/（−）が3/5（60.0%）とα-catが選択的に減弱・消失している症例に転移が起こる傾向を認めた．食道癌のE-cad（±）を示した症例も同様の結果であった．

考　察

癌の転移は腫瘍組織より腫瘍細胞の離脱から始まり転移臓器への着巣増殖までの間に多くの複雑な機構が関与している．我々は転移の初段階である腫瘍細胞間の接着機能の低下に着目し研究してきた．武市[4]により報告されたE型カドヘリンは膜貫通性の糖タンパクで，Caイオン存在下でホモフィリックな結合を行い細胞間接着因子として正常上皮の組織構築に重要な役割を担っている．一方，癌組織ではその発現が減弱しており[5]，我々は胃癌および乳癌において，E-cadの発現が分化度や浸潤様式と相関することを報告してきた[1)2)6)]．すなわち，E-cadの減弱により腫瘍細胞の接着能が低下し，この結果組織構築が崩れ浸潤しやすい状況になることが明らかになった．また，E-cadの低下は癌の転移にも重要な役割をはたしていると考えられ，胃癌においてE-cadの減弱あるいは消失している症例に転移陽性例が多い傾向がみられた．しかし，一部の症例ではE-cadが正常に存在するにもかかわらず転移を起こしている場合があり，必ずしも転移とE-cadの消失とが一致しなかった．

Fig. 3 Serial sections of a gastric cancer. A, positive expression of E-cad（+）and B, negative expression of α-cat（−）.（×200）



αカテニンは分子量が102kDのタンパク質で，カドヘリンの細胞膜裏打ちを行い，細胞内でカドヘリンの機能をコントロールしている因子の1つと考えられている．癌細胞においてE-cadが存在していてもα-catが消失した場合，細胞接着機能の異常をきたし，その結果浸潤，転移を引き起こすこともあることが考えられる．今回我々は，食道癌と胃癌におけるE-cadとα-catの発現を免疫組織学的に検討し，また分化度，浸潤様式，リンパ節転移とα-catの発現性との相関を検討した．

食道癌でのE-cadとα-catの減弱・消失率はともに80.5%であるが，消失例はE-cadが1例に対しα-catは22例とα-catがより強く発現の低下を起こしている傾向がみられた．胃癌についてもE-cadの消失例が13/54（24.2%）に対し，α-catが24/54（44.5%）と同様の結果であった．このことより，癌においてE-cadは発現が減弱しているのみではなく，正常の発現をしていてもその機能が低下している場合もあると考えられる．

E-cadとα-catはその機能の点から考え，癌の分化

度や浸潤様式と相関することが推測されるが，今回の検討でも分化傾向が低くなるほど，また浸潤傾向が強くなるほど E-cad と α-cat は発現が減弱していた．

次に，リンパ節転移と E-cad, α-cat の発現性との関係は，食道癌のリンパ節転移陽性例で E-cad と α-cat が有意に低下していたが，胃癌では E-cad との間に有意な相関がみられなかった．これは E-cad が正常発現した症例にもリンパ節転移が比較的高頻度に認めたためで，このような症例では E-cad の機能が低下していると推測された．そこで，E-cad と α-cat の coexpression を検討してみると食道癌，胃癌とも E-cad の減弱・消失した症例ではほぼ全例で α-cat も低下しており，また，E-cad より α-cat がより強度に発現の低下を示した症例が食道癌で45.7%，胃癌で27.8%存在した．このことより，α-cat は E-cad が減弱あるいは消失すれば必ず同様に存在しえなくなり，消失することが示唆された．また，E-cad が正常発現していても α-cat が減弱あるいは消失し，この結果 E-cad の機能異常を起こしていると思われる症例の存在が判明した．確かにこのような症例にリンパ節転移の多い傾向を認めた．

以上より，α-cat は食道癌，胃癌において E-cad よりリンパ節転移とより高い相関を示し，今後術前のリンパ節転移の検索に有用な因子となりえることが示唆された．

稿を終わるにあたりヒト抗 α カテニンモノクロナール抗体（α18）の御供与をいただきました岡崎生理学研究所教授月田承一郎先生に深謝いたします．

文　献

1) Shiozaki H, Tahara H, Oka H et al: Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecule in human cancers. Am J Pathol 139: 17—23, 1991
2) Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K et al: Immunohistochemical evaluation of E-cadherin adhesion molecule expression in human gastric cancer. Virchow Arch (A) 421: 149—156, 1992
3) Nagafuchi A, Takeichi M, Tsukita S: The 102kD cadherin-associated protein: similarity to vinculin and posttranscriptional regulation of expression. Cell 65: 849—857, 1991
4) Takeichi M: Functional correlation between cell adhesive properties and some cell surface protains. J Cell Biol 75: 464—474, 1977
5) Shimoyama Y, Hirohashi S: Expression E-and-P-cadherin in gastric cancer. Cancer Res 51: 2185—2192, 1991
6) Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K et al: Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. Cancer Res 53: 1696—1701, 1993

Relationship between E-cadherin and α-catenin Expression and Lymphnode Metastasis of Esophageal and Gastric Cancer

Masatoshi Inoue, Hitoshi Shiozaki, Shigeyuki Tamura, Takatoshi Kadowaki, Shigeo Matsui, Toshimasa Tsujinaka, Atsuo Murata, Junichi Nishijima and Takesada Mori
Department of Surgery II, Osaka University Medical School

In 46 esophageal cancers and 54 gastric cancers, we examined the expression of E-cadherin (E-cad), adhesion moleclues, and α-catenin (α-cat), an E-cad-associated cytoplasmic protein that regulates E-cad function, using immunohistochemical methods. We also examined the relationship between E-cad and α-cat expression and clinicopathological features. The expression of α-cat, as well as that of E-cad, was significantly reduced in esophageal cancers (80.5%) and gastric cancers (70.4%). The reductions in E-cad and α-cat were significantly correlated with invasiveness and differentiation grade, but E-cad expression was not correlated with lymph node metastasis in gastric cancers. We also examined co-expression of E-cad and α-cat. In 46 esophageal cancerous lesions, 21 cases showed dominant reduction of α-cat, and 15 of 54 gastric cancerous lesions showed the same reduction. Furthermore, the frequency of lymph node metastasis was high in these cases. These results suggest that the reduction of α-cat expression is more closely correlated with invasiveness and lymph node metastasis than that of E-cad expression, and that α-cat may be a useful factor to investigate lymph node metastasis preoperatively in esophageal and gastric cancer.

Reprint requests: Masatoshi Inoue　Department of Surgery II, Osaka University Medical School
2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka, 565 JAPAN