日消外会誌　28 (11)：2139～2144，1995年

胃癌術前患者における血中 human hepatocyte growth factor 値測定の有用性の検討

大阪医科大学一般・消化器外科
仁木　正己　　岡島　邦雄　　磯崎　博司　　中田　英二
一ノ名　正　　藤井　敬三　　野村　栄治　　泉　　信行

合併病変を有しない胃癌術前患者57例の血清中 hHGF 値を測定し，臨床病理学的因子との比較検討を行った．結果：術前血清中 hHGF 値は，(1) 進行癌が早期癌より有意に高値であり，進行程度別にみると，Stage IVa，Stage IVb の進行程度の高い症例は高値を示した．(2) 組織型，間質量，浸潤増殖様式については有意差はなかった．(3) 進行癌症例では，リンパ節転移例，同時性肝転移例で有意に高値であったが，肉眼的腹膜播種性転移の有無には差はなかった．(4) 脈管侵襲の高度なものは有意に高値であった．以上のように胃癌患者の血清中 hHGF 値を測定することは，高度リンパ節転移や同時性肝転移などの脈管侵襲程度を術前に予知するのに有用な１つの指標になりうるものと考えられた．

Key words: gastric cancer, tumor marker, hepatocyte growth factor, hematogenous and lyphnode metastasis of gastric cancer

緒　言

近年，Köhler ら[1]によってモノクロナール抗体の作製法が確立されて以来，多くの腫瘍マーカーが開発され，これらは癌の進行度や治療効果判定の指標として有用であると報告[2)~4)]されている．しかし，胃癌に関しては特異的で臨床的に有用な腫瘍マーカーの報告はみられない．一方，肝細胞増殖因子 human hepatocyte growth factor (以下，hHGF と略記) は1984年中村ら[5]により発見され，当初は肝細胞に特異的な増殖因子と考えられていた．しかし，その後 hHGF は種々の上皮細胞の増殖をも促進する[6)~8)]ことが明らかになるとともに，癌細胞の増殖にも関与することが報告[9)~12)]されている．そこで，今回著者らは術前に合併病変のない胃癌患者を対象に血清中 hHGF 値を測定し，臨床病理学的因子との関連を比較検討することによって，胃癌術前患者における血清中 hHGF 値測定の有用性について検討した．

対象と方法

1992年８月から1993年10月までに当教室で経験した胃癌症例のうち，術前に合併疾患のない57例を対象として術前血清中 hHGF 値を測定し，以下の項目について検討を行った．すなわち，組織型・壁深達度・間質量・浸潤増殖様式・総合的進行程度・リンパ節転移程度・肝転移程度・肉眼的腹膜播種性転移程度・脈管侵襲程度である．脈管侵襲の程度については対象症例を早期胃癌，進行胃癌で脈管侵襲の軽度のもの，進行胃癌で脈管侵襲の高度なものの３群に分けて検討した．対象症例の内訳は男性40例，女性17例で，平均年齢は60.4歳，早期癌17例，進行癌40例であり，分化型31例，低分化型26例であった．

血清中 hHGF 値の測定は入院時に合併疾患や貧血のないことを確認した後，高カロリー輸液を行う以前の術前患者静脈血を採取した．採取部位は正中肘静脈で22G 針を用いて行った．採取後2,000rpm にて10分間遠沈して血清を分離しこれを測定試料とした．測定には３ステップサンドイッチ ELISA 法による HGF「オーツカ」ELISA キット（大塚製薬）を用いた．

なお，本稿では胃癌取扱い規約（第12版）[13]に規定された用語を用い，測定結果は mean±SD で表し，統計学的有意差の検定は，Wilcoxon 検定にて行った．危険率５％未満を有意差ありとした．

結　果

1) 血清中 hHGF 値と臨床病理学的因子

＜1995年７月５日受理＞別刷請求先：仁木　正己
〒567　高槻市大学町２－７　大阪医科大学一般・消化器外科

Fig. 1 Serum hHGF value in patients of gastric cancer

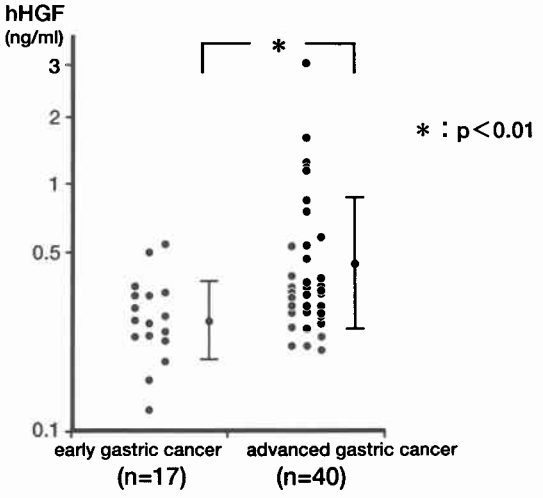


Fig. 2 Preoperative value of Serum hHGF in gastric cancer patients associated with histological type, stromal type and infiltrative type

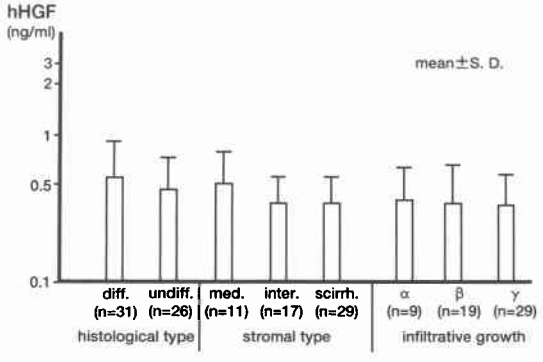


Fig. 3 Relationship between serum hHGF value and clinical stage

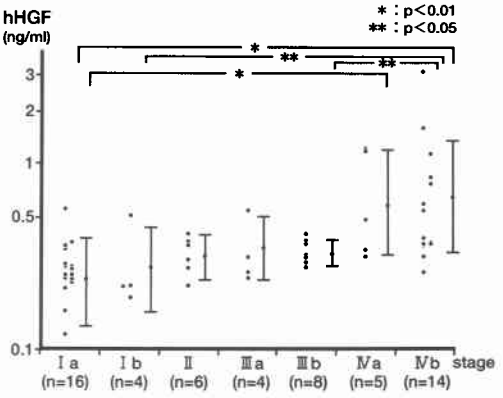
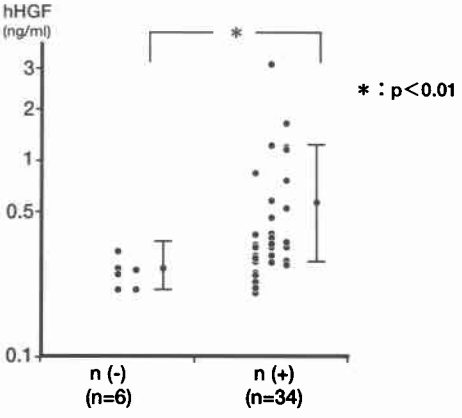


Fig. 4 Serum hHGF value in advanced gastric cancer patients with of without lymph node metastasis



対象症例57例の術前血清中hHGF値は男性（n=40）：0.49±0.51(ng/ml：以下，単位省略)，女性(n=17)：0.39±0.23であり男女間に有意差は認められなかった．早期癌：0.29±0.11，進行癌：0.54±0.53であり，進行癌は早期癌に比べ有意に高値であった($p<0.01$)（**Fig. 1**）．分化型：0.47±0.55，低分化型：0.45±0.32で，組織型による差はなく，髄様型：0.51±0.37，中間型：0.36±0.28，硬性型：0.37±0.23であり，間質量の多寡によっても有意差は認められなかった．また，INFα：0.41±0.31，INFβ：0.4±0.31，INFγ：0.39±0.22と浸潤増殖様式でも有意差は認められなかった（**Fig. 2**）．

2）血清中hHGF値と総合的進行程度

各進行程度における血清中hHGF値の測定結果は，Stage Ia：0.28±0.10，Stage Ib：0.29±0.16，Stage II：0.34±0.05，Stage IIIa：0.34±0.16，Stage IIIb：0.32±0.06，Stage IVa：0.77±0.49，Stage IVb：0.78±0.73であり，Stage IVb は Stage Ia，Stage Ib，Stage IIIb に比べ有意に高値であった．また，Stage IVa においても Stage Ia に比べ有意に高値であった（**Fig. 3**）．

3）進行胃癌患者における血清中hHGF値とリンパ節転移程度，肝転移程度，肉眼的腹膜播種性転移程度

リンパ節転移の有無別検討では，リンパ節転移陽性例：0.58±0.55，リンパ節転移陰性例：0.27±0.04であり，リンパ節転移陽性例は陰性例に比べ有意に高値であった($p<0.01$)（**Fig. 4**）．さらに，リンパ節転移

Fig. 5 Relationship between serum hHGF value and the extent of lymph node metastasis

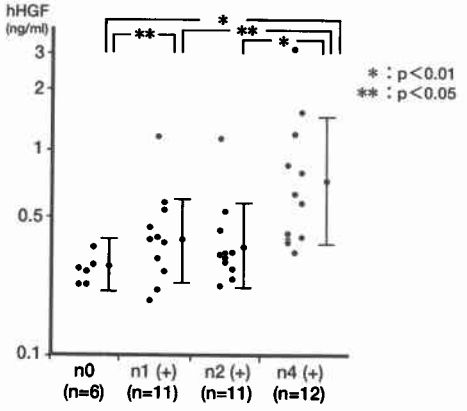
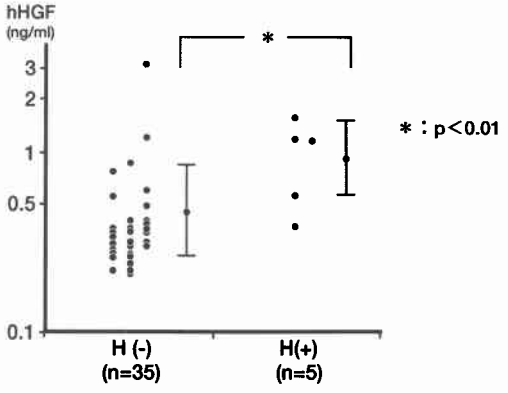


Fig. 6 Serum hHGF value in advanced gastric cancer patients with or without liver metastasis



程度別に検討したところ，第4群リンパ節に転移を認めたn4(+)症例は0.87±0.80であり，n0症例：0.28±0.09，n1(+)症例：0.42±0.25，n2(+)症例：0.39±0.26に比べ有意に高値であった（**Fig. 5**）.

同時性肝転移の有無別検討では，肝転移陽性例：0.92±0.48，肝転移陰性例：0.51±0.47であり，同時性肝転移陽性例は陰性例に比べ有意に高値であった（$p<0.01$）（**Fig. 6**）.

肉眼的腹膜播種性転移の有無別検討では，腹膜播種性転移陽性例：0.56±0.43，腹膜播種性転移陰性例：0.56±0.51であり両者の間に差は認められなかった（**Fig. 7**）.

4）血清中hHGF値と脈管侵襲程度

ly因子についての検討では，進行胃癌であってもリンパ管侵襲程度の軽度のものは0.37±0.12であり，早期胃癌の0.29±0.11との間に差はなかった．リンパ管侵襲が高度なly2，ly3の進行胃癌は0.56±0.55であり早期胃癌に比べ有意に高値であった（$p<0.01$）（**Fig. 8**）.

Fig. 7 Serum hHGF value in advanced gastric cancer patients with or without peritoneal dissemination

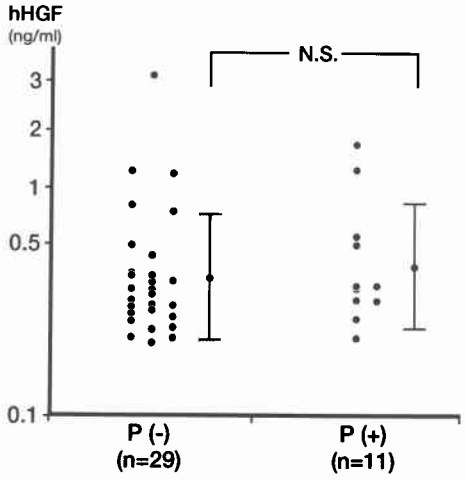
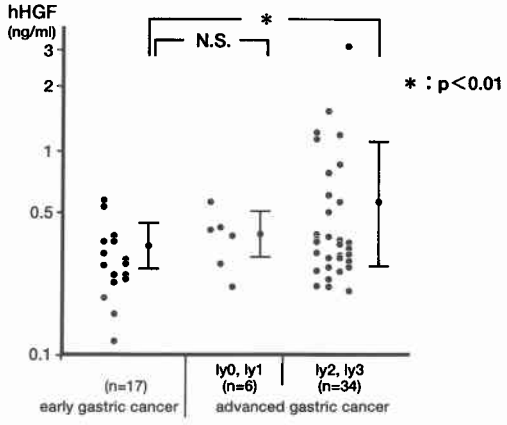
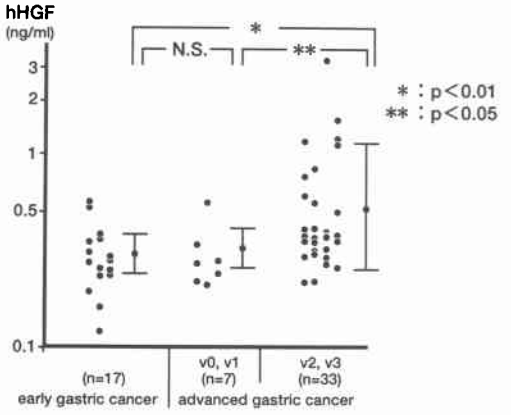


Fig. 8 Relationship between serum hHGF value and the extent of lymphatic invasion



v因子についての検討でも進行胃癌であっても静脈侵襲程度の軽度のものは0.30±0.12であり早期胃癌の0.29±0.11との間に差はなかったが，静脈侵襲が高度なv2, v3の進行胃癌は0.58±0.56であり早期胃癌およびv0，v1の進行胃癌に比べて有意に高値であった（**Fig. 9**）.

Fig. 9 Relationship between serum hHGF value and the extent of venous invasion



考　察

最近のbiotechnologyの進歩，免疫化学操作法の開発や腫瘍特異抗原に対するmonoclonal抗体による分析などにより，生物学的活性物質を高感度で測定することが可能になってきた．このような方法によって，現在腫瘍マーカーと呼ばれている物質の体液中の濃度を測定することが可能になり，腫瘍マーカーは多くの癌の補助診断法として広く普及し，その有用性についても多くの報告[2)~4)]がある．消化器癌の腫瘍マーカーとしては，大腸癌におけるCEA（carcinoembryonic antigen）[2)]，肝癌におけるAFP（α-fetoprotein），PIVKA-II（des-γ-carboxy prothrombin, protein induced by vitamin K absence or antagonist-II）[3)]，膵胆管系の癌におけるCA19-9[4)]などが診断に有用であるとされているが，胃癌においては特異的で，臨床的に有用な腫瘍マーカーの報告は少ない．

一方HGFは，ラット初代培養肝細胞の増殖を促進する因子としては，ラット血小板[14)]，劇症肝炎患者血清中[15)]から精製された分子量約69kDのα鎖と約34kDのβ鎖からなるヘテロダイマーである。発見当初は，肝再生因子の本体として肝細胞に特異性の高い増殖因子であると考えられていた．しかし，その後cDNAのクローニング[16)17)]がなされ，1次構造も決定され，さらにリコンビナントHGFの利用が可能[18)]になり，肝細胞以外にも腎尿細管上皮細胞[7)]，胆管上皮細胞[8)]などの上皮細胞に対しても増殖促進因子として作用することが報告されている．HGFはさまざまな上皮細胞に対して細胞増殖促進作用（mitogen）を示すことが明らかになるとともに，HGFはscatter factor（SF）[19)]として上皮細胞の運動促進・細胞分散活性を有し[20)]（motogen），腎尿細管由来の正常上皮細胞であるMadin-Darby canine kidney細胞（MDCK細胞）で報告[21)]されているように形態形成作用（morphogen）をも誘導することが報告されている．このようにHGFは多様な生物活性を有するサイトカインである．

そこで著者らは，肝疾患などの合併病変を有しない胃癌術前患者の血清中hHGF値を測定し，胃癌患者における血清中hHGF値測定の意義と診断への応用の可能性について検討した．血清中hHGF値と臨床病理学的因子との関係をみると，組織型・間質結合織量・浸潤増殖様式別に検討してもhHGF値に差はなかったが，壁深達度別にみるとhHGF値は進行胃癌症例が早期胃癌症例より有意に高値であり，腫瘍量に比例して胃癌患者の血中hHGF値は高値を示す傾向がみられた．特に，進行胃癌症例についての検討では，高度リンパ節転移，同時性肝転移のいずれも陽性例が陰性例に比べhHGF値は有意に高値であった．このように，高度リンパ節転移や同時性肝転移を伴う遠隔転移例において，hHGF値は高値を示す傾向がみられた．さらに，脈管侵襲の程度からhHGF値を検討したところ，ly因子・v因子ともに脈管侵襲の高度なものほどhHGF値は高値を示した．

HGFの作用機序は，間葉系の細胞[22)]で産生されたHGFが，上皮—間葉相互作用（epithelial-mesenchymal inseraction）のmediatorとして上皮細胞に対してパラクリン的に作用をおよぼし，上皮細胞の機能を制御しているものと考えられている[23)]．さらに，癌細胞の中にはHGFに応答して運動性が促進されるものがあるとの報告[9)]がなされて以来，HGFは癌細胞においても多様な活性を示すことが明らかになってきた．胃癌においては田原[12)]は，胃壁由来の線維芽細胞にHGFの発現を確認し，癌細胞由来のTGF-α，TGF-βなどの増殖因子およびIL-1αなどのサイトカインによって活性化された線維芽細胞からHGFが過剰に分泌され，このHGFが癌細胞のレセプター（C-MET遺伝子）と結合して胃癌の発育進展に関与していると考察している．

著者らの結果は，胃癌担癌患者の主要組織（肝臓，腎臓，肺など）内の間葉系細胞において反応性に産生されたHGFが，上皮—間葉相互作用（epithelial-mesenchymal interaction）のmediatorとして胃癌細胞に対してパラクリン的に作用し，胃癌患者の増殖を

促進しているものと考える．また，脈管侵襲の高度な症例，さらには高度リンパ節転移・肝転移などの遠隔転移例で血清中 hHGF 値が高値を示していたことは，胃癌細胞の脈管侵襲に HGF が関与している可能性を示唆しているものと考える．これは HGF が scatter factor として胃癌細胞の運動促進・細胞分散活性を有し，癌の増殖・進展にともない HGF の作用をうけた胃癌細胞の脈管侵襲を容易にするためではないかと推察された．今後さらに胃癌組織内の HGF 発現について検討を要するものと考える．

一方，ヒト血中 HGF レベルは enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 系が確立[18]されて以来，高感度に測定できるようになり臨床的にも応用されてきている．劇症肝炎患者の血中 HGF 値は著しく高値を示し，これが患者の昏睡度と関連して変動すること[24]や，予後との関連で死亡例の血中 HGF 値は生存例に比べ有意に高い[25]などの報告が見られる．このように肝疾患における血中 HGF 値測定の有用性は指摘されている．今回著者らの結果は，今後肝疾患のみではなく，胃癌患者における進行度診断や脈管侵襲程度を術前に予知するのに有用な指標となる可能性を示唆しているものと考える．

本論文の要旨は，第44回日本消化器外科学会総合(1994年7月，富山）において報告した．

文　献

1) Köhler G, Milsyein C: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predeficity. Nature **256**：495—497, 1975
2) Shimano T, Okuda H, Moden T et al: Usefulness of carcinoembryonic antigen measurement in feces of patients with colorectal cancer. Dis Colon Res **30**：607—610, 1987
3) 三澤一仁，宇根良衛，中島保明ほか：肝細胞癌切除例における alpha-fetoprotein および PIVKA-II の臨床病理学的意義．日消外会誌　**25**：2308—2313, 1992
4) 吉村龍太，芳賀克夫，江上　寛ほか：腫瘍マーカー CA19-9および CA125の消化器疾患における臨床的意義，特に膵癌，胆道癌診断に有用性について．日消外会誌　**18**：1687—1692, 1985
5) Nakamura T, Nawa K, Ichihara A: Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. Biochem Biophys Res Commun **122**：1450—1459, 1984
6) Tajima H, Matsumoto K, Nakamura T: Regulation of cell growth and motility by hepatocyte growth factor and recaptor expression in various cell species. Exp Cell Res **202**：423—431, 1992
7) Igawa T, Kanda S, Kanetake H: Hepatocyte growth factor is potent mitogen for cultured rabbit renal tubular epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun **174**：831—838, 1991
8) Joplin R, Hoshida T, Tubouchi H et al: Human intrahepatic biliary epithelial cells proliferate in vitro in response to human hepatocyte growth factor. J Clin Invest **90**：1284—1289, 1992
9) Weidner MK, Behrens J, Vandekerckhove J et al: Scatter factor: molecular characteristics and effect on invasiveness of epithelial cells. J Cell Biol **111**：2097—2108, 1990
10) Rong S, Bodescot M, Blair D et al: Tumorigenicity of the met protooncogene and the gene for hepatocyte growth factor. Mol Cell Biol **12**：5152—5158, 1992
11) 神田浩明，北川知行：HCF および HGF レセプターと発癌．実験医学**11**：1137—1142, 1993
12) 田原栄一：ヒト胃癌の発生・増殖・進展—分子生物学的アプローチ—．日病理会誌**81**：21—49, 1992
13) 胃癌研究会編：胃癌取扱い規約．第12版，金原出版，東京，1993
14) Nakamura T, Nawa K, Ichihara A et al: Purification and subunit structure of hepatocyte growth factor from rat platelets. FEBS Lett **224**：311—316, 1987
15) Gohda E, Tsubouchi H, Nakayama H et al: Purification and partial characterization of hepatocyte growth factor from plasma of a patient with fulminant hepatic failure. J Clin Invest **81**：414—418, 1988
16) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M et al: Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. Nature **342**：440—443, 1989
17) Miyazawa K, Tsubouchi H, Naka D et al: Molecular cloning and sequence analysis of cDNA for human hepatocyte growth factor. Biochem Biophys Res Commun **163**：967—973, 1989
18) 二井谷好行，立川哲也，申　貞均ほか：hHGF 測定キットの改良．臨検　**35**：1360—1364, 1991
19) Stern CD, Ireland GW, Herrick SE et al: Epithelial scatter factor and development of the chick embryonic axis. Development **110**：1271—1284, 1990
20) Stoker M: Junction competence in clones of mammary epithelial cells, and modulation by

conditioned medium. J Cell Physiol 121：174—183, 1984
21) Montesano R, Matsumoto K, Nakamura T et al: Identification of a fibroblast-derived epithelial morphogen as hepatocyte growth factor. Cell 67：901—908, 1991
22) Matsumoto K, Nakamura T: Hepatocyte Growth Factor-Scatter Factor (HGF-SF) and the C-Met Receptor. Edited by Goldber ID, Rosen EM. Birkhauser Verlag, Switzerland, 1993, p225—249
23) 松本邦夫：HGFの構造，多様な生物活性とその発現調節．実験医学11：1111—1119, 1993
24) Tsubouchi H, Hirono S, Gohda E et al: Clinical significance of human hepatocyte growth factor in blood from patients with fulminant hepatic failure. Hepatology 9：875—881, 1989
25) Tsubouchi H, Kawakami S, Hirono S et al: Prediction of outcome in fulminant hepatic failure by serum human hepatocyte growth factor. Lancet 340：307, 1992

Clinical Evaluation of Preoperative Measurement of the Serum Human Hepatocyte Growth Factor Levels in Patients of Gastric Cancer

Masami Niki, Kunio Okajima, Hiroshi Isozaki, Eiji Nakata, Tadashi Ichinona, Keizou Fujii, Eiji Nomura and Nobuyuki Izumi
Department of Surgery, Osaka Medical College

To clarify the role of hHGF in gastric cancer, we compared preoperative serum hHGF levels in 57 gastric cancer patients with clinicopathological factors. The results were as follows: 1) The serum hHGF concentration was significantly higher in patients with advanced gastric cancer than in those with early gastric cancer. 2) There were no significant differences between the histological type, stromal type and infiltrative growth type. 3) In advanced gastric cancer, its concentration was significantly higher in patients with lymphnode metastasis than in those without lymph node metastasis, and significantly higher in patients with liver metastasis than in those without liver metastasis, whereas there was no significant difference in serum hHGF levels between patients with and without peritoneal dissemination. These results suggest that preoperative measurement of the seurm hHGF concentration in patients with gastric cancer is useful for estimating the clinical stage of gastric cancer, and for the extent of distant metastasis to lymph nodes, and metastasis to the liver.

Reprint requests: Masami Niki Department of Surgery, Osaka Medical College
2-7 Daigaku-cho, Takatsukishi, 569 JAPAN