

症例報告

食道腺様嚢胞癌の1例—細胞増殖および細胞死における 組織化学的検討を加えて—

信州大学第2外科

小出 直彦 二村 好憲 小池祥一郎
安達 互 飯田 太

食道腺様嚢胞癌 (ACC) の1例を経験し、本腫瘍における細胞増殖とアポトーシスを検討した。症例は68歳の女性、中部食道に不整な陥凹を伴う隆起性病変を認め、生検にて SCC の診断を得た。手術は胸部食道亜全摘、胸骨後経路、頸部食道胃管吻合術を施行した。病理診断は ACC、一部 SCC であった。切除材料を用いて、PCNA 免疫染色、TUNEL 法、bcl-2 蛋白免疫染色を行った。ACC の PCNA 陽性率は43.6%、TUNEL 陽性率は0.58%で、ACC の増殖性は高く、アポトーシスの発現は低いものと考えられた。また ACC では bcl-2 蛋白の強い発現を認め、これによりアポトーシスが抑制されている可能性が示唆された。正常食道組織における bcl-2 蛋白の発現は、基底細胞および食道腺の導管、腺房細胞に認められ、ACC の bcl-2 蛋白の強い発現に関与していると考えられるが、bcl-2 蛋白免疫染色の所見より ACC の発生源に言及することは困難であった。

Key words: adenoid cystic carcinoma of esophagus, apoptosis, bcl-2 protein

はじめに

腺様嚢胞癌 (adenoid cystic carcinoma: 以下 ACC) は唾液腺に好発するが¹⁾、食道原発のものは食道癌の1~2%^{2)~4)}とされる。食道 ACC の多くは進行癌を呈し、その治療成績は不良である。最近、腫瘍の発育には腫瘍細胞の増殖ばかりではなく細胞死 (アポトーシス) も深く関与しているとされ⁵⁾、両者の検討は重要な課題であると考えられる。今回、食道 ACC の1例を経験したので、本腫瘍における細胞増殖を proliferating cell nuclear antigen (以下、PCNA) 免疫組織化学的染色を用いて、またアポトーシスを terminal deoxynucleotidyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate-biotin nick end labeling (以下、TUNEL) 法⁶⁾、および bcl-2 蛋白免疫組織化学的染色を用いて評価、検討したので報告する。

症 例

患者: 68歳、女性

主訴: 嚥下困難

家族歴、既往歴: 特記すべきものなし。

現病歴: 平成2年7月より嚥下困難が出現し、次第に増悪するため近医を受診し、食道造影検査にて中部食道の壁不整を指摘された。

入院時現症: 栄養、体格は中等。眼瞼結膜に貧血を認めず、頸部および Virchow リンパ節を触知しなかった。胸部および腹部に異常所見を認めなかった。

入院時検査所見: 血算、生化学的検査および腫瘍マーカー (CEA, CA19-9, SCC) に異常を認めなかった。

食道造影検査: Im に不整な隆起性病変を認め、一部に陥凹を伴っていた (Fig. 1)。

食道内視鏡検査: 門歯列より25~30cmの中部食道に隆起性病変を認め、一部に不整な陥凹を伴っていた (Fig. 2)。ルゴールの散布にて陥凹部は不染帯を示した。陥凹部周辺より採取した生検により group V (squamous cell carcinoma: 以下、SCC) と診断された。

胸部 CT 検査では Im 部食道壁の肥厚を認めたが、縦隔リンパ節の腫大は認めなかった。また腹部 CT では腹腔リンパ節の腫大は認めず、肝転移も認めなかった。

以上より、食道癌の診断にて平成2年10月11日、右

<1995年10月11日受理>別刷請求先: 小出 直彦
〒390 松本市旭3-1-1 信州大学医学部第2外科

Fig. 1 Barium meal study shows a protruding lesion with central depression at the middle portion of the esophagus.

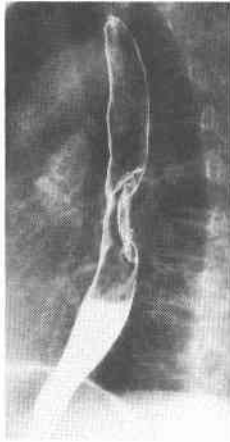


Fig. 2 Endoscopic examination shows the protruding lesion.



開胸開腹，胸部食道全摘術，R II を施行し，胃管を用いて胸骨後経路で再建を行った。

切除標本肉眼所見：中部食道に径 37×30 mm の2型様病変を認め，周堤様の隆起部は粘膜下腫瘍様であった (Fig. 3)。

病理組織学的診断：腫瘍は胞体の少ない細胞が腺管様構造と cribriform pattern を形成して発育し (Fig. 4)，腺管内腔にはアルシアンブルーおよび PAS 陽性の物質を認め，ACC と診断された。一部，病変の陥凹部を中心として強い角化を呈する SCC の合併が認められた。組織学的に al, n (-) であった。

Fig. 3 Resected specimen of the esophagus shows the tumor.

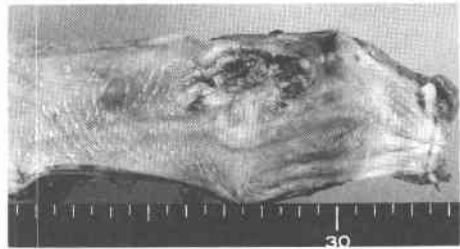


Fig. 4 Histopathologic findings of ACC (HE, $\times 120$).



組織化学的検討

ホルマリン固定後の標本よりパラフィン切片を作製して用いた。

(1) PCNA 免疫組織化学的染色所見

切片を pH 6, 10mM のクエン酸溶液に浸し，micro-wave 処理 (15分間) 後，300倍希釈の19A2抗 PCNA 抗体 (日科機) を用いて ABC 法にて染色し，PCNA 陽性率を算定した⁷⁾。ACC では PCNA 陽性細胞は癌胞巣内において無秩序に認められ (Fig. 5a)，PCNA 陽性率は43.6%であった。SCC では癌胞巣の周辺部に陽性細胞の分布を認め (Fig. 5b)，PCNA 陽性率は30.3%であった。

(2) TUNEL 染色所見

Gavrieli ら⁸⁾の方法に準じて染色を行い，TUNEL 陽性率を算定した⁷⁾。TUNEL 陽性反応の多くは濃縮した核に認められたが，少数ではあるが，一見通常の核にも認められた。TUNEL 陽性細胞は，ACC ではごく少数の細胞に無秩序に認められ (Fig. 6a)，TUNEL 陽性率は0.58%であった。SCC では角化巣を中心として認められ (Fig. 6b)，TUNEL 陽性率は9.8%であった。

(3) bcl-2蛋白免疫組織化学的所見

Fig. 5 Histochemical findings of PCNA immunostaining.

a; ACC. PCNA-positive cells are diffusely observed ($\times 120$). b; SCC. PCNA-positive cells are observed at the peripheral portion of carcinoma cord ($\times 120$).

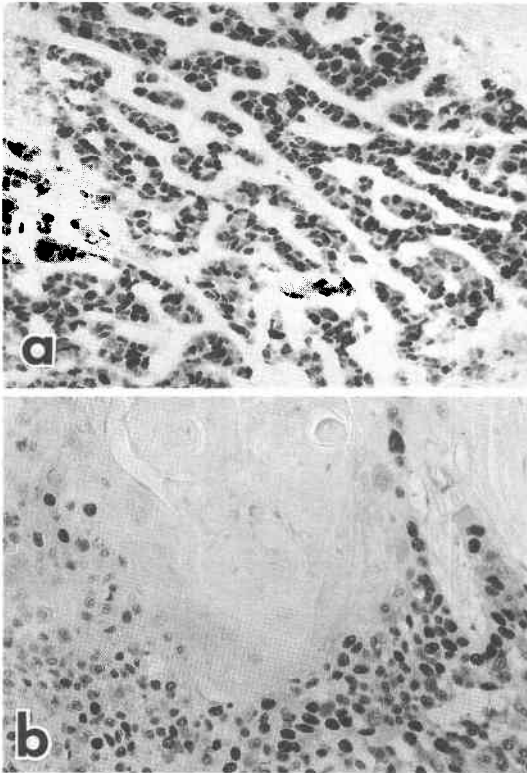
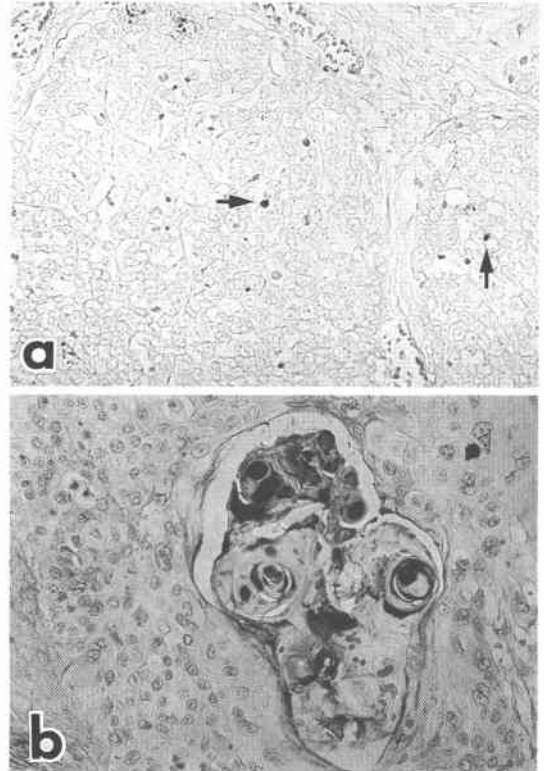


Fig. 6 Histochemical findings of TUNEL.

a; ACC. TUNEL-positive cells are rarely observed (arrows, $\times 120$). d; SCC. TUNEL-positive cells are mainly observed at the central part of carcinoma cord ($\times 120$).



切片を pH 6, 10mM のクエン酸溶液に浸し, microwave 処理 (15分間) 後, 50倍希釈の抗 bcl-2蛋白抗体 (DAKO)[®]を用いて ABC 法にて染色した. 正常食道組織ではその陽性反応は一部のリンパ球, 基底細胞および食道腺の腺房, 導管細胞に認められた (Fig. 7a, b). ACC では癌細胞の細胞膜および細胞質に強い陽性反応を認め (Fig. 7c), SCC ではほとんど反応を認めなかった (Fig. 7d).

考 察

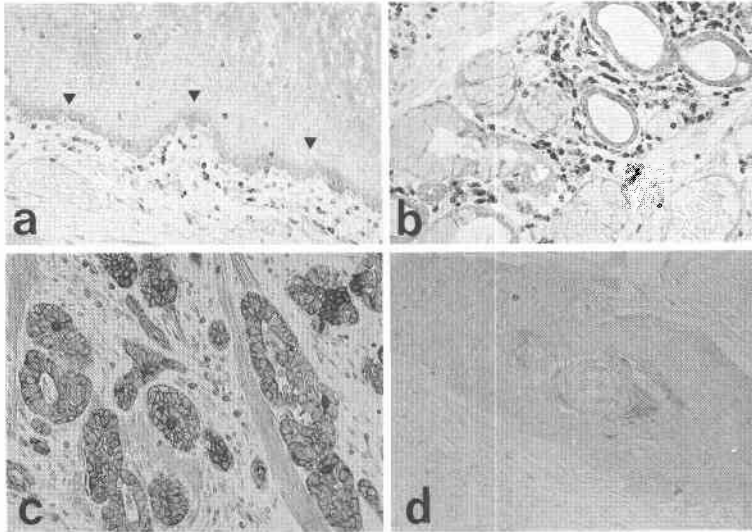
食道原発の ACC の発生母地に関しては, 食道腺導管由来と食道上皮由来が挙げられている. 食道腺導管由来説を支持する根拠は腫瘍の多くが粘膜下層を中心に存在する点⁹, 電顕により腫瘍細胞が腺および筋上皮細胞より構成される点¹⁰とされる. 一方, 食道上皮由来説は ACC が上皮基底層と連続すること¹¹, ACC に

連続して SCC の合併がみられること¹¹, ACC の上皮内進展が存在する点¹²より支持されている. 本症例では, この発生起源を論じる上で bcl-2蛋白免疫組織染色の所見に注目した. 非癌部食道組織ではその陽性反応は基底細胞, 食道腺の腺房細胞および導管細胞に認められた. ACC が bcl-2蛋白の強い発現を示したことは, 基底細胞あるいは食道腺の細胞の形質を発現している可能性が存在し, 両方の説を同時に満足しえるものである. 本例では ACC の発生母地としての明確な解答を出すことは困難であるが, 本腫瘍が ACC および SCC より構成されていることより, 森崎ら¹³, 落合ら¹⁴が述べているように食道上皮でも基底層に由来しているものと推測された.

今回, 本症例において ACC の細胞増殖およびアポトーシスの観点から検討を加えた. PCNA は cell cycle における S 期を中心とした内因性増殖マーカー

Fig. 7 Histochemical findings of bcl-2 protein immunostaining.

a; Basal cells shows the positive reaction (head arrows, $\times 120$). b; Ductal and acinar cells shows the positive reaction ($\times 120$). c; ACC-cells shows strongly the positive reaction ($\times 120$). d; SCC-cells shows hardly the positive reaction ($\times 120$).



とされ¹⁵⁾、腫瘍の悪性度の評価にしばしば用いられている¹⁶⁾。ACCではPCNA陽性細胞は癌巣においてびまん性に出現し、PCNA陽性率は43.6%と著者が以前に検討したSCCのPCNA陽性率⁷⁾と比較して高値を示し、ACCの高い増殖性がうかがえる。

一方、アポトーシスの観点からはTUNEL法ならびにbcl-2免疫組織染色を用いた。アポトーシスは生体の正常組織の発育ばかりではなく、悪性腫瘍の発生や発達にかかわる能動的な細胞の死である。その生理学的な本態はDNAの断片化とされ、形態学的な特徴は核および細胞の濃縮、アポトーシス小体にあるとされる¹⁷⁾。TUNEL法はこのDNAの断片化を検出し、可視化する方法として開発された⁶⁾。ACCではTUNEL陽性細胞はごくわずかで、その陽性率は0.58%で、以前報告⁷⁾したSCCのものと比較して極めて低値であり、ACCにおけるアポトーシスの発現はまれであると考えられた。

bcl-2は濾胞性リンパ腫のt(14;18)(q32;q21)の転座近傍に存在する癌遺伝子¹⁸⁾である。このbcl-2の過剰発現によりアポトーシスが抑制され、細胞生命の延長が計られるとされる¹⁹⁾。正常食道上皮のbcl-2蛋白の発現は基底細胞に認められ、幹細胞的な役割を果たす基底細胞の維持にかかわっている²⁰⁾。本例のACCにおいて、このbcl-2蛋白の強い発現は2つの意味を有す

と考えられた。まず前述のごとくACCの起源細胞と考えられた基底細胞(あるいは食道腺管細胞)の形質を引き継いだ可能性が存在すること、第2にbcl-2蛋白の発現の結果として、本腫瘍におけるアポトーシスが抑制されている可能性が推測される。

以上の組織化学的検討よりACCの高い増殖性が示され、またアポトーシスの発現が抑制されている可能性が推測された。これまで食道ACCはその転帰が不良であるとされ、その原因として腫瘍細胞の分裂性が高いことと腫瘍のpolymorphism³⁾⁴⁾¹¹⁾が挙げられていたが、さらにこの因子としてアポトーシスを考慮することが重要であると考えられた。

稿を終るにあたり、本例の病理組織診断をみていただいた信州大学中央検査部病理勝山 努教授および石井恵子先生、また組織化学的理論の御指導をいただいた信州大学解剖学第1教室永田哲士教授および白田信光助教授に感謝いたします。

文 献

- 1) Spiro RH, Huvos AG, Strong EW: Adenoid cystic carcinoma of salivary origin; A clinicopathologic study of 242 cases. *Am J Surg* 128: 512-520, 1974
- 2) Suzuki H, Nagayo T: Primary tumors of the esophagus other than squamous cell carcinoma: Histologic classification and statistics

- in the surgical and autopsied materials in Japan. *Int Adv Surg Oncol* 3 : 73—109, 1980
- 3) Epstein JI, Sears DL, Tucker RS et al: Carcinoma of the esophagus with adenoid cystic differentiation. *Cancer* 53 : 1131—1136, 1984
 - 4) Cerar A, Jutersek A, Vidmar S: Adenoid cystic carcinoma of the esophagus; A clinicopathologic study of three cases. *Cancer* 67 : 2159—2164, 1991
 - 5) Arends MJ, Wyllie AH: Apoptosis; mechanism and roles in pathology. *Int Rev Exp Pathol* 32 : 223—254, 1991
 - 6) Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 119 : 493—501, 1992
 - 7) 小出直彦: 食道癌の細胞増殖と細胞死に関する組織化学的研究. *信州医誌* 42 : 379—388, 1994
 - 8) Pezzella F, Tes ADG, Gordell JL et al: Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14; 18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 137 : 225—232, 1990
 - 9) Kabuto T, Taniguchi K, Iwanaga T et al: Primary adenoid cystic carcinoma of the esophagus; Report of a case. *Cancer* 43 : 2452—2456, 1979
 - 10) Sweeney EC, Cooney T: Adenoid cystic carcinoma of the esophagus. A light and electron microscopic study. *Cancer* 45 : 1516—1525, 1980
 - 11) Benish B, Toker C: Esophageal carcinomas with adenoid cystic differentiation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 96 : 260—262, 1972
 - 12) 真船健一, 田久保海誉, 田中洋一ほか: 食道原発腺様嚢胞癌の1例. *癌の臨* 32 : 513—519, 1986
 - 13) 森崎善久, 島 伸吾, 米川 甫ほか: 腺様嚢胞嚢胞分化を伴う食道癌の2例—とくに免疫組織学的な発生母地の検討—. *癌の臨* 34 : 1710—1717, 1988
 - 14) 落合登志哉, 板橋正幸, 広田映五ほか: 食道原発腺様嚢胞癌と類基底細胞癌の病理組織学的関係について. *癌の臨* 40 : 486—492, 1994
 - 15) Bravo R, Frank R, Blundell PA et al: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein DNA polymerase-delta. *Nature* 326 : 515—517, 1987
 - 16) Shimizu T, Usuda N, Yamada T et al: Proliferative activity of human thyroid tumors evaluated by proliferating cell nuclear antigen/cyclin immunohistochemical studies. *Cancer* 71 : 2807—2812, 1993
 - 17) Wyllie AH, Morris RG, Smith AL et al: Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* 142 : 66—77, 1984
 - 18) Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J et al: The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ jointing. *Science* 229 : 1390—1393, 1985
 - 19) Hockenbery D, Nunez G, Millman C et al: Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 348 : 334—336, 1990
 - 20) Hockenbery DM, Zutter M, Hickey W et al: BCL-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 6961—6965, 1991

A Case of Esophageal Adenoid Cystic Carcinoma —With Special Reference to Cell Proliferation and Apoptosis—

Naohiko Koide, Yoshinori Nimura, Shoichiro Koike, Wataru Adachi and Futoshi Iida
Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine

We report a case of esophageal adenoid cystic carcinoma (ACC). Histochemical examinations were carried out in order to clarify apoptosis and cell proliferation of adenoid cystic carcinoma. A 68-year-old woman had an protruding esophageal tumor with irregularly shaped ulceration. The biopsy specimen showed SCC. She underwent subtotal esophagectomy. Histopathological examination showed ACC with SCC. This specimen was subjected to further histochemical examinations: PCNA immunostaining, TUNEL and bcl-2 protein immunostaining. The PCNA-labeling index and TUNEL-positive rate were 43.6% and 0.58%, respectively, in ACC tissue. These results indicated that this unique tumor exhibited high proliferative activity and weak apoptosis. In normal esophageal tissue, the basal cells and ductal and acinar cells of esophageal gland showed a positive reaction for bcl-2 protein. It was considered that the tumor originated from the basal cells of esophagus based on the strong expression of bcl-2 protein and histopathologically complication of SCC tissue.

Reprint requests: Naohiko Koide Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine
Asahi, Matsumot, 390 JAPAN