

原 著

食道癌における epidermal growth factor receptor

過剰発現と細胞増殖能に関する検討

奈良県立医科大学第1外科学教室

山下 潤 渡辺 明彦 澤田 秀智
山田 行重 志野 佳秀 山田 貴
松田 雅彦 三和 武史 中野 博重

当科にて切除された食道癌60例の原発巣を対象として、epidermal growth factor receptor (EGFR) の過剰発現を免疫組織化学的に検討した。EGFR の発現はおもに癌細胞の細胞膜上に認められ、その陽性率は48%であった。臨床病理学的因子との関連では、リンパ節転移度、組織学的進行度との間に相関が認められた。また EGFR 陽性例は陰性例に比較して有意に予後不良であった。一方、EGFR の発現と細胞増殖活性との関連を検討するために、連続切片を用いて PCNA の免疫染色を行い、その Labeling Index を測定したところ、両者の間に相関は認められなかった。さらに、原発巣の一部をヌードマウス皮下に移植し、その生着性や増殖態度を検索したが、EGFR の過剰発現と生着率、発育態度およびダブルタイムとの間に相関は認められなかった。以上より、食道癌における EGFR 過剰発現は増殖能には関与せず、主として転移に関連する因子に作用し、これを促進させる方向に機能する可能性が示唆された。

Key words: epidermal growth factor receptor, esophageal carcinoma, proliferating cell nuclear antigen, nude mouse

はじめに

Epidermal growth factor receptor (以下、EGFR と略記) は細胞膜上に存在する分子量170kDの受容体型糖蛋白であり¹⁾、epidermal growth factor (以下、EGF と略記) や transforming growth factor- α (以下、TGF- α と略記) などの ligand と結合し、tyrosine kinase 活性を上昇させることによって細胞の分化および増殖を促進すると考えられている。EGFR は主に A431細胞をはじめとする扁平上皮癌細胞株や種々の悪性腫瘍で過剰発現が認められており²⁾、EGFR の発現と腫瘍の増殖、進展との間に密接な関連が示唆されている。とくに食道癌における発現頻度は高く、食道癌の浸潤および転移との関連性が報告されている。今回我々は、食道癌における EGFR の過剰発現と臨床病理学的因子および予後との関連を免疫組織化学的に検討した。さらに EGFR の発現と増殖活性との関係につ

いて、proliferating cell nuclear antigen (以下、PCNA と略記) やヌードマウス移植腫瘍の増殖態度などの観点より検索した。

対象と方法

1) EGFR の免疫組織化学的染色

1984年7月から1993年6月の間に当科および関連施設にて切除された食道癌60例の原発巣を対象とし、LSAB法にて染色を行った。60例の平均年齢は62.4歳(37~81歳)で、男性45例、女性15例であった。標本は原則として腫瘍最深部および隣接した正常食道粘膜を含むものとし、10%緩衝ホルマリンにて固定後、それぞれのパラフィンブロックを作製した。標本の固定期間はすべて1週間以内であった。厚さ4 μ mの薄切切片を作製し、脱パラフィン後、0.3% H_2O_2 加メタノール溶液、10%正常ウサギ血清で処理した。1次抗体としてEGFRモノクローナル抗体(Triton社, 31G7)を用い、100倍希釈液で切片と室温(20°C)で60分間反応させた。2次抗体としてビオチン化ウサギ抗マウス血清を用い10分間反応、さらにペルオキシダーゼ標識ストレプト

アビジンで10分間反応させ、ジアミノベンチジンで発色させた。水洗後、マイヤーのヘマトキシリンで核染色を施し、脱水、封入して鏡検に供した。陽性対照には、ヒト胎盤のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いた。

2) PCNA 標識率の算定

食道癌原発巣60例の連続切片を用いて、PCNA 染色を施行した。1次抗体として抗 PCNA モノクローナル抗体 (PC10: Novocastra Labo.) を100倍希釈で用いた。切片を脱パラフィン後、抗原賦活処理として蒸留水中に浸しマイクロウエーブ持続照射 (500W) による加熱を5分間行った。加熱後は室温で60分間放置し温度を低下させた後、EGFR と同様に LSAB 法にて免疫染色を施行した。得られた標本を鏡検し、腫瘍細胞1,000個のうちの PCNA 陽性細胞の比率を算出して PCNA 標識率 labeling index (以下、PCNA L.I. と略記) とした。EGFR 陽性例では癌巣内でより強く EGFR の発現を認めた部位において、また、EGFR 陰性例ではおもに腫瘍先進部において PCNA L.I. を計測した。

3) ノードマウスへの移植

食道癌60例中、腫瘍中心部より約 1cm^3 の移植片が採取可能な症例は34例であった。手術時に原発巣より無菌的に移植片を採取し、Eagle 氏 MEM 溶液内で約2mm 角に細切した後、ノードマウス (BALB/c 系, 雄, 5週齢) 3匹の背部皮下にそれぞれ4カ所ずつ移植した。移植後1週目より週1回、皮下腫瘍の長径(1mm)と短径(wmm)を計測した。皮下腫瘍の生着の有無は病理組織学的に判定し、12腫瘍中1腫瘍でも生着した症例を生着例とした。また、生着腫瘍の発育態度を分類し、腫瘍の大きさ(長径×短径)が移植後10週未満で 100mm^2 以上に発育するものを急速発育型、10週以上で 100mm^2 に発育するものを遅速発育型、10週以上経過しても 100mm^2 未満のものを非発育型とした³⁾。腫瘍重量倍加時間 doubling time (以下、DT と略記) は、腫瘍重量を $1 \times w^2/2$ の式より概算し、腫瘍が指数関数的に増大するものとして、指数回帰分析により算出した。腫瘍の大きさおよび DT は生着腫瘍ごとに算出し、その平均値をとって各症例の発育型および DT を決定した。皮下腫瘍の生着率、発育態度および DT を、原発巣の EGFR 過剰発現の有無により比較検討した。なお、EGFR の検索と移植片採取は連続した部位を用いることを原則とした。

4) 統計学的検定

Fig. 1 Immunohistochemical staining of EGFR in normal human placenta tissues used as a positive control (SAB method, $\times 100$).

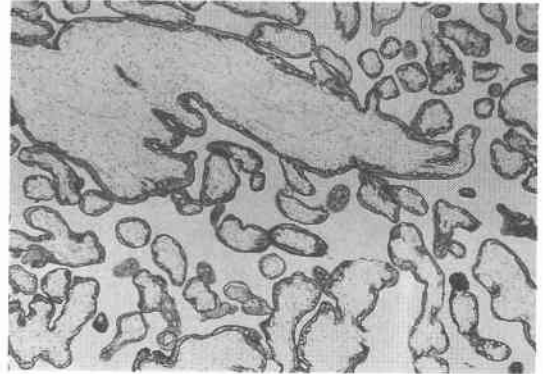


Fig. 2 Immunohistochemical staining of EGFR in esophageal cancer nests (SAB method, $\times 200$). Cancer cells are stained with mosaic pattern.

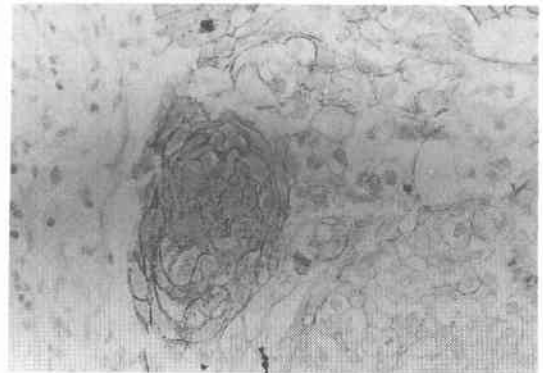


Fig. 3 Immunohistochemical staining of EGFR in esophageal cancer nests (SAB method, $\times 200$). Cancer cells are stained diffusely.

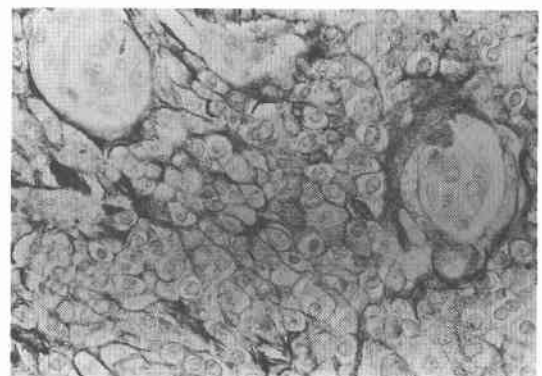


Table 1 Correlation between EGFR staining and clinicopathologic findings

Variable	No. of cases	EGFR Overexpression		P value
		positive	negative	
Sex				
Men	45	21 (47%)	24 (53%)	NS
Women	15	8 (53%)	7 (47%)	
Age				
≤60	25	15 (60%)	10 (40%)	NS
60<	35	14 (40%)	21 (60%)	
Tumor size (cm)				
<5	29	11 (38%)	18 (62%)	NS
5≤	31	16 (52%)	15 (48%)	
Location				
lu	5	2 (40%)	3 (60%)	NS
lm	44	24 (55%)	20 (45%)	
Ei	10	3 (30%)	7 (70%)	
Ea	1	1 (100%)	0 (0%)	
Gross type				
superficial	9	2 (22%)	7 (78%)	NS
protruding	11	7 (64%)	4 (36%)	
ulcerative	38	19 (50%)	19 (50%)	
diffuse	2	1 (50%)	1 (50%)	
Histological type				
well	31	14 (45%)	17 (55%)	NS
moderately	23	12 (52%)	11 (48%)	
poorly	6	3 (50%)	3 (50%)	
Depth of invasion				
ep, mm	3	1 (33%)	2 (66%)	NS
sm	5	1 (20%)	4 (80%)	
mp	12	5 (42%)	7 (58%)	
a1	20	11 (55%)	9 (45%)	
a2, a3	20	11 (55%)	9 (45%)	
Lymph node metastasis				
n0	13	2 (15%)	11 (85%)	<0.01
n1, 2	25	10 (40%)	15 (60%)	
n3, 4	22	17 (77%)	5 (23%)	
Histological stage				
stage 0-2	18	4 (22%)	14 (78%)	<0.01
stage 3, 4	42	25 (60%)	17 (40%)	

統計学的検定は χ^2 検定および Student's T test に従った。また生存率は Kaplan-Meier 法にて算出し、有意差は generalized Wilcoxon test により検定した。

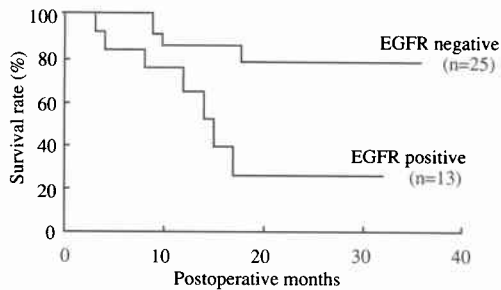
結 果

1) EGFR 免疫組織化学的染色結果

陽性対照のヒト胎盤では、すべての微絨毛表面に EGFR が褐色に染色され、染色程度は毎回ほぼ一定であった (Fig. 1)。食道癌原発巣における EGFR の発現はおもに細胞膜上に認められたが、一部の症例では細胞質も同様に染色された。また、同一切片上の正常食道粘膜では基底細胞および傍基底細胞に弱い染色性が

みられた。そこで、この正常粘膜を internal control とし、染色強度および染色率を以下のように点数化して判定した。強度：0 度—染色が認められない。1 度—正常粘膜と同程度の弱い染色。2 度—中等度の染色。3 度—胎盤と同程度の強い染色。染色率：1 点—1,000 個の細胞のうち 0~33% に 1 度以上の染色強度。2 点—34~67% に 1 度以上の染色強度。3 点—67~100% に 1 度以上の染色強度。総合判定は染色強度と染色率の積を染色スコアとして算出し、スコア 3 以上のものを陽性 (過剰発現) と判定した。EGFR 陽性例は 60 例中 29 例 (48%) に認められたが、このうち大部分の症例

Fig. 4 The cumulative survival curves of 38 curative cases. There is significant difference between EGFR positive and negative groups ($p < 0.05$).



ではひとつの癌巣内に染色強度の異なる癌細胞が混在するモザイク様の染色パターンを呈した (Fig. 2). このような症例では、より染色率の高い細胞群の染色態度が、その癌巣における主たる発現様式と考えて判定した。一方、他の症例では、癌巣全体がびまん性に、同程度の強度で染色された (Fig. 3).

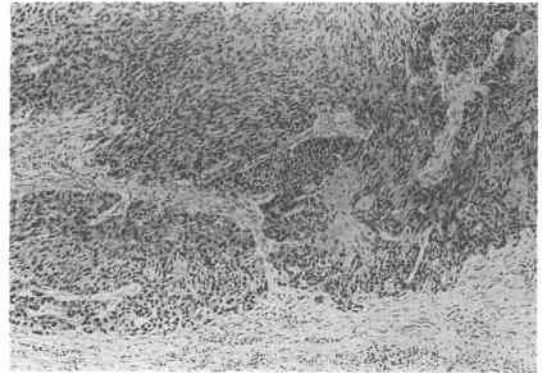
2) EGFR 過剰発現と臨床病理学的因子および予後との関連

食道癌の臨床病理学的因子は食道癌取り扱い規約第8版⁴⁾に基づき、EGFR 過剰発現との関連を検討した (Table 1). 性別、年齢、肉眼型、腫瘍占居部位および腫瘍径では EGFR の発現に明らかな差は認められなかった。また、組織型では高分化型、中分化型、低分化型とも同程度の陽性率であった。組織学的深達度では、sm以下の表在癌における陽性率は20~33%、mp癌では42%、a₁以上が55%と深達度が増すにつれて陽性率も高値となったが、有意差は認められなかった。組織学的リンパ節転移度では、n(-)例が15%、n₁、n₂例が40%であるのに対し、n₃以上では77%であり、3群以上のリンパ節転移を有するものは2群以下の症例に比べて有意に陽性率が高かった。組織学的進行度では、stage 2以下の症例は22%であったが、stage 3以上では60%であり、進行例において有意に陽性率が高かった。これら60例のうち他病死を除いた治癒切除例38例を EGFR 陽性群と EGFR 陰性群の2群に分けて生存率を比較したところ、EGFR 陽性群は陰性群に比べて有意に予後が不良であった (Fig. 4).

3) EGFR 過剰発現と増殖活性との関連

PCNA の発現は細胞の核に顆粒状あるいはびまん性に認められた (Fig. 5). 正常食道粘膜では基底細胞層あるいは傍基底細胞層を中心に PCNA の発現が認められた。正常粘膜における発現は全症例に認められ、

Fig. 5 Immunohistochemical staining of PCNA in esophageal cancer nests (SAB method, $\times 40$).



その PCNA L.I. は $8.1 \pm 4.5\%$ であった。固定時間あるいは保存期間による染色性の差異は認められなかった。一方、食道癌組織における PCNA L.I. は $55.8 \pm 16.3\%$ であり、正常粘膜にくらべ有意に高値であった ($p < 0.01$). なお、癌巣の中心部よりも辺縁部において PCNA の陽性率が高い傾向を認めたが、これは EGFR の発現部位と必ずしも一致しなかった。EGFR 陽性例と陰性例における PCNA L.I. を比較したところ、陽性例では $56.9 \pm 16.3\%$ 、陰性例では $54.7 \pm 16.2\%$ と差は認められなかった (Table 2). また、EGFR 染色スコア別に PCNA L.I. を比較してみると、EGFR 陽性例において強度の発現を示すスコア 6、9 の症例では、スコア 3、4 の症例にくらべて PCNA L.I. が低値を示していた (Fig. 6). 一方、臨床病理学的因子と PCNA との関係を見ると、性別、年齢、組織型、リンパ節転移度および進行度では特に関連は認められなかったが、深達度において、ep、mm の粘膜癌症例での PCNA L.I. は $26.6 \pm 9.5\%$ と sm~a₁ の症例に比べて有意に低値を示した ($p < 0.01$). また、a₂以上の症例の PCNA L.I. は $50.2 \pm 18.3\%$ と mp、a₁ 症例にくらべて有意に低値であった ($p < 0.05$).

4) EGFR 過剰発現とヌードマウス移植成績との関連

34例の原発巣をヌードマウス皮下に移植し、その生着率は62%であった。EGFR 陽性例の生着率は57% (12/21例)、陰性例では69% (9/13例) であり、陰性例においてやや高値を示した (Table 3). 一方、移植症例における EGFR 陽性例の PCNA L.I. は $56.8 \pm 18.1\%$ 、陰性例では $61.5 \pm 13.3\%$ と、これも陰性例がやや高値であった。また、生着腫瘍の発育態度をみる

Table 2 Correlation between PCNA L.I. and clinicopathologic findings

Variable	No. of cases	PCNA L.I.(%)	P value
Normal mucosa	60	8.1±4.5	
Primary tumor	60	55.8±16.3	p<0.01
<u>EGFR Overexpression</u>			
positive	29	56.9±16.3	
negative	31	54.7±16.2	NS
Sex			
Men	45	55.9±15.4	
Women	15	55.4±19.3	NS
Age			
≤60	25	53.9±18.2	
60<	35	57.4±14.8	NS
Histological type			
well	31	54.7±15.2	
moderately	23	57.6±16.5	
poorly	6	53.6±18.9	NS
Depth of invasion			
ep, mm	3	26.6±9.5	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">} *</div> <div style="margin-right: 10px;">} *</div> <div style="margin-right: 10px;">} *</div> <div style="margin-right: 10px;">} **</div> <div style="margin-right: 10px;">} **</div> </div>
sm	5	61.3±8.5	
mp	12	61.4±13.2	
a1	20	59.6±12.1	
a2, a3	20	50.2±18.3	
Lymph node metastasis			
n0	13	52.6±16.2	
n1, 2	25	56.1±16.9	
n3, 4	22	57.2±15.3	NS
Histological stage			
stage 0-2	18	54.8±17.1	
stage 3, 4	42	56.2±15.9	NS

Fig. 6 Relationship between PCNA L.I. and EGFR immunoreactivity

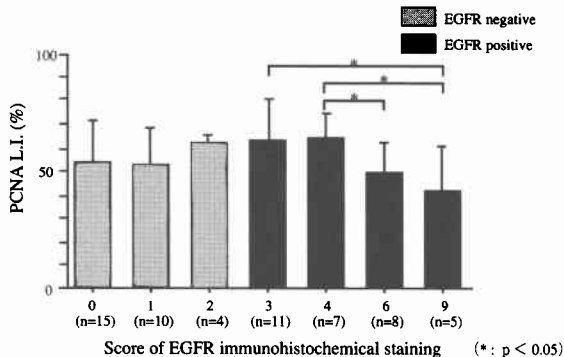


Table 3 Relationship between EGFR overexpression and transplantability into nude mice

EGFR Overexpression	No. of cases	Taken cases	Non-taken cases
positive cases	21	12(57%)	9(43%)
negative cases	13	9(69%)	4(31%)

陰性例にDTが短い傾向を認めた (Table 4)。生着例におけるEGFR陽性例のPCNA L.I.は55.2±19.2%，陰性例では64.9±11.9%であり，PCNA L.I.が高い方が急速発育型が多く，またDTも短いという結果であった。

考 察

EGFRは種々のヒト悪性腫瘍で過剰発現が報告されており，臨床病理学的因子との関連が検討されている。たとえば乳癌ではEGFR陽性例におけるdisease free intervalの短縮が報告されており⁵⁾，また胃癌に

と，EGFR陽性例では急速発育型，遅速発育型がともに42%であったのに対し，陰性例では急速発育型が78%と大半を占めた。DTについての比較では，EGFR陽性例が18.3±9.8日，陰性例が10.4±4.2日であり，

Table 4 Relationship between EGFR overexpression and growth characteristics of transplanted tumors

EGFR Overexpression	Growth type			Doubling time (days)
	Rapid ^{a)}	Slow ^{b)}	Persistent ^{c)}	
positive cases	5(42%)	5(42%)	2(16%)	18.3±9.8
negative cases	7(78%)	1(11%)	1(11%)	10.4±4.2

a) Tumor size reaches more than 100mm² in length (mm)×width(mm) within 10weeks after transplantation.

b) Tumor size reaches more than 100mm² after 10weeks after transplantation.

c) Tumor size dose not reach more than 100mm².

においては EGFR 陽性例は未分化型に多く、深部浸潤増殖傾向が強いとする報告や⁹⁾、逆に分化型進行癌において陽性率が高いとする報告がみられる⁷⁾。食道癌における EGFR 過剰発現は、これまで主に¹²⁵I-EGF binding assay による検討が多くなされておられ、Ozawa ら⁸⁾は40.6%に、また Mukaida ら⁹⁾は60%に過剰発現を認め、過剰発現群における予後が不良であったことを報告している。一方、免疫組織化学的手法による検討では、Yano ら¹⁰⁾の報告によると陽性率は47%であり、リンパ節転移との間に相関が認められたとしている。また、板倉ら¹¹⁾は67.2%に過剰発現を認め、表在癌よりも進行癌において高率になる傾向を認めたことより増殖浸潤能との関連を推測している。今回のわれわれの検討では、EGFR 陽性率は48%であり、Yano らの報告とほぼ一致した。また、臨床病理学的因子ではリンパ節転移度、組織学的進行度との間に相関が認められた。特に3群以上のリンパ節転移を有する症例における陽性率は高く、EGFR 陽性食道癌は発見時には既に高度リンパ節転移を来した進行癌となっている例が多いと考えられた。また予後に関しても、治癒切除施行例における EGFR 陽性例は陰性例に比べ有意に予後不良であり、EGFR 過剰発現は高度なリンパ節転移を伴うことにより食道癌の予後を規定する一因子となりうる事が推察された。EGFR とリンパ節転移との関係については、消化器癌における報告では関連を認めないとするものが多い^{6)8)9)11)~13)}が、Yano ら¹⁰⁾は食道癌原発巣およびリンパ節転移巣の染色性を比較し、EGFR 強陽性の癌細胞ほど転移しやすいと推測している。しかし、EGFR がどのような形で転移機構に影響を及ぼすかについては解明されておらず、したがって、この点についてさらに検討する必要

があると思われた。例えば一つの可能性として、癌細胞自らが EGFR およびその ligand を産生し、正常の制御を受けずに増殖が促進されるとする autocrine theory¹⁴⁾が従来より提唱されているが、それによって高い増殖能を獲得した癌細胞が転移しやすいのかもしれない。EGFR と増殖活性との関連については、米村ら⁶⁾は胃癌において EGFR 陽性例は BrdU labeling index が高いことを報告しており、また荒井ら⁷⁾も胃癌において EGFR の発現による NOR_sの増加を報告しているが、食道癌症例について詳細に検討した報告は検索しえた限りでは認められない。そこで今回、増殖活性の指標として、ホルマリン固定標本にも使用可能である PCNA を用いて検索を行った。PCNA は DNA polymerase- δ の補助蛋白質で、細胞回転において G1後期から増え始め、G1/S 移行期に最も増え、G2 期に減少し、M 期および G0期には免疫学的に検出できないという特徴があり、細胞増殖の有用なマーカーと考えられている¹⁵⁾¹⁶⁾。今回の検討では、諸家の報告と異なり、EGFR 過剰発現の有無と PCNA L.I. との間に相関は認められなかった。また、EGFR 陽性例においては、発現の強度な症例ほど PCNA L.I.が低い値を示した。したがって、食道癌においては、EGFR の発現が癌細胞の増殖活性を促進させるとは考えにくく、逆に抑制する可能性もあるものと思われた。一方、深達度における PCNA L.I.の変動を見ると、癌腫が粘膜内から粘膜下層に浸潤する際に癌細胞の増殖活性に変化が生じることが推測された。すなわち、粘膜筋板を越えて浸潤する癌は粘膜癌に比較して増殖活性が高く、浸潤性が高度な癌であると考えられた。ただし、a₂以上では、EGFR が強陽性かつ PCNA L.I.が低値の症例が a₁以下の症例にくらべ多数認められたため、総じて PCNA L.I.が低下したものと考えられた。以上を総合して考えると、食道癌は粘膜内にとどまっている間は増殖能の低い癌であるが、粘膜下層へ浸潤していく過程において高い増殖活性を獲得し、転移能を有する細胞も出現してくる。しかし、この段階においては EGFR の関与は少ないものと思われ、EGFR 以外の増殖因子、あるいは p53¹⁷⁾¹⁸⁾や cyclin D¹⁹⁾など細胞周期の制御に関与する遺伝子群の異常などが主として関係しているのではないかと考えられた。EGFR の発現は転移能の獲得の段階よりもさらに後期の高度なリンパ節転移を有していく過程においておもに認められ、また、この段階では増殖活性の低下した細胞も出現してくることより、EGFR は主として細胞増殖よりも転移

に関連する何らかの因子に作用することにより、これを促進させる方向に機能するのではないかと思われた。この点に関しては、EGFRのligandであるEGFやTGF- α が、増殖に対する効果とは別に細胞の運動性を亢進させたり²⁰⁾、細胞外マトリックス分解酵素の産生を亢進させる²¹⁾などの機能を有することが報告されていることから、支持しうるものと思われる。

EGFRの発現とヌードマウス移植腫瘍の増殖態度との関連についての報告例は少ないが、向田ら²²⁾はヌードマウス可移植食道癌株を用いた¹²⁵I-EGF binding assayによる検討で、EGFRが高値の腫瘍ほどDTが短く増殖が盛んであるとし、生着性も高くなると推察している。また、奥田ら²³⁾は胃癌株を使用した実験で、EGF投与による腫瘍増殖促進傾向を認め、胃癌の増殖に対するEGF-EGFR系の関与を報告している。一方、邑山ら²⁴⁾は食道癌株を用いた実験で、EGF投与による抗腫瘍効果を認めたことを報告しており、ヌードマウス移植腫瘍に対するEGFRの関連については一定の見解は得られていない。今回のわれわれの結果では、EGFRの発現と生着率との間に相関は認められず、むしろEGFR陰性例の方が高い生着率を示した。また、発育態度においても、EGFR陰性例から移植された腫瘍の方がEGFR陽性例の腫瘍にくらべ急速発育型の占める割合が多く、DTも短い傾向であった。移植腫瘍において原発巣と同様にEGFRが発現されるのかどうか、また、細胞環境の変化がEGFRの機能にどのように影響するかなどは不明であるが、中谷ら²⁵⁾、奥村ら²⁶⁾はヌードマウス移植腫瘍の生着性や発育態度は臨床上の腫瘍増殖能を反映すると報告しており、また高橋ら²⁷⁾は移植腫瘍における発育速度はその増殖活性と有意に相関することを述べている。したがって、ヌードマウス移植系はin vivoにおける有用な細胞増殖マーカーと考えられる。今回の研究においても、EGFR陰性例の方が生着率、発育速度ともに優位な結果であり、これは原発腫瘍の増殖活性を主として反映した結果と考えられた。したがって、ヌードマウス移植腫瘍におけるEGFRの発現様式やヌードマウス由来のEGFの関与などについて今後さらに検討の必要はあるが、食道癌の増殖能に対してはEGFRの関与は考えにくい、あるいは抑制的に作用する可能性もあることが示唆された。以上より、食道癌におけるEGFRの過剰発現は、単に細胞増殖能という観点からみた場合の悪性度には影響せず、おそらく癌細胞の転移に関連した何らかの因子に作用することで食道癌の

悪性度を高め予後を左右する可能性があると考えられた。今後、EGFRおよびそのligandと食道癌の転移機構に関与する細胞外マトリックス分解酵素や細胞間接着分子などとの関連についてさらに検討していく必要があると思われた。

文 献

- 1) Cohen S, Ushio H, Stoccheck C et al: Anative 170,000 epidermal growth factor receptor-kinase complex from shed plasma membrane vesicle. *J Biol Chem* 257: 1523-1531, 1982
- 2) Yamamoto T, Kamata N, Kawano H et al: High incidence of amplification of the epidermal growth factor receptor gene in human squamous carcinoma cell lines. *Cancer Res* 46: 414-416, 1986
- 3) 渡辺明彦: ヌードマウスに移植したヒト胃癌の発育態度と患者の予後. *奈良医誌* 38: 600-612, 1987
- 4) 食道疾患研究会編: 食道癌取り扱い規約. 改訂第8版. 金原出版, 東京, 1992
- 5) Lewis S, Locker A, Todd JH et al: Expression of epidermal growth factor receptor in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 43: 385-389, 1990
- 6) 米村 豊, 杉山和夫, 鎌田 徹ほか: 胃癌におけるEpidermal Growth Factor Receptor (EGFR)活性と予後. *日外会誌* 89: 1611, 1988
- 7) 荒井理夫, 広瀬和郎, 中川原儀三ほか: 胃癌におけるEpidermal Growth factorとその受容体の発現とDNA ploidy pattern及びNucleolar Organizer Regionsとの関連性. *日外会誌* 95: 171, 1994
- 8) Ozawa S, Ueda M, Ando N et al: Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer* 63: 2169-2173, 1989
- 9) Mukaida H, Toi M, Hirai T et al: Clinical significance of the expression of epidermal growth factor receptor in esophageal carcinoma. *Cancer* 68: 142-148, 1991
- 10) Yano H, Shiozaki H, Kobayashi K et al: Immunohistologic detection of the epidermal growth factor receptor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 67: 91-98, 1991
- 11) 板倉祐子, 笹野公伸, 志賀千鶴子ほか: 食道癌におけるEpidermal Growth Factor Receptor (EGFR)発現の検討. 消癌の発生と進展 5: 195-199, 1993
- 12) 吉川恵三, 加藤道男, 斎藤洋一: 胃癌におけるEpidermal Growth Factor Receptor発現の免疫組織化学的および病理組織学的研究. *日外会誌* 94: 1231-1238, 1993
- 13) 佐々木亮孝, 菅野千治, 須藤隆之ほか: 胆管癌におけるEpidermal Growth Factor Receptorおよび

- c-erbB-2 遺伝子産物に関する免疫組織学的検討.
日外会誌 91 : 1758, 1990
- 14) Sporn MB, Roberts AB: Autocrine growth factor and cancer. *Nature* 313 : 745-747, 1986
 - 15) 松野吉宏, 向井 清: 増殖細胞核抗原(PCNA), 病理と臨 9 : 879-883, 1991
 - 16) Mori M, Kakeji Y, Adachi Y et al: The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen in clinical gastric cancer. *Surgery* 113 : 683-690, 1993
 - 17) Bennitt WP, Hollstein MC, Metcalf RA et al: p53 mutation and protein accumulation during multistage human esophageal carcinogenesis. *Cancer Res* 52 : 6092-6097, 1992
 - 18) 郷右近祐司, 笹野公伸, 西平哲郎ほか: ヒト食道病変においての腫瘍抑制遺伝子 p53 発現の検索-免疫組織化学および in situ hybridization を用いた検討-. *消癌の発生と進展* 4 : 87-91, 1992
 - 19) Jian W, Kahn SM, Tomita N et al: Amplification and expression of the human cyclin D gene in esophageal cancer. *Cancer Res* 52 : 2980-2983, 1992
 - 20) Stoker M, Gherardi E: Regulation of cell movement: the motogenic cytokines. *Biochem Biophys Acta* 1072 : 81-102, 1991
 - 21) 中島元男: 転移に関する細胞外マトリックス分解酵素. *実験医* 10 : 249-255, 1992
 - 22) 向田秀則, 平井敏弘, 戸井雅和ほか: ヌードマウス可移植ヒト食道癌における Epidermal Growth Factor Receptor の測定およびその増殖に及ぼす影響. *Oncologia* 21 : 55-60, 1988
 - 23) 奥田武志, 恩田昌彦, 徳永 昭ほか: ヌードマウス移植ヒト胃癌の増殖に対する EGF (Epidermal growth factor) の影響. *消癌の発生と進展* 4 : 427-430, 1992
 - 24) 邑山洋一, 丸尾幸嗣: ヌード・マウス移植ヒト食道癌に対する Epidermal Growth Factor の抗腫瘍効果. *日外会誌* 90 : 796, 1989
 - 25) 中谷勝紀, 渡辺明彦, 宮城信幸ほか: ヌードマウスへのヒト胃癌の移植-発育態度と患者の予後との関係-. *日外会誌* 88 : 1515, 1987
 - 26) 奥村 徹, 中谷勝紀, 渡辺明彦ほか: ヒト食道癌のヌードマウスへの移植成績-ヒト胃癌との比較-. *日外会誌* 90 : 314, 1989
 - 27) 高橋 豊, 渡辺秀人, 藤岡 央ほか: ヌードマウス移植ヒト胃癌株における PCNA 染色率と発育速度との相関. *日外会誌* 93 : 1511, 1992

Epidermal Growth Factor Receptor Overexpression in Human Esophageal Carcinoma and Its Relationship to the Proliferative Activity

Jun Yamashita, Akihiko Watanabe, Hidetomo Sawada, Yukishige Yamada,
Yoshihide Shino, Takashi Yamada, Masahiko Matsuda,
Takeshi Miwa and Hiroshige Nakano
First Department of Surgery, Nara Medical University

To determine the significance of epidermal growth factor receptor (EGFR) overexpression in human esophageal carcinoma, we immunohistochemically analyzed 60 tumors which were obtained from patients who underwent surgery. EGFR overexpression, located on the cancer cell membrane, was observed in 48% of these tumors. In a comparison with clinicopathological findings, significant correlations were observed between EGFR overexpression and lymph node metastasis, histologic stage or cumulative survival rate. On the other hand, to study the relationship between EGFR overexpression and the proliferative activities, we stained serial sections immunohistochemically by using the anti-proliferating cell nuclear antigen (PCNA), and determined the PCNA labeling index (LI). There was no significant association between EGFR overexpression and PCNA LI. Moreover, 34 tumors were transplanted into nude mice subcutaneously, and no significant association was found between EGFR overexpression and transplantability, growth type or doubling time of these transplanted tumors. These results suggest that the malignant potential of esophageal carcinoma with EGFR overexpression did not result from acceleration of the proliferative activity and EGFR seems to act as an enhancer of metastatic mechanism.

Reprint requests: Jun Yamashita First Department of Surgery, Nara Medical University
840 Shijo, Kashihara, 634 JAPAN