

## 脈管浸潤巣 Sialyl Lewis X の大腸癌肝転移 および残肝再発における意義

横浜市立大学医学部外科学第2講座 (主任: 嶋田 紘教授)

田 中 邦 哉

大腸癌肝転移および肝転移切除後残肝再発の予測因子を探る目的で、大腸癌原発巣 (78例) における脈管浸潤巣の Sialyl Lewis X (SLe<sup>x</sup>) 発現と肝転移の相関と、切除した大腸癌肝転移巣 (22例) における脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup> 発現と残肝再発の相関を検討した。原発巣の脈管浸潤巣で SLe<sup>x</sup> 発現陽性であった16例の累積肝転移率は陰性32例に比較し高率であり ( $p < 0.01$ )、3年累積肝転移率はそれぞれ 50.0%、35.0%であった。肝転移切除例のうち、原発巣周囲の脈管浸潤巣で SLe<sup>x</sup> 発現陽性であった10例の累積残肝再発率は、陰性4例と差はなかった。一方、肝転移巣周囲の脈管浸潤巣で SLe<sup>x</sup> 発現陽性であった9例の累積残肝再発率は、陰性4例に比較し高率であった ( $p < 0.05$ )。以上より、原発巣周囲における脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup> 発現は肝転移、肝転移巣周囲における脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup> 発現は、残肝再発の重要な予測因子のひとつになると考えられた。

**Key words:** liver metastasis of colorectal cancer, residual liver recurrence, Sialyl Lewis X, vascular permeation

### 緒 言

大腸癌肝転移に対する肝切除後の残肝再発の頻度は、系統的肝切除術<sup>1)</sup>や、補助化学療法<sup>2)~4)</sup>が積極的に施行される現在でも高率である。残肝再発も含めて肝転移の発生には癌細胞が血中へ流入することが必要で、この静脈侵襲が高度な場合、肝転移を生じやすいといわれている<sup>5)~7)</sup>。残肝再発には原発巣からの occult cancer と主転移巣から浸潤発育した、いわゆる satellite focus があると考えられる。肝転移巣周囲の脈管侵襲が残肝再発に影響することから、satellite focus の重要性についてはすでに報告されている<sup>8)</sup>。

Sialyl Lewis X (SLe<sup>x</sup>) と Endothelial-Leukocyte Adhesion Molecule-1 (ELAM-1) の接着は白血球を脈管内皮側の marginal flow に乗せ内皮上を rolling させる初期接着に関与する<sup>9)~11)</sup>。SLe<sup>x</sup> は腫瘍細胞自体が有する糖鎖抗原の一種<sup>12)</sup>でもあり、大腸癌細胞でも細胞表面に表出され転移過程で脈管内皮接着に重要と考えられている<sup>13)~15)</sup>。

今回この脈管浸潤巣での SLe<sup>x</sup> 発現に注目し、肝転移および残肝再発との相関を検討した。

### 対象と方法

肝転移の検討対象は、根治度 A の切除が施行され、2年以上経過観察された大腸癌78例(78病巣)、残肝再発の検討対象は、治癒的肝切除が施行され、2年以上経過観察された大腸癌肝転移22例(36病巣)とした (Table 1)。

原発巣は腫瘍最大断面の先進部周辺を採取し、肝転移巣は最大断面で切り出し全割した。原発巣には hematoxylin-eosin・victoria-blue (HE・VB) 染色を、肝転移巣には hematoxylin-eosin (HE) 染色を施行した。

脈管浸潤巣は、原発巣では HE・VB 染色陽性の脈管内の腫瘍細胞集団、肝転移巣では転移巣周囲の門脈、静脈、胆管および類洞内の腫瘍細胞集団とした。

脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup> 発現は、連続切片に抗 SLe<sup>x</sup> 抗体 (KM93, Kyowa, 希釈倍率 1 : 50) を 1 次抗体とした間接法による免疫組織染色を行い検討した。陽性は癌細胞集団の 50% 以上が染色された病巣とした。同一標本に複数の脈管浸潤巣が観察された場合、観察された病巣の半数以上が SLe<sup>x</sup> を発現している症例を陽性、未満を陰性と定義した。

肝転移再発の確認は、術後 3 か月ごとの CEA を中心とした腫瘍マーカーの測定、および 3 ないし 6 か月

**Table 1** Profiles of patients

(1) Patients for study of liver metastases

Variables of primary tumor (n=78)		No. of patients
Age	mean±S.D.	61.8±9.6 (years)
Depth of invasion	m	2
	sm	8
	mp	10
	ss/a1	28
	ae/a2	22
	si/ai	8
Lymph node metastases	n0	49
	1	15
	2	12
	3	0
	4	2
Histology	well	37
	mod	35
	por	2
	muc	4

(2) Patients for study of residual liver recurrence

Variables of primary tumor (n=22)		No. of patients
Age	mean±S.D.	58.8±9.7 (years)
Depth of Invasion	sm	1
	mp	2
	ss/a1	5
	se/a2	14
	si/ai	0
Number of metastases	n0	6
	1	5
	2	9
	3	0
	4	2
Variables of Metastatic liver tumor (n=22)		No. of patients
Number of metastases	1	13
	2	5
	3	3
	4	1
H factor	H1	14
	2	8
	3	0
Synchronous		8
Metachronous		14
Histology	well+tub	7
	mod	15

**Table 2** SLe<sup>x</sup> expression of vascular permeating lesions of primary tumor and metastatic liver tumor

	Location	Ratio of SLe <sup>x</sup> expression (%)
Primary tumor	smv (n=20)	10.0
	mpv (n=15)	13.3
	ssv (n=27)	59.3
Metastatic liver tumor	Portal vein (n=11)	54.5
	Vein (n=11)	72.7
	Bile duct (n=6)	83.3
	Sinusoid (n=5)	60.0

(\*)p&lt;0.01 (\*\*)p&lt;0.05

smv: vascular permeating lesions locating in the sub-mucosal layer, mpv: vascular permeating lesions locating in the muscle layer, ssv: vascular permeating lesions locating in the subserosal layer

ごとの腹部超音波検査, 腹部 CT 検査により施行した。統計学的処理は  $\chi^2$  検定を用い, 累積再発率の解析は Kaplan-Meier 法, generalized Wilcoxon 検定を用いた。いずれも  $p < 0.05$  をもって有意と判定した。

### 結 果

#### 1. 累積肝転移率と累積残肝再発率

大腸癌根治術後の 3 年累積肝転移率は 32.6% であった。治癒的肝切除後の 3 年累積残肝再発率は 42.3% であった。

#### 2. 脈管浸潤巣の局在および SLe<sup>x</sup> 発現

原発巣周囲脈管浸潤巣は対象 78 例中, 48 例 62 病巣認められ, 局在部位は粘膜下 (smv) 20 (病巣), 固有筋層 (mpv) 15, 漿膜下 (ssv) 27 であった。このうち SLe<sup>x</sup> 発現陽性脈管浸潤巣は 32.3% (20/62) で, 部位別の SLe<sup>x</sup> 発現率は, smv が 10.0% (2/20), mpv が 13.3% (2/15), ssv が 59.3% (16/27) で, 後者は前 2 者に比較し高率であった (それぞれ  $p < 0.01, p < 0.05$ ) (Table 2, Fig. 1-(1))。

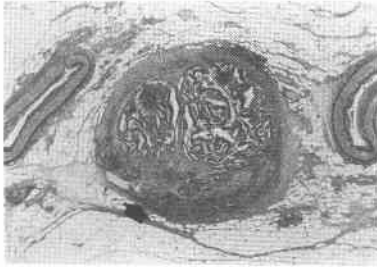
肝転移周囲脈管浸潤巣は対象 22 例中, 13 例 33 病巣認められ, 局在部位は門脈 11 (病巣), 静脈 11, 胆管 6, 類洞 5 であった。このうち SLe<sup>x</sup> 発現陽性脈管浸潤巣は 66.7% (22/33) で, その局在は門脈が 54.5% (6/11), 静脈が 72.7% (8/11), 胆管が 83.3% (5/6), 類洞が 60% (3/5) であった (Table 2, Fig. 1-(2))。

**Fig. 1-(1)** (A, C) Cancer cell clusters were present in vessels around primary tumors. (HE • VB, ×40)

(B, D) Serial section of the area shown in A, C respectively. Sialyl Lewis X was positive in vascular permeating lesion in A, but not in C. (Immunostaining for Sialyl Lewis X)

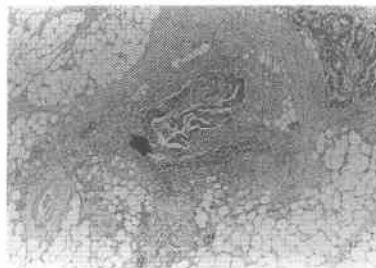
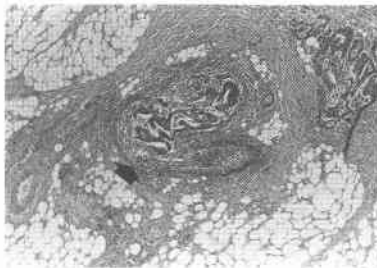
A. (HE. VB staining)

B. (immunohistochemical staining)



C. (HE. VB staining)

D. (immunohistochemical staining)



**Fig. 1-(2)** Immunostaining for Sialyl Lewis X in vascular permeating lesions surrounding liver metastatic lesions.

Sialyl Lewis X-stained vascular permeating lesions were found in portal vein (A), bile duct (B), central vein (C) and sinusoid (D).

A	B
C	D

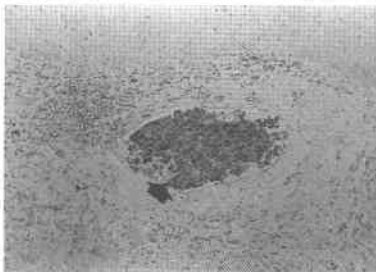
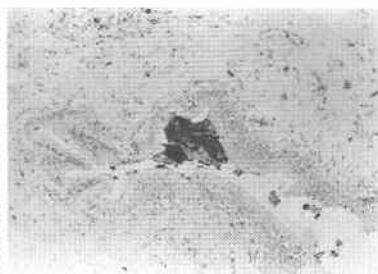
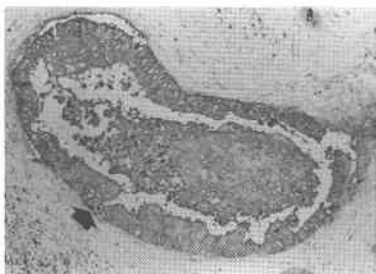
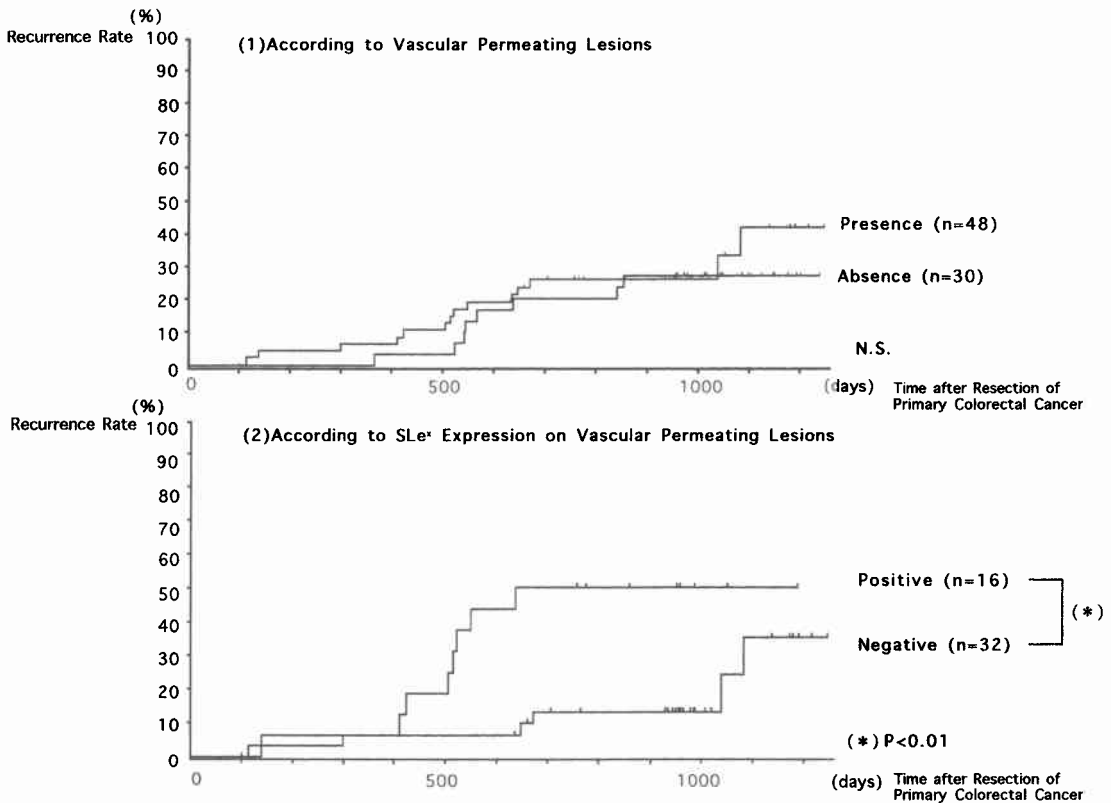


Fig. 2 Cumulative recurrence rate of liver metastases



3. 原発巣周囲の脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現と肝転移再発

原発巣周囲に脈管浸潤を有する48例と脈管浸潤巣陰性30例の累積肝転移率に差はなく、脈管浸潤巣陽性例の3年累積肝転移率は41.5%、脈管浸潤巣陰性例の累積肝転移率は27.0%であった。脈管浸潤巣陽性例を SLe<sup>x</sup>発現の有無で2群に分けて検討すると、脈管浸潤巣 SLe<sup>x</sup>発現陽性16例の累積肝転移率は脈管浸潤巣 SLe<sup>x</sup>発現陰性32例に比較し高率であり (p<0.01)、それぞれの3年累積肝転移率は50.0%、35.0%であった (Fig. 2)。

4. ① 原発巣周囲の脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現と残肝再発

肝転移切除22例のうち原発巣周囲に脈管浸潤を有する症例は14例で、脈管浸潤巣陽性例と脈管浸潤巣陰性8例の累積残肝再発率に差はなかった。脈管浸潤巣陽性14例を SLe<sup>x</sup>発現の有無で2群に分けて検討すると、脈管浸潤巣 SLe<sup>x</sup>発現陽性10例の累積残肝再発率は、脈管浸潤巣 SLe<sup>x</sup>発現陰性4例と比較し差はなかった (Fig.

3)。

② 肝転移巣周囲の脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現と残肝再発

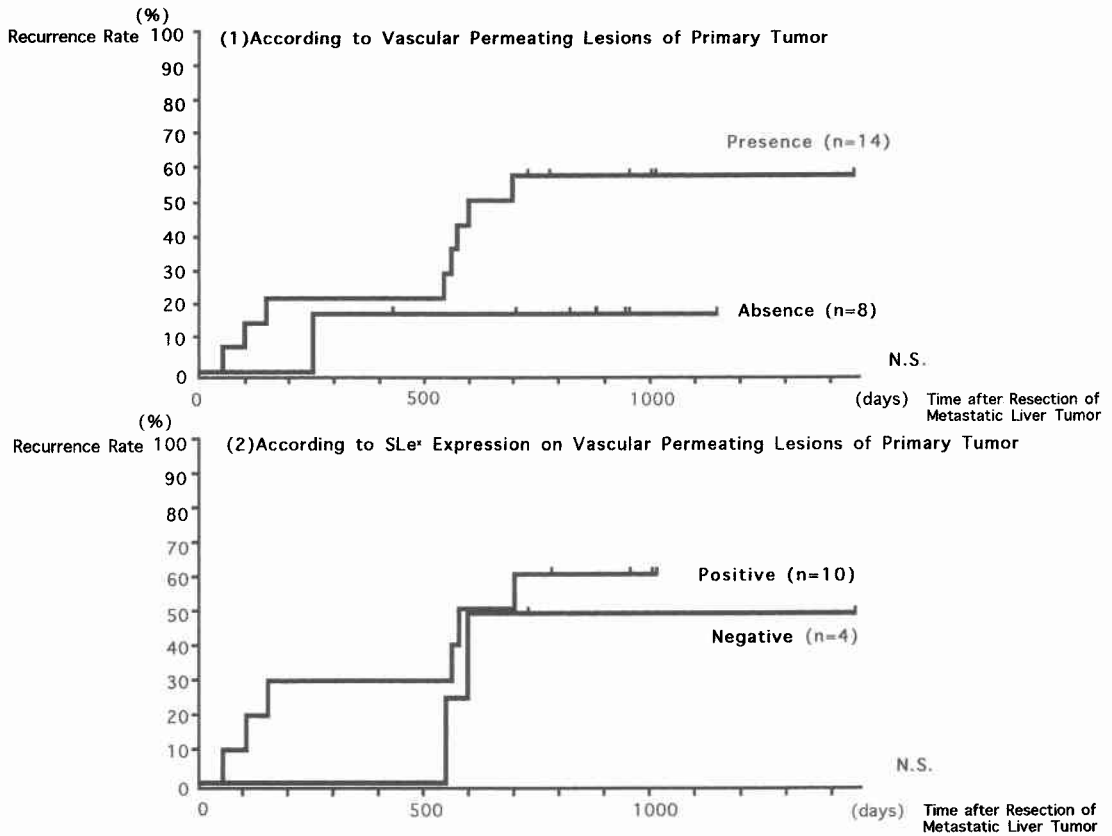
肝転移切除22例のうち肝転移巣周囲に脈管浸潤を有する症例は13例で、脈管浸潤巣陽性例と脈管浸潤巣陰性9例の累積残肝再発率に差はなかった。脈管浸潤巣を SLe<sup>x</sup>発現の有無で2群に分けて検討すると、脈管浸潤巣 SLe<sup>x</sup>発現陽性9例の累積残肝再発率は、脈管浸潤巣 SLe<sup>x</sup>発現陰性4例に比較し高率であった (p<0.05) (Fig. 4)。

考 察

原発巣の静脈侵襲が高度な時、肝転移再発が高率に生じ<sup>5)~7)</sup>、また、肝転移巣周囲の脈管内病巣が高率にみられる時、残肝再発が高頻度に起こることが報告されている<sup>8)</sup>。すなわち、肝転移、残肝再発の予測因子として脈管内病巣の存在が重要と考えられている。

SLe<sup>x</sup>は type 2 blood group に分類される血液型関連糖鎖抗原の一種で<sup>13)~16)</sup>、炎症性 cytokine により血管内皮に出現する E-selectin の ligand のひとつであ

Fig. 3 Cumulative residual liver recurrence rate



る<sup>12)</sup>。肺癌、胃癌、大腸癌などでは癌細胞表面にも表出され、転移過程における癌細胞と脈管内皮細胞間接着にELAM-1を介して重要な役割を演じる<sup>13)~15)</sup>。さらに、大腸癌の肝転移巣では原発巣に比較しSLe<sup>x</sup>の発現頻度は高率で<sup>17)18)</sup>、SLe<sup>x</sup>の肝転移への関与が推測されている。

本稿では大腸癌の肝転移再発および肝転移巣切除後残肝再発の予測因子を探る目的で、脈管浸潤巣のSLe<sup>x</sup>発現に注目して検討した。

脈管浸潤部SLe<sup>x</sup>発現に関する報告は、山口ら<sup>19)</sup>の胃癌を対象とした検討のみで、胃癌原発巣周囲の静脈浸潤部SLe<sup>x</sup>発現率は30%と報告している。大腸癌を対象とした我々の検討でも原発巣周囲SLe<sup>x</sup>発現率は32.3%とこれとほぼ同等であった。

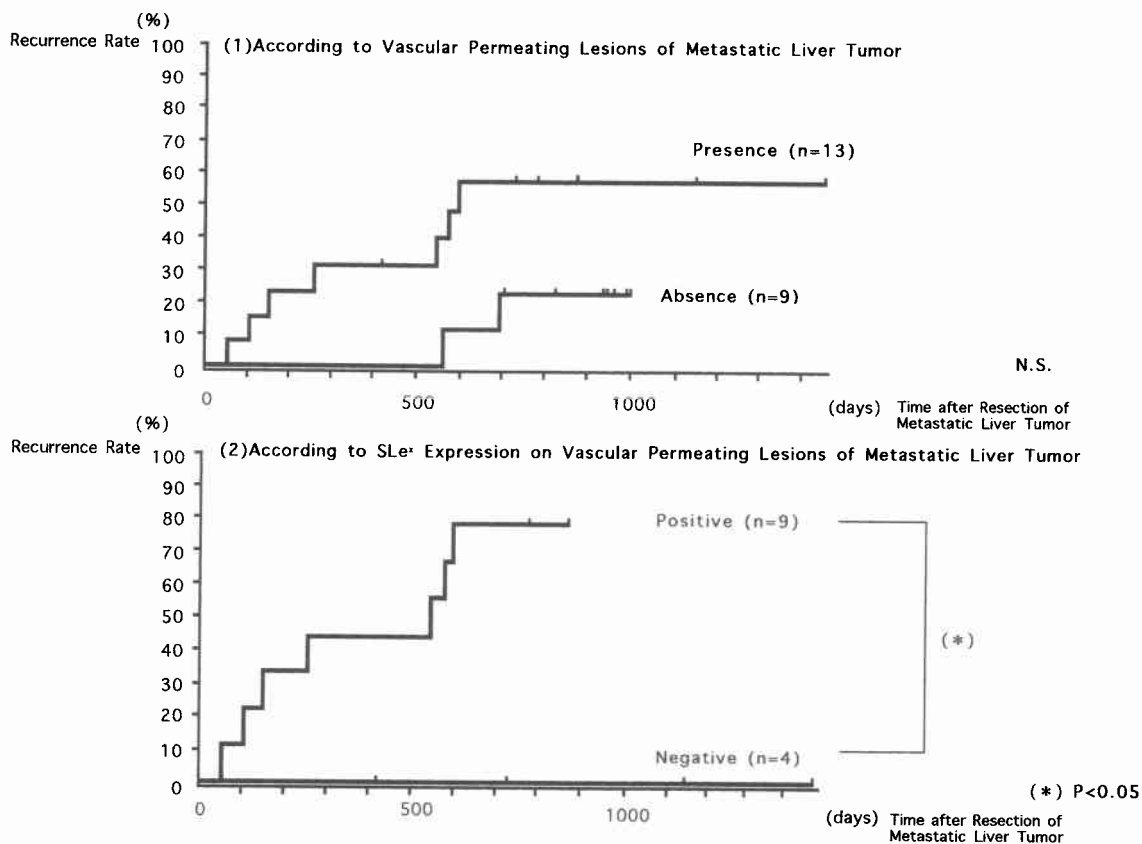
脈管浸潤部の局在部位に関しては、漿膜下静脈侵襲が肝転移とよく相関するとの報告がなされている<sup>5)20)~23)</sup>。今回ssvの脈管浸潤巣でSLe<sup>x</sup>発現が高率であったことは、SLe<sup>x</sup>発現と肝転移との相関を考えるう

えで興味深い所見と思われた。

肝転移周囲脈管浸潤巣は、他の肝内微小転移の報告<sup>8)24)</sup>と同様に門脈、静脈、類洞、胆管のいずれにも認められ、門脈内、静脈内が高頻度であった。各部位におけるSLe<sup>x</sup>発現は、胆管内で最も高率で、次いで静脈、類洞、門脈の順であった。検討した脈管浸潤巣の数が少なく、部位別のSLe<sup>x</sup>発現頻度に差を生じた理由は明らかでない。従来より、転移性肝癌の肝内の拡がりには門脈系が関与するといった報告<sup>8)25)</sup>のごとく、胆管内における微小転移巣の存在は重要視されることが多かった。しかし、南湖<sup>24)</sup>により、肉眼的肝転移巣から連続して胆管内に侵入する微小転移の存在が明らかとなった。さらに、今回の検討における転移巣周囲の脈管浸潤巣SLe<sup>x</sup>発現と残肝再発との相関を考慮すれば、残肝再発が胆管内の脈管浸潤巣からも生じることが示唆され、胆管ルートは、今後、残肝再発機序を解明していくうえで重要と考えられた。

累積肝転移率は原発巣周囲の脈管浸潤巣の有無で差

Fig. 4 Cumulative residual liver recurrence rate



はなく、脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現陽性例に高率であった。脈管浸潤の有無で累積肝転移率に差を認めず、脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現で差を認めたことから、脈管浸潤のみでは転移は成立しにくく、浸潤に接着能が加わることで、転移成立の可能性が高くなることが示唆された。

累積残肝再発率は原発巣周囲の脈管浸潤、原発巣周囲の脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現、さらに、肝転移巣周囲の脈管浸潤で差はなく、肝転移巣周囲の脈管浸潤巣上 SLe<sup>x</sup>発現陽性例が陰性例に比較し高率であった。この結果は、肝転移巣からの2次性転移による残肝再発が再発ルートとして重要である可能性を示唆した。

今回検討した残肝再発例のうち、肝転移巣周囲脈管浸潤巣で SLe<sup>x</sup>発現陽性であった7例のうち2例は肝切除時 TW 10mm 未満で、切離面近傍に再発しており、再発部位からも satellite focus による残肝再発である可能性が高いと考えられた。教室の残肝再発19例を対象とした CEA doubling time を用いた時間学的

検討でも、3例は原発巣切除時の残肝再発巣の予測腫瘍径が、転移が成立しえない大きさの  $\phi 100\mu\text{m}$  以下であることから主転移巣からの2次性転移と考えられ、他の16例は occult cancer, satellite focus のいずれの可能性も考えられた<sup>26)</sup>。これらの結果は今まで以上に残肝再発機序として satellite を重視すべき所見と思われる。しかし、一方で、検討した残肝再発例のうち肝転移周囲に脈管浸潤を有さない2例は、いずれも原発巣周囲の脈管浸潤巣で SLe<sup>x</sup>発現陽性であり、原発巣由来の脈管浸潤巣が残肝再発した可能性も否定できない。

肝転移巣周囲の脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現機序および意義は明らかでないが、残肝再発の経路が原発巣由来、肝転移巣由来のいずれでも肝転移巣周囲の脈管浸潤巣で SLe<sup>x</sup>を高率に発現している症例は残肝再発の高危険群であり、肝転移巣周囲の脈管浸潤巣の SLe<sup>x</sup>発現は残肝再発の予測因子のひとつとして重要であると考えられた。

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えられ、御指導・御校閲を賜りました横浜市立大学医学部第2外科学教室 嶋田 紘教授、ならびに直接御指導・御校閲いただいた山岡博之講師、渡会伸治講師に深甚なる謝意を表します。

### 文 献

- 1) 安井健二, 加藤知行, 平井 孝: 大腸癌肝転移の外科治療における系統的肝切除とリンパ節郭清の意義. 手術 45: 1749-1753, 1991
- 2) 奥山和明, 粟野友太, 唐司則之ほか: 大腸癌肝転移例に対する術前・術後動注療法の意義. 癌と化療 19: 1511-1514, 1992
- 3) 遠藤善裕, 谷 徹, 川口 晃ほか: 大腸癌肝転移切除例に対する予防的術後肝動注塞栓療法の検討. 癌と化療 20: 1535-1537, 1993
- 4) 高橋徹也, 康田康一郎, 舛井秀宣ほか: 転移性肝癌に対する動注化学療法を中心とした局所療法の検討. 癌と化療 21: 2155-2157, 1994
- 5) 白井 聡, 秋本 伸, 五十嵐達紀ほか: 大腸癌肝転移症例の臨床病理学的検討一特に肝転移と静脈侵襲との関係について一. 日消外会誌 24: 1127-1131, 1991
- 6) 山村卓也, 瀬尾圭亮, 足立幸博: 大腸癌肝転移再発の検討. 日臨外医会誌 52: 741-747, 1991
- 7) 西森武雄, 奥野 宥, 池原照幸ほか: 同時性肝転移を有する大腸癌の臨床病理学的検討. 日臨外医会誌 52: 2844-2849, 1991
- 8) 磯野敏夫, 宮崎 勝, 中島 透ほか: 転移性肝癌肝切除例における肝内微小転移巣の存在およびその意義に関する検討. 日外会誌 91: 1778-1783, 1990
- 9) Ley K, Gaehetgens P, Fennie C et al: Inhibition of leukocyte rolling in mesenteric venules in homing receptor-IgG chimera. Blood 77: 2553-2555, 1991
- 10) von Andrian DH, Chambers JD, McEvoy LM et al: Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta 2 integrins in vivo. Proc. Natl Acad Sci USA 88: 7538-7542, 1991
- 11) Smith CW, Kishimoto TK, Abbassi O et al: Chemotactic factors regulate lectin adhesion molecule 1(LECAM-1)-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated endothelial cells in vitro. J Clin Invest 87: 609-618, 1991
- 12) Phillips ML, Nudelman E, Gaeta FCA et al: ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, Sialyl-Lex. Science 250: 1130-1132, 1990
- 13) Fukushima K, Hirota M, Terasaki P et al: Characterization of sialosylated Lewis\* as a new tumor-associated antigen. Cancer Res 44: 5279-5284, 1984
- 14) Fukushima Y, Kannagi R, Hakomori S et al: Location and distribution of difucoganglioside (V<sup>3</sup>NeuAcV<sup>3</sup>III<sup>3</sup>Fuc<sub>2</sub>nLc<sup>6</sup>) in normal and tumor tissues defined by its monoclonal antibody FH6. Cancer Res 45: 3711-3717, 1985
- 15) Itzkowitz SH, Yuan M, Fukushima Y et al: Lewis\* and sialylated Lewis\*-related antigen expression in human malignant and non-malignant colonic tissues. Cancer Res 46: 2627-2632, 1986
- 16) Matsushita Y, Cleary KR, Ota DM et al: Sialy-dimeric Lewis-X antigen expressed on mucin-like glycoproteins in colorectal cancer metastasis. Lab Invest 63: 780-791, 1990
- 17) Hoff SD, Matsushita Y, Ota DM et al: Increased expression of sialyl-dimeric Le\* antigen in liver metastases of human colorectal carcinoma. Cancer Res 49: 6883-6888, 1989
- 18) Shirahama T, Ikoma M, Muramatsu T et al: Expression of SSEA-1 carbohydrate antigen correlates with stage, grade and metastatic potential of transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol 148: 1319-1322, 1992
- 19) 山口浩和, 上西紀夫, 大原 毅: 胃癌における糖鎖抗原の発現について. 消癌之発生と進展 6: 401-404, 1994
- 20) 加藤 洋, 菅野晴夫, 中村恭一ほか: 大腸癌切除標本における静脈侵襲(v+)の評価, 特に漿膜下静脈侵襲について. 日本大腸肛門病学会誌 32: 73-74, 1979
- 21) 志田晴彦, 久保塚自, 坂本昌義ほか: 大腸癌の漿膜下静脈侵襲と肝転移に関する臨床病理学的研究. 日消外会誌 82: 277-283, 1981
- 22) 多淵芳樹, 中江史朗, 今西 築ほか: 大腸癌術後血行性転移再発に関する臨床的・病理学的研究, 特にその予知と抑制に関する検討. 日外会誌 85: 1359-1369, 1984
- 23) 岡島邦雄, 原 章倫: 大腸癌肝転移症例の臨床病理学的検討. 消外 10: 803-808, 1987
- 24) 南湖正夫: 大腸癌における肝内微小転移巣. 横浜医 45: 229-235, 1994
- 25) 柴田 洋: 転移性肝癌の病理組織学的研究一組織パターン分類の試みと微小転移巣から見た転移経路一. 癌の臨 35: 335-347, 1989
- 26) Shimada H, Nanko M, Fujii S et al: Treatment strategies for hepatic metastasis from colorectal cancer. J Hep Bil Pancr Surg 2: 116-121, 1995

### Sialyl Lewis X Expression in Vascular Permeating Lesion as a Prognostic Factor of Colorectal Cancer

Kuniya Tanaka

Second Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine  
(Director: Prof. Hiroshi Shimada)

Significance of Sialyl Lewis X (SLe<sup>x</sup>) expression on liver metastasis from colorectal cancer and residual liver recurrence was investigated with special attention to its expression in vascular permeating lesions surrounding the tumor. Using surgical specimens obtained from 78 patients with primary colorectal cancer and 22 patients with liver metastasis, who underwent curative resections, vascular permeating lesions around the tumors were examined immunohistochemically for SLe<sup>x</sup> expression with SLe<sup>x</sup> monoclonal antibody. Cumulative liver metastasis in SLe<sup>x</sup> positive colorectal cancer was significantly higher than that in SLe<sup>x</sup> negative colorectal cancer ( $p < 0.01$ ), and 3-year cumulative liver metastasis was 50.0% in positive groups and 35.0% in negative, respectively. Residual liver recurrence in patients underwent hepatectomy was not different between SLe<sup>x</sup> positive and negative primary colorectal cancer groups, but it was significantly higher positive SLe<sup>x</sup> in liver metastatic lesions than negative SLe<sup>x</sup> ( $p < 0.05$ ). Those pathological results indicated that the examination for SLe<sup>x</sup> expression in vascular permeating lesions outside of the tumor is useful in evaluating the malignant potential of colorectal cancers.

**Reprint requests:** Kuniya Tanaka Second Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine  
3-9, Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, 236 JAPAN

---