

## 早期胃癌における PCNA, laminin, p53, nm23, c-erbB-2の リンパ節転移高危険因子に関する検討

岐阜大学医学部第2外科

白子 隆志 佐治 重豊 深田 代造 宮 喜一  
梅本 敬夫 国枝 克行 杉山 保幸 鷹尾 博司  
加藤 元久 永田 緑

早期胃癌でもリンパ節転移陽性例が存在するが、この判定は縮小手術や術後補助療法適応の観点から極めて重要である。そこで1977年から16年間に経験したリンパ節転移陽性早期胃癌(以下、n(+))25例(m;2例, sm;23例)を対象にパラフィン包埋ブロックを用いPCNA, laminin, p53, nm23, c-erbB-2の免疫組織染色を行い、1982年から3年間のリンパ節転移陰性早期胃癌(以下、n(-))56例(m;44例, sm;12例)のそれらと比較検討した。その結果、PCNA 標識率はn(+)群が53.0±20.0%とn(-)群の35.0±21.4%に比べ有意に高値で、nm23とc-erbB-2の染色陽性率はn(+)群が有意に高値であった。しかし、lamininとp53染色では有意差はみられなかった。

以上より、早期癌でもPCNA 標識率が高く、nm23とc-erbB-2染色が陽性を示す例ではリンパ節転移が陽性となる可能性が高いと推察された。

**Key words:** early gastric cancer, lymph node metastases, proliferating cell nuclear antigen, nm23, c-erbB-2

### はじめに

近年、早期胃癌症例の割合が増加し治療成績が向上しているが、早期胃癌症例でもリンパ節転移陽性例が存在し不幸な転帰をとる場合がある。著者らは当科における胃癌症例における病理学的所見および各種免疫組織学的パラメータと予後との関連について先に報告した<sup>1)2)</sup>。今回、早期胃癌に注目し、分子生物学的観点からproliferating cell nuclear antigen(以下、PCNA)標識率、laminin, p53, nm23およびc-erbB-2を免疫組織学的に検索し、リンパ節転移陰性早期胃癌症例のそれらと対比して転移陽性例の特徴を検索し、高度危険群の抽出を試みた。

### 対象と方法

1977年から1992年までの16年間に教室で切除した胃癌症例中、リンパ節転移の検索が十分施行された早期胃癌は353例(m癌が220例, sm癌が135例)で、内m癌で2例(1.4%)、sm癌で23例(17.3%)の計25例にリンパ節転移が認められた。今回、このリンパ節転移

陽性早期胃癌(以下、n(+))群25例を対象とし、術後10年以上を経過し予後が判明している1982から84年までの胃切除症例でリンパ節転移陰性早期胃癌(以下、n(-))群56例を対照群として以下の検索を行った。

#### 1. 臨床病理学的所見の評価法

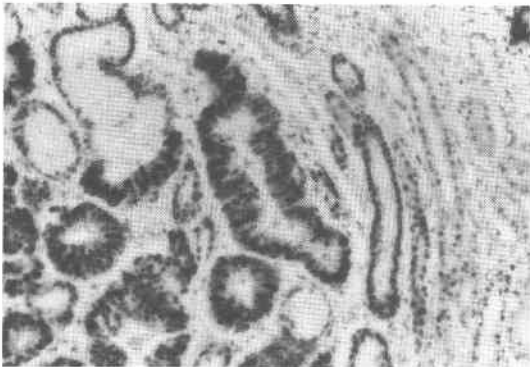
n(+))群とn(-))群の手術切除標本を用い、病理組織学的所見を胃癌取扱い規約<sup>4)</sup>に基づき評価し、n(+))群の特徴を検索した。

#### 2. 免疫組織学的染色の方法

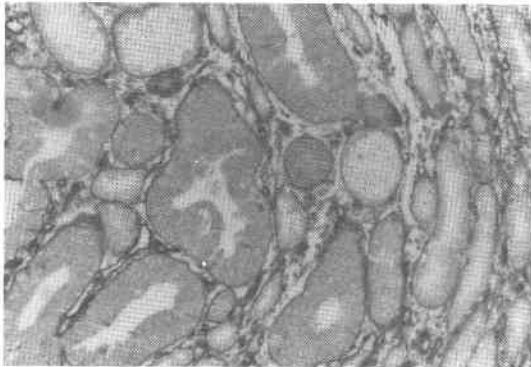
長期間保存された10%ホルマリン固定、パラフィン包埋ブロックから連続する薄層切片を作製し、以下の染色に供した。

1) PCNA: 脱パラフィン、脱キシロール後、3%過酸化水素水にて内因性ペルオキシダーゼ処理し、マイクロウェーブ処理併用下にDAKO社製EPOS-PCNA(PC10)を用い60分間反応させ、3,3-diaminobenzidine・過酸化水素水反応液(以下、DAB)で発色後、ヘマトキシリンで核染色した(Fig. 1)。判定は、光顕下で癌細胞500個中の陽性細胞数から陽性率(labeling index: 以下、LI)を求め、3か所の平均値で表示した。

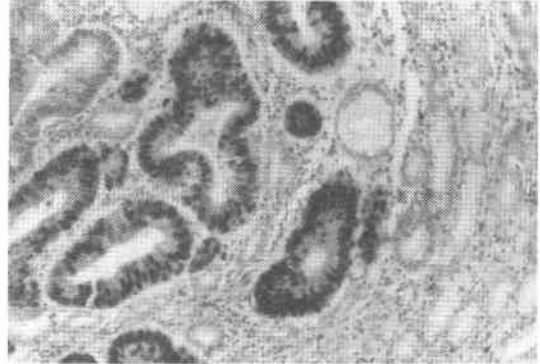
**Fig. 1** PC 10 immunostaining in early gastric cancer ( $\times 100$ ). PCNA staining was confined to the nuclei of tumor cells.



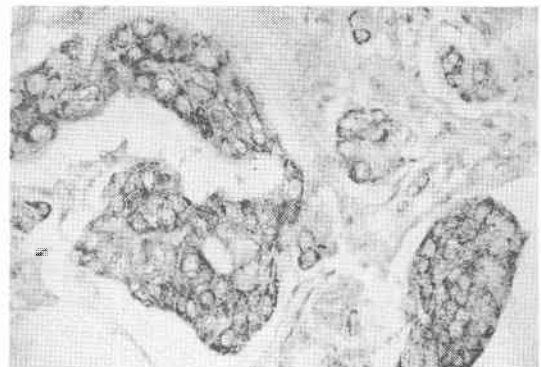
**Fig. 2** CHEMICON AB494 laminin immunostaining in early gastric cancer ( $\times 100$ ). Laminin staining was confined to the basement membrane of carcinoma gland and vessels.



**Fig. 3** DAKO-p53, DO7 immunostaining in early gastric cancer ( $\times 100$ ). p53 staining was confined to the nuclei of tumor cells.



**Fig. 4** Cambridge Research Biochemicals, nm23 OA-11-890A immunostaining in early gastric cancer ( $\times 100$ ). nm23 staining was confined to the cytoplasm and nuclei of carcinoma cells.



2) laminin: 脱パラフィン, 脱キシロール後0.01NのHClでペプシン処理し, 0.3%過酸化水素水で内因性ペルオキシダーゼ処理後抗 laminin ポリクローナル抗体 (CHEMICON 社製 AB949) を滴下反応させた。次いで, ABC法, DABで発色後ヘマトキシリンで核染色した (Fig. 2)。判定は光顕下で癌腺管基底膜の50%以上に連続性に染色が認められるものを laminin (以下, LN) 陽性 (n (+)), 50%未満を陰性 (n (-)) とした。

3) p53: 上記方法で内因性ペルオキシダーゼ処理後マイクロウェーブ処理し, 抗 p53モノクローナル抗体 (DAKO-p53, DO-7) を滴下反応させ, ABC法, DABで発色後ヘマトキシリンで核染色した (Fig. 3)。判定は光顕下で全体の約30%以上の癌細胞核内に染色性が

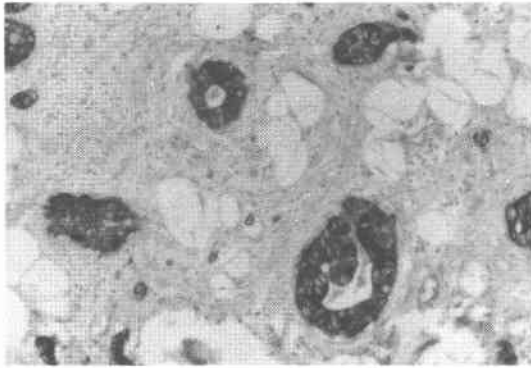
認められるものを陽性, 30%未満を陰性とした。

4) nm23: 上記内因性ペルオキシダーゼ処理後, 抗 nm23ポリクローナル抗体 (Cambridge Research Biochemicals 製抗ヒト nm23 (H1, H2) OA-11-890A) を滴下反応させ, ABC法, DABで発色後ヘマトキシリンで核染色した (Fig. 4)。

判定は光顕下で Nakayama らの方法<sup>3)</sup>に準じて5段階に分類し, 0, 1, 2を nm23陰性群, 3, 4を陽性群に大別した。

5) c-erbB-2: 上記内因性ペルオキシダーゼ処理後, TRITON 社製 pAb1モノクローナル抗体を用い滴下反応させ, ABC法, DABで発色後ヘマトキシリンで核染色した (Fig. 5)。判定は光顕下で癌細胞膜および細胞質に染色性が認められるものを陽性, それ以外を

**Fig. 5** Triton, pAb1c-erbB-2 immunostaining in early gastric cancer ( $\times 100$ ). c-erbB-2 staining was confined to the cell membrane of carcinoma cells.



陰性とした。

### 3. 統計学的検索法

得られた測定値は mean  $\pm$  standard deviation (SD) で表示し、結果の解析は 2 群間での連続数値変数にお

ける分析には unpaired t 検定を、順位のないカテゴリ変数による分析には  $\chi^2$  検定を用い、危険率 5% 未満を統計学的有意差ありと判定した。

## 成 績

### 1. 背景因子

両群の背景因子で平均年齢は n (+) 群が 60.9 歳と n (-) 56 群の 56.4 歳に比べ高かったが、有意差はみられなかった。性別では女性の割合が n (+) 群で 12/25, 48.0% と n (-) 群の 18/56, 32.1% に比べ多かった。臨床病理学的所見では、腫瘍の最大径は n (+) 群が 4.51cm と n (-) 群の 3.03cm に比べ有意 ( $p < 0.05$ ) に大きく、深達度は n (+) 群で sm 癌の比率が 23/25, 92.0% と n (-) 群の 12/56, 21.4% に比べ有意 ( $p < 0.01$ ) に高率であった。また、ly (+) 例は n (+) 群で 18/20 例、n (-) 群で 5/50 例であり、v (+) 例は前者で 3/20 例、後者で 0/55 例に観察され、n (+) 群は n (-) 群に比べ有意に高率であった ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。その他、間質量では n (+) 群で intermediate, scirrhous の比率が有意 ( $p < 0.01$ ) に高く、浸潤増殖

**Table 1** Correlation between characteristics and lymph node metastases

		positive (25 cases)	negative (56 cases)	p value
age	years old	60.9 $\pm$ 13.6	56.4 $\pm$ 12.5	NS
sex	male	13	38	NS
	female	12	18	
tumor size	cm	4.51 $\pm$ 2.75	3.03 $\pm$ 2.28	$p < 0.05$
depth of invasion	m	2	44	$p < 0.01$
	sm	23	12	
invasion into lymph-vessels	ly (+)	18	5	$p < 0.001$
	ly (-)	2	50	
	unknown	5	1	
invasion into veins	v (+)	3	0	$p < 0.05$
	v (-)	17	55	
	unknown	5	1	
stroma	medullary	10	44	$p < 0.01$
	intermediate	11	6	
	scirrhous	2	0	
	unknown	2	6	
INF	$\alpha$	9	41	$p < 0.01$
	$\beta$	10	6	
	$\gamma$	4	1	
	unknown	2	8	
histologic type	*well	14	34	NS
	**poorly	11	22	

NS; not significant

\*; well differentiated adenocarcinoma \*\*; poorly differentiated adenocarcinoma

様式では同様に n (+) 群で  $\beta$ ,  $\gamma$  の比率が有意 ( $p < 0.01$ ) に高率であったが、癌の組織型では両群間に差を認めなかった (Table 1).

2. 免疫組織染色の結果

1) PCNA

PCNA 陽性細胞の平均 LI 値は、n (+) 群が  $53.0 \pm 20.0\%$  と n (-) 群の  $35.0 \pm 21.4\%$  に比べ有意 ( $p < 0.001$ ) に高値を示した (Table 2).

2) laminin

laminin 染色では、n (+) 群の陽性例は25例中17例 (68.0%) と n (-) 群の56例中46例 (82.1%) に比べ低率であったが、両群間で有意差は認められなかった (Table 3).

3) p53

p53染色では、n (+) 群の陽性例は25例中 5 例 (20.0%) で、n (-) 群の56例中12例 (21.4%) に比べ差は認められなかった (Table 4).

4) nm23

nm23染色では、n (+) 群の陽性例は25例中 7 例 (28.0%) と n (-) 群の56例中46例 (82.1%) に比べ有意 ( $p < 0.001$ ) に低値であった (Table 5).

5) c-erbB-2

c-erbB-2染色では、n (+) 群の陽性例は25例中11例 (44.0%) と n (-) 群の56例中12例 (21.4%) に比べ有意 ( $p < 0.05$ ) に高値を示した (Table 6).

考 察

内視鏡をはじめとする画像診断法の進歩により胃癌切除例における早期胃癌の割合が増加し、治療成績は向上してきた。ところが、胃癌取扱い規約上<sup>4)</sup>ではリンパ節転移の有無は不問で、壁深達度のみで m, sm 癌に対し早期癌と命名されている。そのため早期癌でも、m 癌で1.4~3.1%に<sup>5)~7)</sup>、sm 癌で12.5~21.4%に<sup>5)~7)</sup>リンパ節転移陽性例が存在し、これらの症例では早期癌といえども予後不良で、治療法選択に際し嚴重な注意が必要である。

上記観点から、早期癌におけるリンパ節転移陽性例の臨床病理学的危険因子の探索が種々試みられてきた。すなわち、伊藤ら<sup>8)</sup>は肉眼型で I, IIa+IIc, IIc+III, 腫瘍最大径で3cm 以上、深達度で sm 癌、組織型で低分化型腺癌を危険因子として挙げている。著者らの検討でも症例数が少ないが、n (+) 群は腫瘍最大径と組織型で n (-) 群に比べ有意に進行例が多く、ほぼ同様所見を得ている。また、教室の種村ら<sup>9)</sup>による sm 胃癌の臨床病理学的特徴の検索では、リンパ節転移は sm<sub>1,2,3</sub> の分類で粘膜下層への浸潤が深くなるほど高率で、肉眼型では混合型と隆起型で sm<sub>2-3</sub> の頻度が高かったと報告している。これらの結果は、癌の進行度に依存してリンパ節転移が増加するという当然の帰結であるが、早期癌で病理組織学的に進行度が同程度である症例を対象とした詳細な報告は少ない。

癌の増殖・浸潤・転移程度は腫瘍側の増殖因子と宿主側の生体反応により規定されているが、これらの機

Table 2 Correlation between PCNA labeling index and lymph node metastases

Lymph node metastases	PCNA labeling index	p value
positive (25 cases)	53.0±20.0	p<0.001
negative (56 cases)	35.0±21.4	

Table 3 Correlation between laminin and lymph node metastases

Lymph node metastases	laminin		p value
	positive	negative	
positive (25 cases)	17	8	NS
negative (56 cases)	46	10	

NS; not significant

Table 4 Correlation between p53 and lymph node metastases

Lymph node metastases	p53		p value
	positive	negative	
positive (25 cases)	5	20	NS
negative (56 cases)	12	44	

NS; not significant

Table 5 Correlation between nm23 and lymph node metastases

Lymph node metastases	nm23		p value
	positive	negative	
positive (25 cases)	7	18	p<0.001
negative (56 cases)	46	10	

Table 6 Correlation between c-erbB-2 and lymph node metastases

Lymph node metastases	c-erbB-2		p value
	positive	negative	
positive (25 cases)	11	14	p<0.05
negative (56 cases)	12	44	

序解明が分子生物学的手法の導入により遺伝子変異や各種メディアータの推移で説明可能な時代をむかえている。この中でリンパ節転移は、癌抑制遺伝子、増殖遺伝子、転移抑制遺伝子などが相互に絡み合いながら悪性度を規定し、予後に反映するものと推察されている<sup>10)~12)</sup>。癌細胞の生物学的悪性度から評価する方法として橋爪ら<sup>13)</sup>や米村ら<sup>14)</sup>は癌細胞内核DNA量のploidy patternがaneuploidy群を、前田ら<sup>15)</sup>はPCNA標識率が高値である群をリンパ節転移高危険因子として挙げている。著者らも当科切除胃癌症例のリンパ節転移をはじめとする病理学的因子および予後とDNA ploidy pattern, PCNA, laminin, p53, nm23などのパラメータとの関連性について報告した<sup>12)16)</sup>。今回著者らは、早期胃癌でリンパ節転移が陽性となる要因をPCNA, laminin, p53, nm23, c-erbB-2の免疫組織学的所見から評価し、高度危険要因の探索を試みた。

PCNAは、DNA複製に必須な増殖期関連核蛋白の1つで、発現頻度により腫瘍増殖能の評価が可能と考えられている。ホルマリン固定標本でも検出可能のため、簡便な増殖期細胞の同定法として臨床応用が期待されている<sup>11)7)</sup>。著者らも、長期保存中のホルマリン固定パラフィン包埋標本から薄層切片を作製し、適時マイクロウエーブ処理法<sup>18)</sup>を併用することにより判読可能な免疫組織染色標本を得ることができた。前田ら<sup>15)</sup>は術前内視鏡による生検材料を用いた検索で、PCNA-LIが30%以下の症例ではリンパ節転移陽性例がみられなかったことから、早期胃癌症例でリンパ節転移の予測法と縮小手術選択指標として、PCNA LI検索の有用性を示唆し、著者らのn(+)群がn(-)群に比べ有意に高値となる結果と一致した。

lamininはfibronectin, proteoglycan, entactin, type IV collagenなどと共に基底膜の構成成分の1つで、培養細胞での基底膜成分の変化が癌の浸潤・転移に関与する可能性が指摘されている<sup>19)~21)</sup>。今回著者らはリンパ節転移陽性早期胃癌における癌腺管基底膜のlaminin染色性を検討したが、n(-)群との間に差がみられなかった。一般に高分化腺癌はlaminin染色性が高いとされ<sup>21)</sup>、癌の深部浸潤に伴って癌腺管基底膜の破壊が進むため、粘膜下層までの早期癌では2群間に差がみられなかったものと考えている。

p53遺伝子は第17染色体短腕上にある癌抑制遺伝子で、細胞増殖に関わる様々な遺伝子を直接・間接的に制御することにより細胞増殖を制御し、第17染色体短

腕の欠損、対立遺伝子の点突然変異により正常p53が不活化されると考えられている<sup>22)</sup>。免疫組織染色ではheat shock protein (Hsc70)との結合により半減期が延長するp53の変異型を同定していると考えられている<sup>23)</sup>。p53変異は早期胃癌から出現し、陽性例では早期から転移がみられ、予後不良と報告されている<sup>22)24)</sup>が、著者らの検索ではリンパ節転移陽性と陰性間で差はみられなかった。なお、全体の発現率は56例中25例、44.6%で、他の報告<sup>22)24)</sup>と比べ遜色はみられなかった。

nm23遺伝子は転移抑制遺伝子として注目されH-1とH-2の2つが分離されている<sup>25)</sup>。これまでに乳癌でnm23発現低下例はリンパ節転移の頻度が高く有意に予後不良で<sup>26)</sup>、胃癌では原発巣の80%以上が組織型に関係なく正常粘膜より高い発現を示し、逆に転移巣(特に肝転移巣)では原発巣に比べ著明な低下がみられたとの報告<sup>3)</sup>がある。著者らも進行胃癌を含む症例でnm23陰性例の予後が陽性例に比べ不良で、リンパ節転移の頻度も有意に高いことを報告した<sup>2)16)</sup>。田原ら<sup>27)</sup>はnm23が早期癌におけるリンパ節転移予測法として臨床応用の可能性を示唆しており、著者らもこれを指示する結果であった。

c-erbB-2遺伝子の産物であるc-erbB-2蛋白は、epidermal growth factor receptor (EGFR)と構造上類似したチロシンキナーゼ活性を有する受容体膜蛋白<sup>28)~30)</sup>である。c-erbB-2遺伝子の増幅やc-erbB-2蛋白の発現は、乳癌のリンパ節転移や予後との関連<sup>31)</sup>、分化型胃癌での発現や予後との関連<sup>32)~34)</sup>が報告されている。一般的には、c-erbB-2遺伝子の発現は早期胃癌では低いことから胃癌進展過程での関与が推察されている。嘉悦ら<sup>30)</sup>は胃癌の初期段階から癌の浸潤やリンパ節転移などに関与していると報告しており、n(+)群がn(-)群に比べ陽性率が有意に高かった著者らの結果と一致した。c-erbB-2蛋白の発現は、早期胃癌でのリンパ節転移を含む生物学的悪性度の一指標として有用である可能性が示唆されたと考えている。

以上の結果、早期胃癌症例でも術前内視鏡生検あるいは切除標本の検査で、PCNA標識率が高く、nm23の発現が低値で、c-erbB-2陽性となる症例ではリンパ節転移が陽性となる可能性が高いと推察された。それゆえ、これらの症例では縮小手術の適応や術後補助療法の選択に当たり慎重に考慮すべき一指標であると考えられた。

## 文 献

- 1) 白子隆志：各種免疫組織染色所見から評価した胃

- 癌の生物学的悪性度と予後に関する臨床的研究 (I) 癌細胞内核 DNA 量と proliferating cell nuclear antigen 標識率からの検討. 岐阜大医紀 43: 459—468, 1995
- 2) 白子隆志: 各種免疫組織染色所見から評価した胃癌の生物学的悪性度と予後に関する臨床的研究 (II) 腫瘍形態学的特徴および予後と laminin, type IV collagen, p53, 免疫組織染色所見との関連. 岐阜大医紀 43: 469—479, 1995
  - 3) Nakayama H, Yasui W, Yokozaki H et al: Reduced expression of nm23 is associated with metastasis of human gastric carcinomas. Jpn J Cancer Res 84: 184—190, 1993
  - 4) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 第11版. 金原出版, 東京, 1985
  - 5) 前田勉郎, 貝原信明: 胃癌縮小手術としての胃部分切除術. 外科治療 73: 286—293, 1995
  - 6) 磯崎博司, 岡島邦雄, ノノ名正ほか: 胃癌手術の標準的リンパ節郭清. 外科治療 73: 294—300, 1995
  - 7) 大下裕夫, 田中千凱, 種村廣巳: リンパ節転移陽性早期胃癌の臨床病理学的検討. 癌の臨 40: 801—806, 1994
  - 8) 伊藤英人, 市倉 隆, 玉熊正悦: 早期胃癌に対する合理的リンパ節郭清—早期胃癌のリンパ節転移陽性例および再発例の検討. 日臨外医会誌 52: 2566—2572, 1991
  - 9) 種村廣巳, 下川邦泰, 佐治重豊ほか: 早期胃癌の臨床病理学的検討—特に粘膜下浸潤程度について—. 日消外会誌 22: 767—773, 1989
  - 10) 折田薫三, 中川原儀三, 田口鐵男ほか: 癌関連遺伝子の応用. 日臨外医会誌 55: 1905—1920, 1994
  - 11) 前原喜彦, 大城辰雄, 大岩久夫ほか: 胃癌の転移に関与した生物学的特性の解明と治療法の確立. 日消外会誌 27: 979—982, 1994
  - 12) 高村博之, 米村 豊, ルイス フォンセカほか: 胃癌における DNA ploidy pattern, c-erbB-2 蛋白の発現及び PCNA index. 日外会誌 96: 213—222, 1995
  - 13) 橋爪立雄, 山浦武彦, 福田敬宏ほか: sm 癌における核 DNA 量とリンパ節転移についての検討. 日外会誌 92: 397—400, 1991
  - 14) 米村 豊, 杉山和夫, 鎌田 徹ほか: DNA ploidy pattern からみた早期胃癌の予後. 日消外会誌 21: 2075—2079, 1988
  - 15) 前田 清, 鄭 容錫, 小野田尚佳ほか: 早期胃癌における proliferating cell nuclear antigen 標識率の術前生検標本での検討. 日消外会誌 26: 2740—2744, 1993
  - 16) 白子隆志, 佐治重豊, 川口順敬ほか: 癌細胞内核 DNA 量と PCNA, laminin, p53. nm23 免疫組織染色からみた胃癌の臨床病理学的検討. 癌と化療 22(Suppl II): 118—123, 1995
  - 17) 米村 豊, 山口明夫, 加治正英ほか: 胃癌における Proliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA) 標識率と悪性度. 日外会誌 93: 661, 1992
  - 18) Shan-Rong S, Mark EK, Krishan LK: Antigen retrieval in formalin-fixed, parafin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. J Histochem Cytochem 39: 741—748, 1991
  - 19) Salo T, Liotta LA, Tryggvason K: Purification and characterization of murine basement membrane collagen-degrading enzyme secreted by metastatic tumor cells. J Biol Chem 258: 3058—3063, 1983
  - 20) Kleiman HK, Klebe RJ, Martin GR: Role of collagenous matrix in the adhesion and growth of cells. J Cell Biol 88: 473—482, 1981
  - 21) 迎 徹: 胃癌組織における Fibronectin, Laminin の免疫組織学的検討. 日癌治療会誌 25: 2468—2476, 1990
  - 22) 米村 豊, 伏田幸夫, 津川浩一郎ほか: 胃癌における p53 遺伝子異常. 外科診療 35: 7—20, 1993
  - 23) Finlay CA, Hind PW, Tan T-H et al: Activating mutation for transformation by p53 produce a gene product that form a hsc 70-p53 complex with an altered half-life. Mol J Biol 7: 531—539, 1988
  - 24) 大野博之, 篠原 聡, 半田 豊ほか: 胃癌における p53 遺伝子産物の発現と悪性度との関係. 医と薬学 28: 1227—1232, 1992
  - 25) Stahl JA, Leone A, Rosengard AM et al: Identification of a second human nm23 gene, nm23-H2. Cancer Res 51: 445—449, 1991
  - 26) Hennessy C, Henru JA, May FEB et al: Expression of the antimetastatic gene nm23 in human breast cancer: An association with good prognosis. J Natl Cancer Inst 83: 281—285, 1991
  - 27) 田原榮一: 癌早期診断の up to date(癌のリスクファクターと遺伝子診断)⑦胃癌の遺伝子異常—実践医療への導入. Medico 25: 44—48, 1994
  - 28) Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC et al: Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with new oncogene. Science 230: 1132—1139, 1985
  - 29) Akiyama T, Sudo, Ogawara H et al: The product of the human c-erbB-2 gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science 232: 1644—1646, 1986
  - 30) Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T et al: Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor rece-

- ptor. Nature 319 : 230-234, 1986
- 31) Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y et al: Immunohistochemical study on overexpression of c-erbB-2 protein in human breast cancer: its correlation with gene amplification and long-term survival of patients. Jpn J Cancer Res 81 : 327-332, 1990
- 32) 島田悦司, 加藤道男, 斉藤洋一: 胃癌における c-erbB-2蛋白発現についての免疫組織学的研究. 日外会誌 94 : 33-40, 1993
- 33) 米村 豊, 大山繁和, 二宮 致ほか: 胃癌における c-erbB-2蛋白発現と臨床評価. 日消外会誌 23 : 2747-2750, 1990
- 34) 嘉悦 勉: 胃癌における c-erbB-2蛋白発現に関する研究—組織発現と臨床病理学的因子, DNA ploidy pattern, および血中濃度との関連—. 日消病会誌 89 : 1147-1154, 1992

**Significance of Immunohistochemical Findings of PCNA, Laminin, p53,  
nm23 and c-erbB-2 for High Risk Factors in Lymph Node  
Metastases in Early Gastric Cancer**

Takashi Shiroko, Shigetoyo Saji, Daizou Hukada, Kiichi Miya, Takao Umemoto,  
Katsuyuki Kunieda, Yasuyuki Sugiyama, Hiroshi Takao,  
Motohisa Kato and Midori Nagata  
Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine

The expression of PCNA, laminin (LN), p53, nm23 and c-erbB-2 detected by immunohistochemical staining was investigated by using paraffin-embedded specimens obtained from 25 (m, 2; sm, 23) early gastric cancer patients with lymph node metastasis (n+) for 16 years starting in 1977 and compared with those of 56 (m, 44; sm, 12) early gastric cancer patients without lymph node metastasis n(-) for 3 years starting in 1982. The PCNA labeling index of n(+) was  $53.0 \pm 20.0\%$  on average, which was significantly higher than that of n(-),  $35.0 \pm 21.4\%$ . The rates of positive nm23 and c-erbB-2 of n(+) were significantly higher than those of n(-), while, there was no significant difference in the rates of positive laminin and p53 between n(+) and n(-). As a conclusion, it is suggested that the investigation of PCNA, nm23 and c-erbB-2 in early gastric cancer might be important in predicting tumor behavior and screening of the patients as a higher risk factor in lymph node metastases.

**Reprint requests:** Takashi Shiroko Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine  
40 Tsukasa-machi, Gifu-city, 500 JAPAN

---