日消外会誌　30（4）：846～852，1997年

# 大腸癌先進部における組織型とKi-67標識率の検討

健康保険総合川崎中央病院外科，東邦大学第1外科*

船橋　公彦　　辻田　和紀*　　三木　敏嗣*
小池　淳一*　　大谷　忠久　　永澤　康滋*
小林　一雄*　　柳田　謙蔵*　　吉雄　敏文*

大腸癌56例（Dukes A：9例，B：15例，C：18例，D：14例）を対象に癌先進部における組織型とKi-67標識率（以下，Ki-67 LI）を検索し，病理学的諸因子との関係について検討し，以下の知見を得た．1）組織多様性が33.9%に認められた．組織多様性に関係なく，中心部に比べて先進部でKi-67 LIが有意に高値であった．2）先進部の組織型によってKi-67 LIは異なり，高分化腺癌に比べて分化度の低い癌や粘液産生癌で有意にKi-67 LIが高値であった．3）リンパ節転移や脈管侵襲陽性例でKi-67 LIが有意に高値であった．特に，高分化腺癌のうち，Ki-67 LI高値症例は，低値症例に比べて有意にリンパ節転移や脈管侵襲が多かった．以上より癌先進部の組織型と細胞増殖動態の解析は，大腸癌の悪性度を決定する有用な指標の1つと考えられた．

**Key words:** colorectal carcinoma, histological heterogeneity, Ki-67 labeling index, infiltrated region

## I．はじめに

大腸癌においては，同じ臨床病期を示した癌でも個々の症例によって予後が大きく異なることがある[1)2)]．このような病態や予後の違いは，癌細胞の性質，つまり癌の生物学的悪性度の相違が原因となっていることが考えられる．最近ではこの生物学的特性から大腸癌の病態の把握，予後の推定を試みようと，細胞増殖関連抗原，癌遺伝子産物，核DNA量の解析が盛んに行われている．Ki-67は$G_1$後期からM期にある細胞核に存在し，ホルマリン固定パラフィン切片を使用した簡便な手法で増殖過程にある細胞を検索できることから癌の悪性度のパラメータの一つとして期待されている．また，白水ら[3)]が大腸癌における組織の多様性の意義について報告したように，癌はその浸潤過程において，より浸潤しやすい型に絶えず変化しているものと考えられ，同じ分化度と診断された大腸癌でも浸潤局所の組織形態が異なり，それによってその病態が異なる可能性が考えられる．

そこで本稿では大腸癌56例を対象に，癌先進部における組織型とKi-67による細胞増殖能を検索し，両者が大腸癌悪性度判定因子となりうるかについて検討を行った．

＜1996年11月13日受理＞別刷請求先：船橋　公彦
〒143　東京都大田区大森西6－11－1　東邦大学医学部第1外科

## II．対象と方法

1988年～1993年の間に健康保険総合川崎中央病院で手術を施行した大腸癌56例（Dukes A 9例，B 15例，C 18例，D 14例）を対象とした．

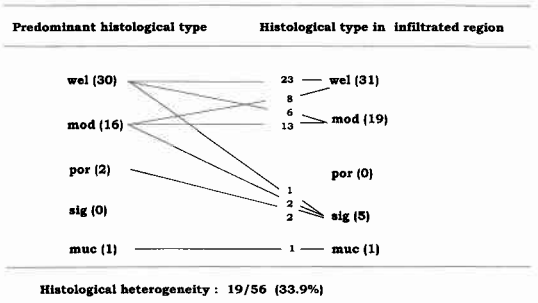
方法は手術による摘出標本を使用して，その最大割面における癌先進部の組織型とKi-67標識率（Ki-67 LI）を検索し，臨床病理学的諸因子との関係について検討を行った．Ki-67の染色は，4$\mu$mのパラフィン薄切切片を使用し，micro wave処理後，MIB-1抗体（Immunotech，Inc.）を使用して，LSAB（Labelled Streptavidine Biotin）法[4)]で行った．癌巣の表層から最深部までを3等分し，最深部から先進部，中間層，表層としたうえで先進部の4～5か所を無作為に検鏡した．Ki-67 LIの算出は，核が茶褐色に染色された細胞を陽性とし，4～5か所の腫瘍細胞1,000個以上を検鏡して腫瘍細胞中の陽性細胞の比率の平均値を求めた．有意差検定については，$\chi^2$検定，t検定を用い，$p<0.05$を有意とした．

## III．成　績

1）先進部組織型と組織多様性

対象症例の先進部組織型は，wel 31例，mod 19例，sig 5例，muc 1例であった．大腸癌取扱い規約[5)]に従って診断された組織型と今回検索した先進部組織型が異なるものを，組織多様性ありと判定した．その結果，組織多様性ありと判定されたものは19例（33.9%）

**Table 1** Heterogeneity of histological type




で，なしと判定されたものは37例であった．また多様性ありと判定された19例のうち，11例（57.9%）は先進部で分化度の低い組織型に変化していた（**Table 1**）．

2）癌病巣内における Ki-67標識細胞の分布

組織多様性の有無別に癌先進部と中間層の Ki-67 LI を検索し，比較検討した．組織多様性が認められなかった37例では，中間層，先進部の Ki-67 LI はそれぞれ 37.55±13.05，43.87±13.74であった．また，組織多様性を認めた19例については，中間層で33.35±9.88，先進部で45.88±12.60と，組織多様性の有無に関係なく先進部での Ki-67 LI が中間層に比べて有意に高値を示した（$p<0.05$）（**Fig. 1**）．

3）先進部組織型と臨床病理学的諸因子

wel に比べ mod，sig，muc では，壁深達度，リンパ節転移，脈管侵襲，Dukes 分類ともに進行した症例が多く，リンパ節転移と Dukes 分類で有意差を認めた（$p<0.05$）（**Table 2**）．

**Table 2** Clinicopathological findings and histological type at infiltrated region

(%)

| | wel(31) | mod(19) | sig(5) | muc(1) | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| Depth of invasion | | | | | |
| sm | 2 | 0 | 0 | 0 | |
| mp | 6 | 2 | 0 | 0 | |
| ss (a1) | 15 | 8 | 1 | 0 | NS |
| se (a2) | 5 | 8 | 3 | 0 | |
| si (ai) | 3 | 1 | 1 | 1 | |
| Lymphnode metastasis | | | | | |
| n (+) | 12(38.7) | 11(57.9) | 5(100) | 1(100) | $p<0.05$ |
| (−) | 19 | 8 | 0 | 0 | |
| Vessel invasion | | | | | |
| ly (+) | 21(67.4) | 17(89.5) | 5(100) | 1(100) | NS |
| (−) | 10 | 2 | 0 | 0 | |
| v (+) | 20(64.5) | 17(89.5) | 5(100) | 1(100) | NS |
| (−) | 11 | 2 | 0 | 0 | |
| Dukes' stage | | | | | |
| A | 8 | 1 | 0 | 0 | |
| B | 11 | 4 | 0 | 0 | $p<0.02$ |
| C | 9 | 7 | 2 | 0 | |
| D | 3 | 7 | 3 | 1 | |

4）癌先進部の Ki-67 LI と臨床病理学的諸因子

① 先進部組織型との関係

Ki-67 LI は，同じ組織型でも症例により差が認めら

**Fig. 1** Distribusion of Ki-67 labelled tumor cells in colorectal cancer

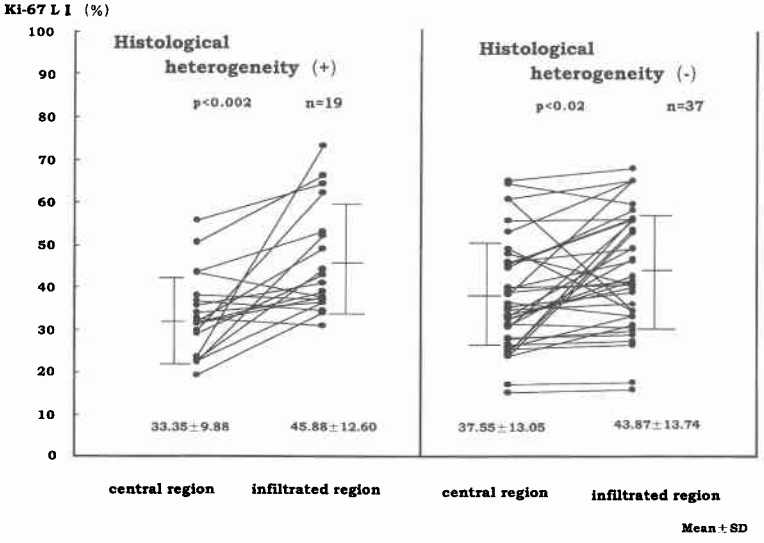


**Fig. 2**　Histological type in infiltrated region and Ki-67 LI

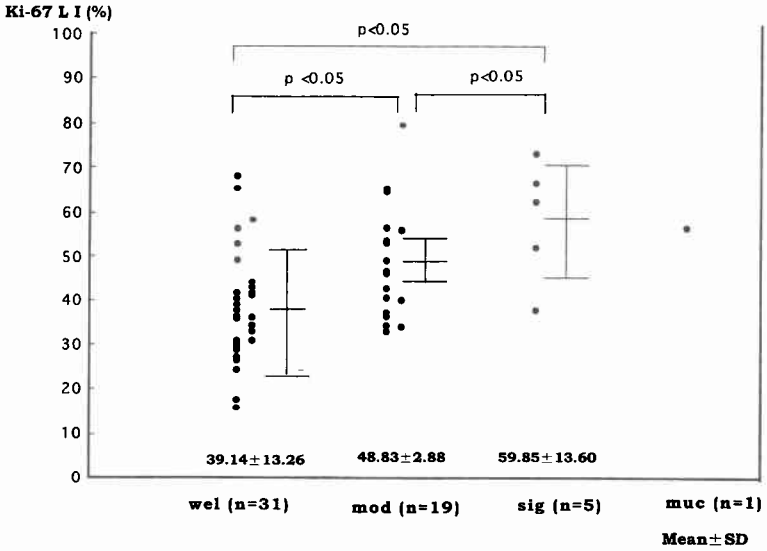
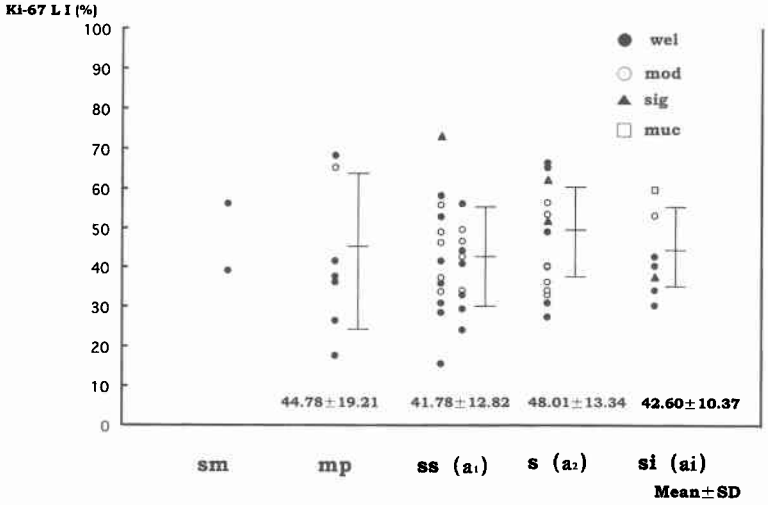



**Fig. 3**　Depth of invasion and Ki-67 LI




れた．各組織型のKi-67　LIの平均値は，それぞれwel：39.14±13.26, mod：48.83±2.88, sig：59.85±13.60, muc：59.60であり，中分化腺癌や粘液産生癌でKi-67 LIが高く，高分化腺癌との間で有意差を認めた(**Fig. 2**)．

② 壁深達度との関係

壁深達度とKi-67 LIとの間に相関関係は認められなかった（**Fig. 3**）．

③ リンパ節転移との関係

リンパ節転移症例n（＋）と非転移症例n（－）のKi-67 LIは，それぞれ49.24±12.36, 38.98±12.89で両者の間で有意差を認めた（$p<0.05$）．これを組織型別に検討すると，welではn（＋）46.48±12.33，n（－）35.18±11.85，modではn（＋）48.0±11.12，n（－）47.2±10.89，sigではn（＋）58.30±13.85と，welにおいてn（＋）症例のKi-67 LIが有意に高値であった（$p<0.05$）（**Fig. 4**）．

④ 脈管侵襲との関係

リンパ管侵襲については，ly（＋）症例とly（－）症例のKi-67 LIは，それぞれ45.97±12.01，34.97±

**Fig. 4** Lymphnode metastasis and Ki-67 LI

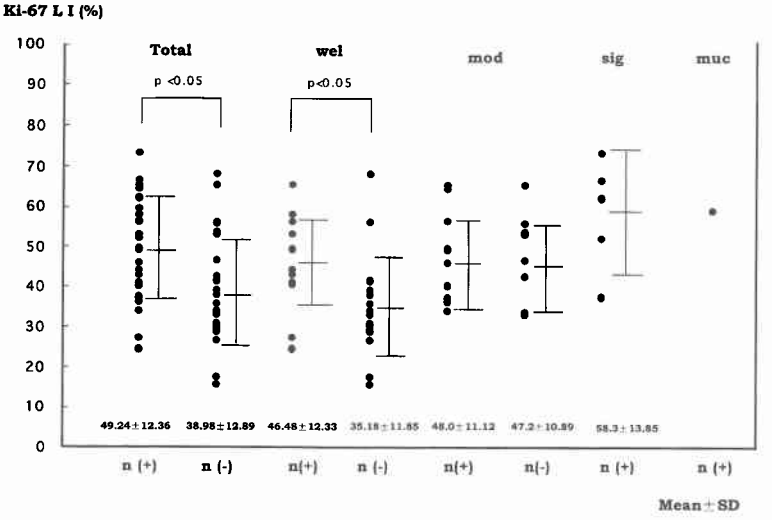
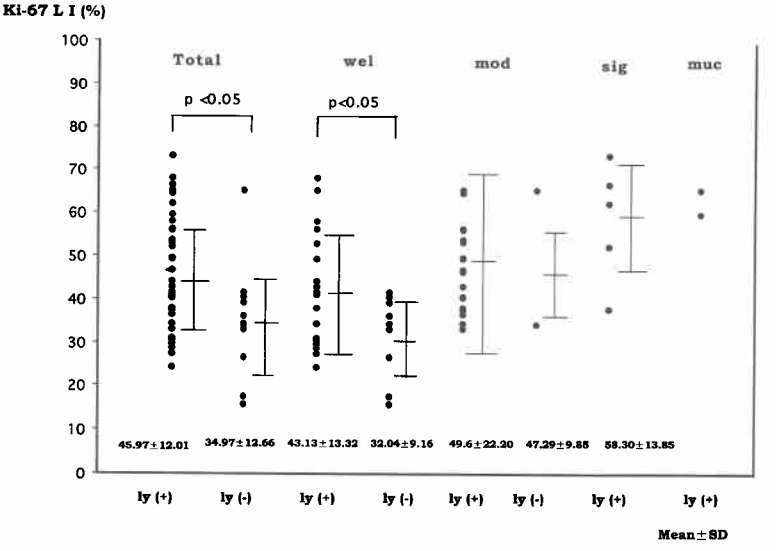



**Fig. 5a** Lymphatic vessel invasion and Ki-67 LI

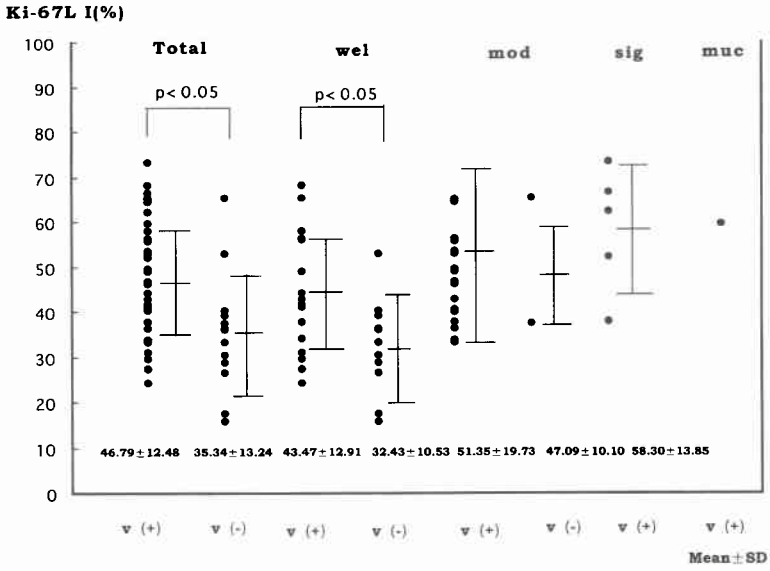



12.66で，両者の間で有意差を認めた($p<0.05$)．組織型別では，wel では ly（＋）43.13±13.32，ly（－）32.04±9.16，mod では ly（＋）49.6±22.20，ly（－）47.29±9.85，sig では ly(＋)58.30±13.85と，wel において有意差を認めた（$p<0.05$）．一方，静脈侵襲については，v（＋）症例が46.79±12.48と，v（－）症例の35.34±13.24に比べて有意に Ki-67 LI が高値であった($p<0.05$)．また組織型別では，wel では v(＋) 43.47±12.91，v(－) 32.43±10.53，mod では v(＋) 51.35±19.73，v（－）47.09±10.10，sig では v（＋）58.30±13.85と，リンパ管侵襲同様 wel において有意差を認めた（$p<0.05$）（**Fig. 5**）．

## IV．考　察

大腸癌においては壁深達度，リンパ節転移の有無が予後を左右する重要な因子と考えられてきた．しかし，同じ臨床病期の癌でも，それぞれの癌のもつ生物学的特性の違いからその予後は大きく異なり，治療方針を決定するうえで従来の臨床病理学的所見に加えた生物学的特性（悪性度）を把握することが重要と考えられる．

**Fig. 5b**　Venous invasion and Ki-67 LI




最近では，癌の悪性度の評価として癌遺伝子，細胞増殖関連抗原，核DNA量を用いることが試みられており，数々の知見が報告されている[6)~8)]．一般に，癌はその浸潤過程において局所で絶えず浸潤しやすい形態と変化しているものと考えられ，白水ら[3)]は大腸癌において組織の多様性に着目し，多様性の面から病理学的因子の検討を行い，その意義について報告した．そこで，今回癌の浸潤局所である癌の先進部を検索部位に選び，先進部の組織型と細胞増殖関連抗原の1つであるKi-67抗原を使用して，免疫組織学的にKi-67 LIを検索し，病理学的所見との関係について検討を行った．先進部における組織型が大腸癌取扱い規約による組織型診断と異なった組織多様性を認めた症例は33.9%であった．先進部組織型からみた病理学的諸因子についての検討では，深達度，脈管侵襲では相関はなく，予後判定因子として重要視されているリンパ節転移，Dukes分類において相関を認め，癌腫の先進部組織型の重要性が示唆された．

Ki-67抗原は，cell cycle中の$G_1$後期～M期にある細胞核に存在し，この抗原を免疫染色で同定することで，増殖過程にある細胞を認識することが可能となる．これまでにも消化器癌においてKi-67，PCNA，AgNORsなどを用いた細胞増殖能と各種癌の悪性度との関係についての報告がみられる[8)~14)]が，Robbinsら[15)]は各種癌組織におけるPCNA発現率が癌の悪性度の指標になると報告している．しかし，癌の増殖能を測定するにあたっては，鎌田ら[16)]や川崎ら[17)]が報告したように同一癌腫内でも測定部位により癌細胞の増殖能が著しく異なっていることが考えられ，絶えずその測定部位が問題となってくる．そこで，本稿では癌腫の増殖能を評価するにあって，先進部の測定が妥当であるか癌病巣を先進部と中間層に分けてKi-67 LIの比較検討を行った．その結果，組織の多様性に関係なく先進部でKi-67 LIが有意に高値を示し，癌病巣内において先進部で癌細胞の増殖活性が高いことが示唆された．

次に，先進部におけるKi-67 LIと病理学的諸因子との関係について検討を行った．組織型と細胞増殖能との関係については，両者に有意な関連はないとする報告[18)~22)]が多いが，高分化腺癌の方が低分化腺癌に比べて高値の傾向を示したとの報告[23)]もあり，統一した見解は得られていない．今回のわれわれの検討では，先進部組織型において高分化腺癌の39.14±13.26に比べて，中分化腺癌48.83±2.88，印環細胞癌59.85±13.60と有意にKi-67 LIが高く，分化度の低い癌で細胞増殖能が高い可能性が示唆されたが，今回未分化癌の症例は少なく，さらなる検討が必要と思われた．またリンパ節転移や脈管侵襲については，リンパ節転移症例や脈管侵襲症例でおのおのKi-67 LIが有意に高値であったことから，Ki-67 LIはリンパ節転移や脈管侵襲に関与する重要な因子の1つである可能性が考えられた．特に今回では印環細胞癌や粘液癌については症例

が少なく詳細な比較検討はできなかったが，大腸癌では最も頻度の高い高分化腺癌において，リンパ節転移，脈管侵襲を伴った症例はいずれもKi-67 LIが有意に高く，高分化腺癌ではKi-67 LIの高い症例は再発，転移のhigh risk groupとして分化度の低い癌と同様に厳重な経過観察が必要と考えられた．

以上，今回の検討で大腸癌においては癌先進部の組織型診断が重要と考えられた．また，先進部の細胞増殖活性は，リンパ節転移や脈管侵襲に関与している可能性が高く，大腸癌の悪性度を評価するうえで重要な因子の一つと考えられた．

## 文　献


1) 渡辺英伸，味岡洋一：大腸良・悪性境界病変の病理．病理と臨　6：1280—1292，1988
2) 味岡洋一，渡辺英伸，本間　照ほか：小さな大腸癌の意義：早期発見と組織発生の観点から．消内視鏡　2：969—977，1990
3) 白水和雄，磯本浩晴，諸富立寿ほか：大腸癌における組織形態学的多様性の意義．日本大腸肛門病会誌　45：855—862，1992
4) Giorno, R.: A Comparison of Two Immunoperoxidase Staining Methods Based on the Avidin-Biotin Interaction. Diagn Immunol 2：161—166，1984
5) 大腸癌研究会編：大腸癌取扱い規約．第5版．金原出版，東京，1994
6) 木村寛伸，神田正博，高野博之ほか：内視鏡生検材料を用いた胃癌細胞核DNA量の測定．日消外会誌　26：2745—2748，1993
7) 加治正英，米村　豊，大山繁和ほか：胃癌，大腸癌における腫瘍増殖率の推測および腫瘍マーカーダブリングタイムの比較検討．日消外会誌　24：2493—2497，1991
8) 西森武雄，川口　貢，奥野匡宥ほか：核DNA Ploidy PatternとArgyrophilic Nucleolar Organizer Regions(AgNORs)を用いた大腸癌の悪性度の検討．日本大腸肛門病会誌　46：873—877，1993
9) 細井義行：大腸癌におけるAgNOR数およびDNAポリメラーゼα陽性細胞率と臨床病理学的事項との関連についての検討．日本大腸肛門病会誌　47：1013—1020，1994
10) 西　八嗣，高野康雄，柿田　章：進行性大腸癌の予後予測因子の検討．とくにPCNAとAgNORsについて．日外会誌　95：797—806，1994
11) 寺辺政宏：大腸癌におけるKi-67標識率(Ki-67 score)と臨床病理学的進行度の関連についての研究．日本大腸肛門病会誌　45：11—16，1992
12) 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
13) 鈴木宏志，松本好市，山本純二ほか：大腸癌におけるKi-67標識率と予後の関連．日本大腸肛門病会誌　45：851—854，1992
14) Shepherd NA, Richman PI, England J: Ki-67 derived proliferating activity in colorectal adeocarcinoma with prognostic correlations. J Pathol 155：213—219，1988
15) Robbins BA, Vega D, Ogata K et al: Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancy. Arch Pathol Lab Med 111：941—945，1987
16) 鎌田　徹，米村　豊，大山繁和ほか：胃癌におけるBrdU標識細胞の癌巣内分布からみた悪性度．日外会誌　91：335—339，1990
17) 川崎浩史，多淵芳樹，斎藤洋一；大腸癌の細胞分裂能と臨床所見ならびに予後との関連．日外会誌　91：837—843，1990
18) Jain S, Filipe MI, Hall PA et al: Prognotic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. J Clin Pathol 44：655—659，1991
19) 中野　浩，生田目公夫，仲吉昭夫ほか：Proliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA)発現率による胃癌増殖活性評価—その基礎的検討と臨床応用について—．日外会誌　94：580—591，1992
20) Yonemura Y, Kimura H, Fushida S et al: Analysis of proliferative activity using anti-proliferating cell nuclear antigen antibody in gastric cancer tissue specimens obtained by endoscopic biopsy. Cancer 71：2448—2453，1993
21) Mori M, Kakeji Y, Adachi Y et al: The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen in clinicalgastric cancer. Surgery 113：683—690，1993
22) Al-Sheneber IF, Shibata HR, Sampalis J et al: Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer. Cancer 71：1954—1959，1993
23) 高　長，中西功夫：増殖細胞核抗原(PCNA)免疫染色による胃癌細胞増殖能の検討．金沢大十全医会誌　100：974—980，1991

## A Study for Cytological Behavior of Colorectal Carcinoma from the Viewpoint of Histological Type and Ki-67 Labeling Index in the Infiltrated Region of Tumor

Kimihiko Funahashi[1], Kazunori Tsujita[2], Toshitsugu Miki[2], Junichi Koike[2], Tadahisa Ogai[1], Yasushige Nagasawa[2], Kazuo Kobayashi[2], Kenzo Yanagita[2] and Toshifumi Yoshio[2]
[1]Department of Surgery, General Kawasaki Central Hospital
[2]First Department of Surgery, Toho University School of Medicine

We determined the histological type and Ki-67 labeling index (Ki-67 LI) in the infiltrated region of 56 colorectal cancers (Dukes A: 9 cases, B: 15 cases, C: 18 cases, D: 14 cases). The results were as follows: 1) Histological heterogeneity was shown in 33.9%, and the histological type changed to a lower grade in the deepest region of the tumor. 2) The tumor with a lower grade of histological type or with mucin was postulated to be more malignant in view of the proliferating activity of the tumor cells. 3) The rate of proliferation of a tumor with regional lymph-node metastasis or with vessel invasion was higher than that of a tumor without them. Therefore, we believe that determination of the grade of the histological type and proliferating activity in the infiltrated region is important, when we determine the grade of malignacy of colorectal cancer.

**Reprint requests:** Kimihiko Funahashi Department of Surgery, General Kawasaki Central Hospital
6-11-1 Omorinishi, Ota-ku, Tokyo, 143 JAPAN