日消外会誌　31（10）：2157～2161，1998年

特集 9

胃癌における脈管侵襲の臨床的意義とその規定因子

鳥取大学医学部第１外科
辻谷　俊一　　斉藤　博昭　　岡　　伸一　　近藤　　亮
小西伊智郎　　池口　正英　　前田　迪郎　　貝原　信明

胃癌組織におけるリンパ管侵襲（ly）と静脈侵襲（v）の臨床的意義を調べ，それを規定する因子を検討した．2,404例の胃癌で深達度，腫瘍径，リンパ節転移などの癌の進展に伴って ly，v の陽性率が増加し，C 領域胃癌で陽性例が多かった．組織型は ly（＋）が por1，por2，muc に多く，v（＋）が por1に多かった．また ly，v は stage III 胃癌の予後因子であった．腫瘍進展因子である VEGF の発現は ly，v の陽性率と相関し，宿主の免疫応答を反映する樹状細胞の高度浸潤例は脈管侵襲と逆相関し，また血清中可溶性 IL-2受容体（sIL-2R）値の上昇は脈管侵襲と相関した．しかし VEGF，新生血管，樹状細胞とも stage III 胃癌治癒切除例に限った検討では ly，v と有意の相関はなかった．したがって胃癌の脈管侵襲の予見には腫瘍の進行度，組織型，占居部位に加え VEGF 発現，樹状細胞数，sIL-2R 値が有用と考えられた．

Key words: gastric cancer, vessel involvement, Angiogenesis

はじめに

胃癌の診断技術の進歩により早期胃癌の症例数が年々増加し，最小胃癌と称されるような非常に小さな早期胃癌が発見されるようになった．これに伴って早期胃癌を中心に胃切除範囲やリンパ節郭清範囲に関して縮小手術が導入されてきた．リンパ節転移の可能性のきわめて低い症例には内視鏡治療を含めた治療が考慮され，また進行癌であっても進行度に応じて郭清範囲の縮小が選択されている．

胃癌におけるリンパ管侵襲はリンパ節転移の始まり，静脈侵襲は血行性転移の始まりを意味するものとして重視され，胃癌取扱い規約でもその検索が求められてきた．しかしこれらの脈管侵襲はリンパ節転移や血行性転移ほど重要な予後因子とならないことが多い．しかし脈管侵襲を調べることにより微小転移の可能性を知り，治療の選択を一層理論的に行える可能性がある．そこで我々は胃癌における脈管侵襲の臨床的意義を検討し，またそれを規定する因子について解析した．

今回検討したのは腫瘍の進展に関与すると考えられる vascular endothelial growth factor（VEGF）および新生血管密度と，宿主の免疫応答の指標であると考えられる樹状細胞および血清中可溶性 IL-2受容体（soluble interleukin-2 receptor；sIL-2R）である．このような因子と胃癌の脈管侵襲との関係はこれまで研究されておらず，脈管侵襲さらには微小転移を介して腫瘍の進展の制御に関与する可能性があり，今回検討を加えた．

対象と方法

1968年から1992年までに鳥取大学医学部付属病院第１外科で手術した胃癌2,404例について，胃癌取扱い規約改訂第12版に基づき臨床病理学的観点から脈管侵襲の意義を調べた．多発胃癌症例については，病変の最大径がより大きな主病巣を代表として検討した．

また1980年から1995年までに治療した漿膜浸潤胃癌を中心にして免疫組織化学的に脈管侵襲に影響する因子を検討した．VEGF は抗 VEGF ポリクローナル抗体 A-20（Santa Cruz 社）を用いて免疫染色し，腫瘍細胞の10％以上に VEGF の発現を認める例を VEGF 発現陽性とした．胃癌組織の新生血管は抗 CD34モノクローナル抗体（Nichirei 社）を用いて染色し，200倍の顕微鏡画面をコンピュータモニタに取り込み，0.075 mm^2の範囲を５箇所測定し，平均値を新生血管密度と

＊第51回日消外会総会シンポ３・胃癌における脈管侵襲の意味

＜1998年７月22日受理＞別刷請求先：辻谷　俊一
〒683-8504　米子市西町36－１　鳥取大学医学部第１外科

した．一方，樹状細胞は抗S-100蛋白抗体(Nichirei社)を用いて免疫染色し，新生血管と同様な方法で浸潤の多い5箇所の細胞数を平均し樹状細胞浸潤密度とした．

さらに1990年から1995年の間に手術した胃癌症例について，術前血清中の可溶性IL-2受容体（sIL-2R）値をセルフリーIL-2Rキット(山之内製薬)を用いて2抗体固相酵素免疫測定法にて測定した．別に測定した98人の健康成人の血清sIL-2Rの平均値±標準偏差(SD)は413±183U/mlであり，779U/ml(平均値＋2SD)を基準値としてsIL-2R高値例を判定した．

統計学的検討はχ^2検定およびt検定を用い，累積生存率は手術時を起点としてKaplan-Meier法にて求め，logrank法にて検定した．いずれも危険率5％以下の場合を有意差ありと判定した．

結　果

2,404例の胃癌症例中ly（＋）は1,245例（52％），v（＋）は752例（31％）であった．癌の深達度，腫瘍長径，リンパ節転移についてみると，いずれも癌の進展に伴ってly，vの陽性率が増加した（**Table 1**）．肉眼型との相関をみると，ly(＋)はどの肉眼型の進行癌でも高頻度にみられ，早期癌ではⅠ型やIIa＋IIc型で30％程度と高率であった．しかし，症例数は早期胃癌の中でIIc型に最も多かった．v（＋）は2型，3型で50％前後を占め，早期癌ではⅠ型やIIa＋IIc型が多かった．組織型ではly(＋)がpor1，por2，mucに多く，v(＋)はpor1に多かった．また主占居部位ごとに調べると，ly，vともにC領域の癌に最も高頻度にみられた．

脈管侵襲が胃癌切除症例の術後生存率に与える影響について調べた．リンパ管侵襲に関してはstage III症例においてly（＋）症例の5年生存率は45％，ly（－）は58％となり（**Fig. 1**），ly（＋）症例の予後が有意に不良であり（$p<0.01$），それ以外のstageではリンパ管侵襲による予後の差はみられなかった．一方，静脈侵襲についての検討ではse・n1（＋）のstage IIIa胃癌においてv(＋)の5年生存率が15％，v(－)が52％であり（**Fig. 2**），v（＋）症例の予後が有意に不良であり（$p<0.05$），それ以外のstageでは静脈侵襲は患者の予後に影響しなかった．

腫瘍のVEGFの発現と樹状細胞浸潤は140例の胃癌で調べ，ly，vの陽性率との相関を検討した(**Fig. 3**)．VEGFは陽性例の67％がly（＋），71％がv（＋）であり，陰性例のly（＋）が40％，v（＋）が33％に比べて

Table 1　Clinicopathological characteristics of patients with gastric carcinoma in relation to vascular involvements

Variable		No.	ly(+)	v(+)
Depth of invasion	m	441	1%	0%
	sm	449	28%	13%
	mp	241	56%	30%
	ss	287	71%	40%
	se	805	77%	51%
	si	181	86%	53%
Lymph node metastasis				
	n(−)	1,216	21%	12%
	n1(+)	486	74%	42%
	n2(+)	434	88%	53%
	n3(+)	177	93%	67%
	n4(+)	91	92%	64%
Size	-5cm	1,191	33%	19%
	5-10cm	868	68%	43%
	10cm-	345	77%	43%
Gross appearance	Type 0			
	I	66	29%	11%
	IIa	66	20%	9%
	IIa+IIc	95	28%	13%
	IIb	8	0%	0%
	IIc	623	12%	6%
	III	35	9%	0%
	Type 1	42	67%	38%
	Type 2	379	73%	54%
	Type 3	637	79%	49%
	Type 4	270	74%	38%
	Type 5	183	58%	32%
Histologic type	pap	370	58%	38%
	tub1	182	19%	8%
	tub2	552	44%	27%
	por1	392	78%	58%
	por2	538	67%	33%
	sig	146	19%	8%
	muc	57	79%	37%
Location	C	437	70%	60%
	M	860	37%	16%
	A	1,107	53%	32%

VEGF陽性例では脈管侵襲を伴うことが有意に多かった（$p<0.05$）．樹状細胞の浸潤密度の平均は設定面積あたり15.0であり，これを基準に高度浸潤と軽度浸潤の2群に大別した．ly(＋)，v(＋)はそれぞれ樹状細胞高度浸潤例では40％，36％に対し，軽度浸潤例では64％，65％で，リンパ管侵襲，静脈侵襲とも樹状細胞浸潤の多い症例では脈管侵襲が有意に少なかった（$p<0.05$）．術前血清中sIL-2R値は121例の胃癌症例で測定した（**Fig. 3**）．その平均sIL-2R値は482.2±

Fig. 1 Postoperative survival curves according to the lymphatic involvement in patients with stage III gastric carcinoma.

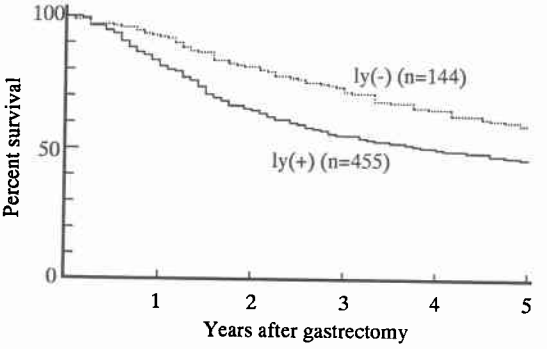


Fig. 2 Postoperative survival curves according to the venous involvement in patients with stage IIIa gastric carcinoma, accompanying the serosal invasion and the involvement to the primary lymph nodes.

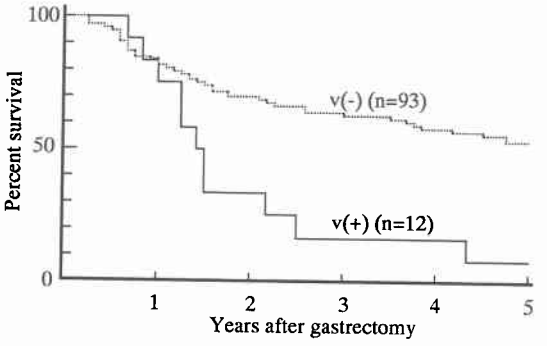
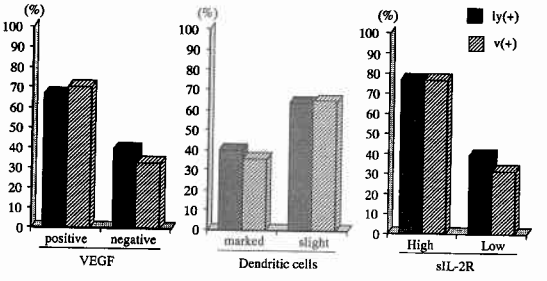
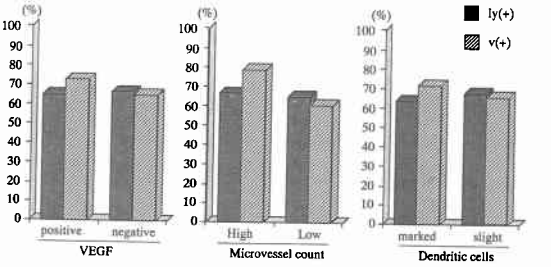


Fig. 3 Incidence of lymphatic and venous involvement in relation to the expression of VEGF, infiltration of dendritic cells and preoperative serum concentration of sIL-2R in gastric carcinomas.



238.8U/ml であり，高値例は13例（11%）であった．sIL-2R 値上昇例で ly（+）は77%，v（+）も77%であり，sIL-2R 値正常では ly（+）が39%，v（+）が32%であったのに比べて有意に高頻度であった（$p<0.05$）．

Fig. 4 Incidence of lymphatic and venous involvement in relation to the expression of VEGF, density of microvessel count and infiltration of dendritic cells in gastric carcinomas.



次に脈管侵襲が予後因子となった stage III 胃癌において，VEGF の発現，新生血管密度，樹状細胞浸潤が脈管侵襲を規定しているか検討した（**Fig. 4**）．ly（+），v（+）は VEGF 陽性例のそれぞれ65%，73%，陰性例の67%，65%であり，VEGF の発現と脈管侵襲に相関はなかった．新生血管密度は平均が43.7であり，これを基準値として高密度群と低密度群に分類した．ly（+），v（+）は高密度群の67%，79%，低密度群の65%，61%であり，新生血管密度と脈管侵襲に相関はなかった．樹状細胞については ly（+）症例，v（+）症例はそれぞれ高度浸潤群の64%，72%，軽度浸潤群の68%，66%であり，樹状細胞浸潤と脈管侵襲に相関はなかった．

考　察

胃癌の脈管侵襲は癌の進行とともに陽性率が高くなり，並行して原発巣以外の臓器への転移が明らかになる．したがって脈管侵襲が転移の初期像として捉えられ，この病態の意義を臨床的に応用する努力が必要である．今回の検討では stage III 胃癌において脈管侵襲は予後規定因子となった．stage III 胃癌は治癒切除がなされても半数近くが再発するため，脈管侵襲陽性症例を再発危険群として臨床的に対策を講じることは重要である．今回の検討では予後因子とはならなかったが，早期胃癌において ly はリンパ節転移に大きく影響する．早期胃癌に画一的な D_2郭清を行う限りは ly の意義はあまりないが，縮小手術を考える場合は非常に重要な因子となる．内視鏡的粘膜切除術（EMR）後の検索で ly（+）となった症例の治療方針をどうするかは今後解決すべき重要な課題である．

腫瘍における血管新生は腫瘍の増殖・転移にとって非常に重要で[1)2)]，悪性リンパ腫，乳癌，卵巣癌，非小細胞性肺癌，前立腺癌，卵巣癌，胃癌などでは患者の予後と相関すると報告されている．血管新生因子の分泌は腫瘍と宿主の相互作用によって制御され，VEGFは胎生期の血管形成や成熟個体の血管新生において血管新生の中心的役割を演じている．そして腫瘍細胞はVEGFのsplicing variantを分泌し，腫瘍血管新生を促進する．そのため多くの癌において腫瘍内のVEGFの発現は腫瘍組織中の微小血管密度と相関し，腫瘍の進展，転移に関係することが明らかになった．

胃癌組織中に浸潤する樹状細胞は抗原提示細胞として機能し，癌抗原を捉えてTリンパ球を活性化する．我々は腫瘍組織中の樹状細胞浸潤がStage III胃癌患者の予後と相関することを報告した[3)]．癌患者の免疫機構の障害の主な理由はエフェクターのTリンパ球ではなく，抗原提示機能の障害のためであると考えられる．最近，樹状細胞をはじめとする抗原提示細胞の障害の機序にVEGFが関与することが明らかになった．すなわちin vitroの実験で腫瘍細胞の上清が樹状細胞の成熟を抑制すること，上清中のVEGFがCD34陽性骨髄前駆細胞から樹状細胞への分化を抑制することを報告された[4)]．VEGFの機能を担うのはその受容体の発現で，VEGF受容体(Flt-1，Flk-1/KDR，Flt-4)は血管内皮細胞に発現している．樹状細胞などの抗原提示細胞の前駆細胞である造血幹細胞もVEGF受容体を発現しており，CD34陽性細胞にはFlk-1/KDRやFlt-1に特異的なmRNAが検出されている[5)]．

したがってVEGFは胃癌組織中の樹状細胞の浸潤密度を制御している可能性があり，我々は胃癌組織における樹状細胞の浸潤と腫瘍のVEGFの発現との関係を検討した．その結果腫瘍組織のVEGF発現，樹状細胞浸潤，新生血管密度はいずれも胃癌の予後因子として重要であった．またVEGFの発現は樹状細胞浸潤を低下させ，新生血管密度を増加させることが明らかになった．したがって腫瘍のVEGF発現が血管新生を促進するとともに樹状細胞浸潤を抑制し，患者の予後を不良にしていると考えられた．

IL-2RはTリンパ球表面に表れてIL-2と結合し，Tリンパ球の分化，増殖を促進する[6)]．活性化Tリンパ球の表面からはIL-2Rのサブユニットのひとつである$IL\text{-}2R\alpha$が体液中にはがれ落ちてsIL-2Rとなり，これが生体内のリンパ球の状態を反映すると考えられる[7)]．自己免疫疾患や各種の悪性腫瘍で血清中のsIL-2Rの増加が報告されている[8)~11)]．sIL-2Rは活性化されたTリンパ球の量的指標ではあるが，同時にIAPなどの免疫抑制因子の量と相関する[11)]．今回の検討でもsIL-2Rが高値の症例では脈管侵襲が高度であり，癌の進行度との相関を示したものと考えられる．

我々は脈管侵襲が予後因子となったstage III症例を検討した結果，VEGFの発現，新生血管密度，樹状細胞浸潤はいずれも脈管侵襲を規定するものではなかった．これらの因子は癌の進展と関連し，またstage III胃癌の予後因子として重要であったが，それは脈管侵襲とは異なった影響を腫瘍ならびに宿主に与えると考えられる．胃癌の新生血管密度は血行性転移と関連することが報告され[12)]，我々の検討でも同様の結果を得たが，新生血管密度と静脈侵襲には相関が得られなかった．

これからは患者にとって最適な胃癌治療を確立するために，病態の正確な把握と治療の整合性を追求する努力が必要である．今回我々が検討した脈管侵襲やVEGF，新生血管，樹状細胞などは，患者の病態を詳細に把握するためにきわめて重要であり，今後さらなる研究が求められる．

文　献

1) Folkman J: What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst 82：4—6，1990
2) Bicknell R, Harris AL: Novel growth regulatory factors and tumor angiogenesis. Eur J Cancer 27：781—784，1991
3) Tsujitani S, Furukawa T, Tamada R et al: Langerhans' cells and prognosis in patients with gastric carcinoma. Cancer 59：501—505，1987
4) Gabrilovici DI, Hailei LC, Khaled RG et al: Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. Nature Med 2：1096—1103，1996
5) Katoh O, Tauchi H, Kawaishi K et al: Expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor gene, KDR, in hematopoietic cells and inhibitory effect of VEGF on apoptotic cell death caused by ionizing radiation. Cancer Res 55：5687—5692，1995
6) Mills GB, Schmandt R, Bibson S et al: Transmembrane signalling by the interleukin 2 receptor: progress and conundrums. Semin Immunol 5：345—364，1993
7) Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME et al: Soluble interleukin 2 receptors are released from

activated human lymphoid cells in vitro. J Immunol 135 : 3172—3177, 1985
8) Brown AE, Rieder KT, Wehster HK : Prolonged elevation of soluble interleukin-2 receptors in tuberculosis. Am Rev Respir Dis 139 : 19—21, 1986
9) Poulakis N, Sarandakou A, Rizos D et al : Sobuble interleukin 2 receptors and other markers in primary lung cancer. Cancer 38 : 1045—1051, 1991
10) Pavlidis NS, Manoussakis MN, Germanidis GS et al : Serum-soluble interleukin-2 receptors in B-cell lymphoproliferative malignancies. Med Pediatric Oncol 20 : 26—31, 1992
11) Murakami S, Satomi A, Ishida K et al : Serum-soluble interleukin-2 receptor concentrations in patients with gastric cancer. Cancer 74 : 2745—2748, 1994
12) Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M et al : Extent of tumor vascularization correlates with prognosis and hematogenous metastasis in gastric carcinomas. Cancer Res 56 : 2671—2676, 1996

Clinical Significance and Regulation of Vascular Involvement in Gastric Carcinoma

Shunichi Tsujitani, Hiroaki Saito, Shinichi Oka, Akira Kondo, Ichiro Konishi, Masahide Ikeguchi, Michio Maeta and Nobuaki Kaibara
Department of Surgery I, Faculty of Medicine, Tottori University

We investigated the clinical significance and regulation of lymphatic involvement and venous involvement in gastric carcinomas. The incidence of both lymphatic involvement and venous involvement in 2,404 patients with gastric carcinoma increased in tandem with tumor progression, such as depth of invasion, size, and lymph node metastasis. Lymphatic and venous involvement was often observed in tumors located in the upper third part of the stomach. Lymphatic involvement was common in solid-type, poorly differentiated carcinomas. Venous involvement was frequent in both solid- and non-solid-type, poorly differentiated carcinoma, and in mucinous carcinoma. Both lymphatic and venous involvement corelated with survival in stage III gastric carcinoma. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), a potent angiogenesis-promoting factor related to tumor progression, correlated with the incidence of lymphatic and venous involvemen. Infiltration by dendritic cells (DCs), the most potent antigen-presenting cells, was inversely correlated with lymphatic and venous involvement. Serum levels of soluble interleukin 2 receptor (sIL-2R), which is released from activated T lymphocytes into the circulation, also correlated with lymphatic and venous involvement. However, neither VEGF, DCs nor sIL-2R affected the incidence of lymphoid or venous involvement in patients with stage III gastric carcinoma. These results suggest that VEGF, DCs and sIL-2R, in addition to the findings of depth of invasion, size, histologic type, and location of the tumor, may help predict lymphatic and venous involvement in gastric carcinoma.

Reprint requests: Shunichi Tsujitani Department of Surgery I, Faculty of Medicine, Tottori University
36-1 Nishi-cho, Yonago, 683-8504 JAPAN