

## 免疫組織学的遺伝子診断による早期胃癌の リンパ節転移能判定と臨床応用

(財) 防府消化器病センター外科, 広島大学第1病理\*

松崎 圭祐 戸田 智博 川野 豊一 三浦 修  
南園 義一 長崎 進 安井 弥\*

1986年から1995年に施行した早期胃癌手術326症例のうちリンパ節転移を認めた21例について、ホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて ABC 法にて癌関連遺伝子である p53, c-erb B2, cyclin E, CD44 について免疫組織学的検討をおこない、その陽性率について対象群40例と比較検討した。p53, cyclin E, CD44のいずれにおいても陽性率は転移群で有意に高率であり、3 遺伝子ともに陽性を示した症例は n (+) 群 : 7/21 (33%), n (-) 群 : 3/40 (8%) で、n (+) 群で有意に高率であった。さらに cyclin E または CD44 が強陽性を示した 7 例は全例が n (+) 群であった。1996年度の手術症例 29 例について、生検標本において転移高危険群と判定した症例は計 4 例で、n (+) の 2 例はもれなく含まれていた。以上より、p53, cyclin E, CD44 陽性症例ではリンパ節転移の危険性が極めて高いことを考慮すべきで、生検組織による術前判定が可能であり、最適の治療法や術式の決定に活用できるものと考えられた。

**Key words:** early gastric cancer, prediction of lymph node metastasis, cancer-related genes (p53, cyclin E, CD44), immunohistochemical analysis, clinical application

### はじめに

胃癌の発生・進展には遺伝子の不安定性に基づいたさまざまな癌遺伝子の活性化と癌抑制遺伝子の不活化を含む複数の遺伝子異常の蓄積が必要であり、その変化を臨床検体で検索し、遺伝子診断として応用することが可能になってきている<sup>1)~3)</sup>。

近年、内視鏡機器や診断技術の進歩により胃癌の早期発見が可能となり、胃癌に占める早期癌の割合が増加している。早期胃癌に対して術後の QOL 向上の目的で内視鏡的粘膜切除や腹腔鏡による部分切除、リンパ節郭清の縮小手術が増加しているが、その適応決定における重要な因子がリンパ節転移の有無である。治療前にできるだけ正確にリンパ節転移の有無を知ることが、患者個々におけるより適切な切除法や術後化学療法、術後検査の施行につながるものと考えられる。そこで我々はリンパ節転移を伴う早期胃癌症例について癌関連遺伝子を免疫組織学的に検索して癌細胞のリンパ節転移能の判定、さらには臨床応用への検討を

行ったので報告する。

### 対象と方法

#### ① 基礎的検討

1986年から1995年の10年間に当施設で施行した早期胃癌手術症例326例のうちリンパ節転移を認めた21例 (Table 1) を対象にホルマリン固定パラフィン包埋切片を用い、p53, c-erb B2, cyclin E, CD44 について ABC 法にて免疫組織学的検討を行い<sup>4)</sup>、その陽性率についてリンパ節転移を伴わない対象群と比較検討した。対象群はリンパ節転移を伴わない早期胃癌手術症例40例で、年齢、性別、組織型などを転移群に合わせて選択した。

免疫染色における使用抗体ならびに染色方法、染色結果の判定基準のいずれも広島大学第1病理と同一<sup>4)5)</sup>に行った。使用抗体はそれぞれ p53: 抗ヒト p53 polyclonal antibody (Novocastra Laboratories Ltd.), c-erb B2: 抗ヒト c-erb B2 polyclonal antibody (ニチレイ), cyclin E: 抗ヒト cyclin E monoclonal antibody (PharMingen), CD44: 抗ヒト CD44 v9 monoclonal antibody (生化学工業) である<sup>4)6)7)</sup>。

染色結果の判定基準は - ~ + + + の 4 段階で、-

<1998年9月16日>別刷請求先: 松崎 圭祐  
〒747-0801 防府市駅南町14-33 (財)防府消化器病  
センター外科

Table 1 21 Cases of early gastric carcinoma with lymph node metastasis

Case No.	Age/Sex	Operation method	Size (mm)	Ulcer	Macroscopic type	Depth of invasion	Histological type	Lymph vessel invasion (ly)	Venous vessel invasion (v)	Lymph node metastasis (n)
1	36/F	B-I	25×20	⊖	IIc	sm	por+sig	1	0	1
2	61/F	B-I	15×10	⊖	IIc	sm	tub <sub>2</sub>	1	0	1
3	71/M	B-I	90×38	⊖	IIc	sm	tub <sub>1</sub>	1	2	1
4	65/M	B-II	60×25	⊖	IIc	sm	tub <sub>2</sub>	2	0	1
5	39/M	B-I	15×12	⊕	III+IIc	sm	por	2	1	2
6	61/M	B-I	40×30	⊕	IIc+III	m	sig	0	0	1
7	77/M	B-I	31×23	⊕	IIc+III	sm	tub <sub>1</sub>	0	0	1
8	51/M	Total	225×125	⊖	IIc	sm	tub <sub>2</sub> +sig	0	0	2
9	72/M	B-I	40×30	⊖	I	sm	tub <sub>2</sub>	1	1	1
10	60/M	B-I	13×8	⊕	IIc+III	sm	tub <sub>2</sub>	1	0	1
11	77/M	B-I	35×10	⊖	IIc	sm	tub <sub>2</sub>	2	0	2
12	50/F	B-I	30×28	⊖	IIa	sm	tub <sub>2</sub>	3	0	4
13	54/M	B-I	20×20	⊖	IIa	sm	tub <sub>2</sub>	1	1	1
14	69/M	B-I	9×9	⊖	IIa+IIc	sm	por	2	1	1
15	46/M	Total	50×45	⊕	IIc+III	m	por	1	0	1
16	62/M	B-I	45×45	⊖	IIa+IIc	sm	por	1	0	1
17	66/M	B-I	18×13	⊕	IIc+III	sm	tub <sub>2</sub>	1	0	1
18	69/F	B-I	18×16	⊖	IIc+IIa	sm	por	0	0	3
19	60/M	Total	28×24	⊖	IIa	sm	tub <sub>1</sub>	1	1	1
20	58/F	B-I	26×18	⊖	IIc	sm	por	1	0	1
21	51/F	B-I	50×22	⊖	IIc	m	sig	1	0	3

陽性細胞をほとんど認めない, + : 5~25%の細胞が陽性, ++ : 25~50%の細胞が陽性, +++ : 50%以上の細胞が陽性を示す症例で, 特に+++と++++を強陽性と判定した<sup>4)5)</sup>。

統計学的処理は Fisher's exact probability test で行い,  $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

## ② 臨床応用への検討

基礎的検討にて得られた結果より, 1997年度に当センターで行った早期胃癌手術症例29例(うちリンパ節転移症例: 2例)を対象に, 術前に得られた生検標本において p53, cyclin E, CD44の3遺伝子について同様に免疫染色を行った。生検組織にて染色判定ならびに癌組織のリンパ節転移能判定を行った後に手術摘出標本の染色判定と比較検討するとともに, リンパ節転移の有無を生検組織から行ったリンパ節転移能判定の結果と比較した。

なお, 臨床病理学的事項の記載は胃癌取扱い規約<sup>6)</sup>に準じた。

## 結 果

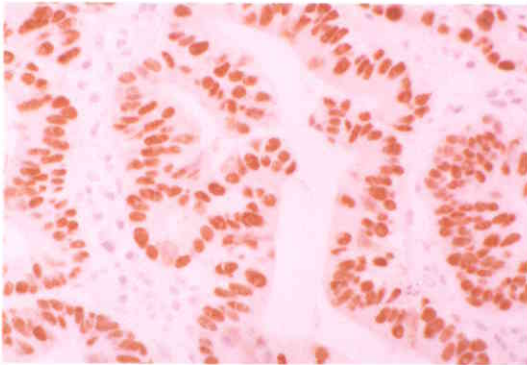
### ① 基礎的検討

p53陽性率はリンパ節転移群(以下, n(+))群: 17/21 (81%), リンパ節転移を伴わない群(以下, n(-))

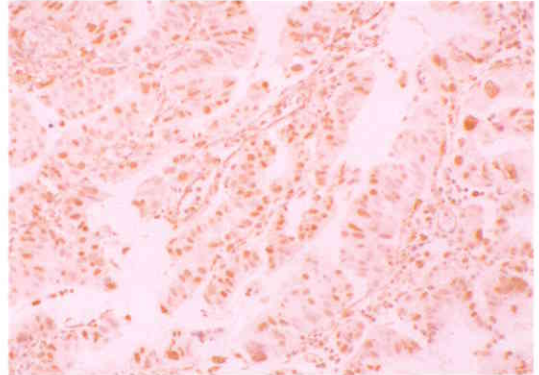
群: 26/40 (65%) と n (+) 群で高い傾向を示した。また強陽性率では n (+) 群: 11/21 (52%) と n (-) 群: 10/40 (25%) に比べて有意 ( $p < 0.05$ ) に高率であった (Fig. 1, Table 2)。c-erb B2染色では陽性症例は全61例中2例のみで, とともに強陽性を示し, n(+)) 群であるとともに分化型 sm 癌症例であった (Fig. 2, Table 3)。また cyclin E 陽性率は n (+) 群: 10/21 (48%) で, n (-) 群: 8/40 (20%) に比べて有意 ( $p < 0.05$ ) に高率であり, さらに強陽性の2例はともに n (+) 群であった (Fig. 3, Table 4)。CD44陽性率は n (+) 群: 13/21 (62%) と n (-) 群: 11/40 (28%) に比べて有意 ( $p < 0.01$ ) に高率であった (Fig. 4, Table 5)。p53, cyclin E, CD44のいずれも陽性を示したものは n (+) 群: 7/21 (33%), n (-) 群: 3/40 (8%) の計10例であり, n (+) 群で有意 ( $p < 0.05$ ) に高率であった。そのうち p53のみが強陽性を示したものは, n (+) 群: 6/21 (29%), n (-) 群: 1/40 (3%) の計7例であった。cyclin E または CD44のいずれかが強陽性を示したものはそれぞれ2例と5例の計7例で, 全例が n (+) 群であり, n (-) 群では認められなかった (Table 6)。

### ② 臨床応用への検討

**Fig. 1** Immunostaining showed a strongly positive case for p53 (×40).



**Fig. 3** Immunostaining showed a strongly positive case for cyclin E (×20).



**Table 2** Expression of p53 in early gastric carcinomas

	Case no.	Positive (≥+)	Strongly positive (≥++)
n(+)	21	17(81%)	11(52%)
n(-)	40	26(65%)	10(25%)

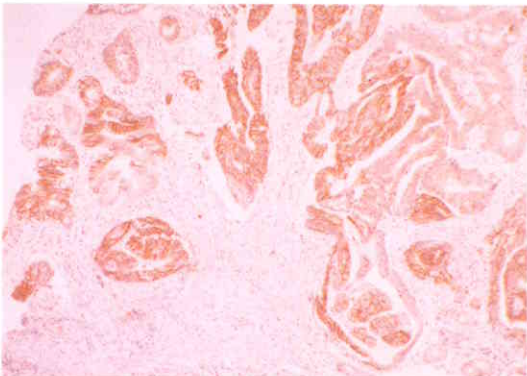
\* p<0.05

**Table 4** Expression of cyclinE in early gastric carcinomas

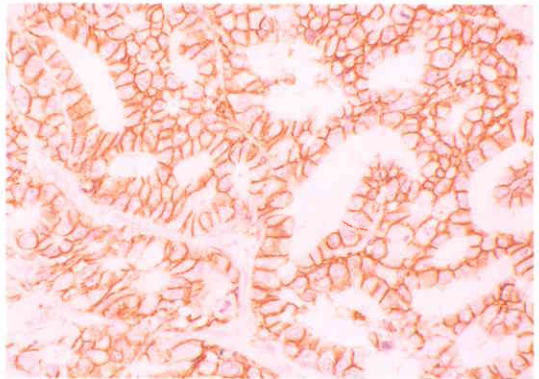
	Case no.	Positive (≥+)	Strongly positive (≥++)
n(+)	21	10(48%)	2(10%)
n(-)	40	8(20%)	0(0%)

\* p<0.05

**Fig. 2** Immunostaining showed a strongly positive case for c-erb B2 (×10).



**Fig. 4** Immunostaining Showed a strongly positive case for CD44 (×40).



**Table 3** Expression of c-erb B2 in early gastric carcinomas

	Case no.	Positive (≥+)	Strongly positive (≥++)
n(+)	21	2(10%)	2(10%)
n(-)	40	0(0%)	0(0%)

**Table 5** Expression of CD44 in early gastric carcinomas

	Case no.	Positive (≥+)	Strongly positive (≥++)
n(+)	21	13(62%)	6(29%)
n(-)	40	11(28%)	4(10%)

\* p<0.01

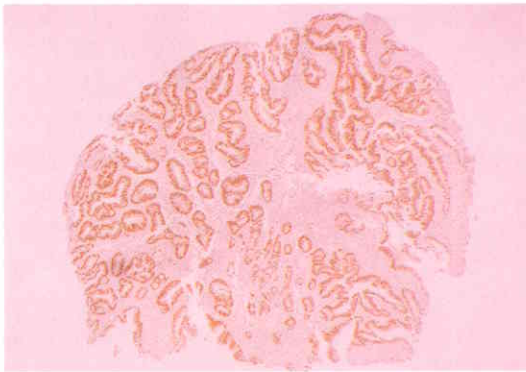
生検標本で陰性と判定されながら手術摘出標本で陽性と判定された症例は29例中1例のみで、癌組織が3

**Table 6** Expression of P53, cyclin E and CD44 in early gastric carcinomas

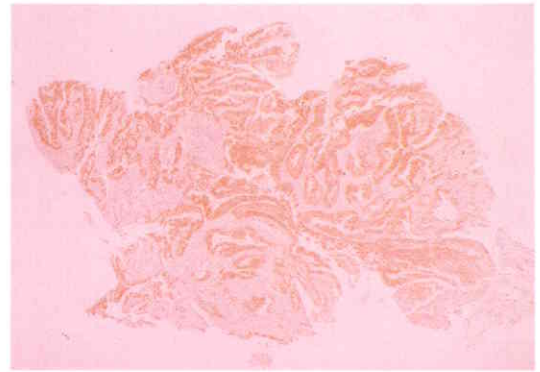
case no.	P53 $\geq +$ cyclinE $\geq +$ CD44 $\geq +$	P53 $\geq ++$ cyclinE $\geq +$ CD44 $\geq +$	P53 $\geq +$ cyclinE $\geq ++$ CD44 $\geq +$	P53 $\geq +$ cyclinE $\geq +$ CD44 $\geq ++$
n(+) 21	7(33%)	7(33%)	2(10%)	5(24%)
n(-) 40	3(8%)	2(5%)	0(0%)	0(0%)

a : p<0.05 b : p<0.01 c : p<0.005

**Fig. 5** Immunostaining showed a strongly positive case for p53 in the biopsy specimen ( $\times 4$ )



**Fig. 6** Immunostaining showed a strongly positive case for CD44 in the biopsy specimen ( $\times 4$ )



個以上採取されていた28例では全例、両者の染色判定が一致した。29例中、p53, cyclin E, CD44のいずれもが陽性を示し、リンパ節転移高危険群と診断した症例は計4例で、n(+)の2例はいずれもその中に含まれていた。n(+)症例2例のうち1例はp53, cyclin Eが強陽性 (Fig. 5)、他の1例はCD44が強陽性であった (Fig. 6)。

**考 察**

近年、わが国における胃癌死亡率は徐々に低下傾向にある。これは胃癌検診や人間ドックなどの意識の向上、検査機器・技術の進歩により、早期胃癌で発見される割合が急増しており、大多数の施設で過半数を超えていることによると考えられる。そして早期胃癌、特に粘膜内胃癌の増加にともなって術後のQOL向上の目的で内視鏡的粘膜切除 (EMR) や腹腔鏡による部分切除などの縮小手術が増加している<sup>9)10)</sup>。従来の開腹手術においても一律に2群郭清を行うのではなく、病変部位や大きさ、深達度などに合わせて1群+ $\alpha$ と、郭清範囲の縮小が行われるようになってきた。内視鏡的あるいは腹腔鏡的切除術の適応決定の際には、術前にリンパ節転移を伴っていないことが必須条件であり、その判定は過去の内視鏡的、病理組織学的データ、

すなわち形態的データをもとに行われているのが現状である。

胃癌の発生・進展には遺伝子の不安定性に基づいたさまざまな癌遺伝子の活性化と癌抑制遺伝子の不活性化を含む複数の遺伝子異常の蓄積が必要である<sup>11)</sup>。その変化を臨床検体で検索し、遺伝子診断 (癌の悪性度診断) として応用することが可能になっており、既に安井らにより広島市医師会臨床検査センターにおいて臨床施行されている<sup>11)~13)</sup>。ホルマリン固定された病理組織検体からでもさまざまな遺伝子異常が検出可能であり、遺伝子産物の過剰発現、異常蓄積は特異抗体を用いて組織切片上で捉えることが可能である<sup>12)</sup>。

われわれは胃角部前壁の隆起型、分化型の小病変で、内視鏡、胃透視の所見から深達度mと術前診断されたsm胃癌にVirchowリンパ節転移を認め、リンパ節郭清を伴う胃切除術と術後化学療法を行ったものの術後6か月後に癌死した症例を経験した<sup>13)</sup>。本症例は最大径3cmで腫瘍本体は粘膜内に局在して粘膜筋板は保たれているものの、粘膜筋板直下のリンパ管に著明な癌浸潤を認めた。従来からの形態的データに基づく術前進行度診断では、開腹による胃切除術+2群リンパ節郭清により確実に治癒が得られると考えられる症例

である。そこで手術摘出標本を用いて関連遺伝子について免疫組織学的に検索した結果、転移抑制遺伝子である nm23 の減弱、癌抑制遺伝子である p53、癌遺伝子である c-erb B2 の強い過剰発現を示すとともに、原発巣の m 層の癌細胞にはその発現増強に強弱のばらつきがあるものの粘膜下層のリンパ管内、転移リンパ節の癌細胞はすべて強い発現増強を示すという極めて興味深い結果を得た<sup>13)</sup>。

そこでわれわれはすでに広島市医師会検査センターならびに広島大学第 1 病理にて蓄積されたデータより、リンパ節転移との相関が強く示唆された p53、c-erb B2、cyclin E、CD44 について当センターにて施行された早期胃癌手術症例を対象にリンパ節転移群をリンパ節を伴わない対象群と比較検討した。

p53 は転写調節因子として種々の遺伝子の発現を制御することにより、細胞の増殖や細胞周期の調節、アポトーシスの誘導などに関与している。正常 p53 はサイクリン依存性キナーゼ阻害蛋白を介してサイクリン依存性キナーゼ活性を抑制し、細胞を G1 期に止めることにより細胞周期をコントロールしている。一方、変異 p53 ではこのブレーキがかからず、細胞周期が回転していつまでも細胞増殖が続き、癌化ならびに癌の進展につながる。本検討では強陽性率において両群間に有意差を認め、p53 の不活化は癌化のみでなくリンパ節転移との関連も示唆された。

cyclin E はサイクリン依存性キナーゼと結合することによりサイクリン依存性キナーゼを活性化させるため、その過剰発現は癌細胞の増殖を促進する。臨床的にも cyclin E の増幅ならびに過剰発現が胃癌の増殖と転移に関連していることが報告されている<sup>5)14)</sup>。本検討でもリンパ節転移群が対象群に比べて有意に陽性率が高く、しかも強陽性を示した 2 例ともに転移群であり、リンパ節転移との強い関連が推察された。

c-erb B2 についてはマウス結腸癌細胞や NIH3T3 マウス線維芽細胞に活性化 c-erb B2 を導入発現した実験から転移能の獲得が報告されている<sup>15)</sup>。本検討では c-erb B2 陽性はわずかに分化型の 2 例であったが、ともにリンパ節転移症例であった。臨床例においても c-erb B2 陽性症例では高率にリンパ節転移を伴い、予後不良であることが報告されており<sup>16)17)</sup>、我々の結果とも合致する。細胞接着因子の 1 つである CD44 はラット膀胱癌高転移細胞でのスプライス変異体の遺伝子導入による転移性獲得の報告<sup>18)</sup>以来、臨床例においてもリンパ節転移のみでなく肝転移との関連<sup>19)</sup>が注目されて

いる。本検討でもリンパ節転移群が対象群に比べて有意に高い陽性率を示した。

以上のごとく早期胃癌においても p53、c-erb B2、cyclin E、CD44 はそれぞれリンパ節転移と強い相関を認めた。われわれの選択した癌関連遺伝子の 4 種はいずれも癌細胞の増殖、転移など生物学的悪性度と密接に関連した遺伝子であり、胃癌の発生、進展に複数の遺伝子異常が必要であることを考えると、より正確に悪性度診断を行うためには複数個の遺伝子検索が必要と考えられた。そこで、より高精度にリンパ節転移の危険性を診断する目的で、p53、cyclin E、CD44 の 3 種(分化型癌については c-erb B2 を追加した 4 種)それぞれの判定結果を総合的に判定することを試みた。従来、p53、cyclin E、CD44 について、それぞれ個々に進行胃癌についてその陽性率を検討し、予後との相関などについて検討した報告はみられるが、早期胃癌において数種の癌関連遺伝子を総合的に検討した報告はまだ見ない。p53、cyclin E、CD44 の 3 種いずれも陽性を示した症例は n (+) 群: 7/21, n (-) 群: 3/40 の計 10 例で、n (+) 群で有意 ( $p < 0.05$ ) に高率であった。そのうち cyclin E または CD44 のいずれかが強陽性を示した症例は計 7 例で、全例が n (+) 群であり、n (-) 群には 1 例も認めなかった。また、c-erb B2 強陽性の 2 例は共に p53、cyclin E、CD44 のいずれも陽性を示していた。

以上より、p53、cyclin E、CD44 の 3 種いずれも陽性を示す早期胃癌症例ではリンパ節転移を伴っている可能性が高く、特に cyclin E ならびに CD44、c-erb B2 強陽性症例ではリンパ節転移の危険性が極めて高く、リンパ節郭清の拡大や積極的な術後免疫化学療法の併用、術後検査の徹底など進行胃癌に準じた治療を考慮すべきと考えられた。

本研究を臨床の場で活かすためには、術前にリンパ節転移能を判定することが必要であり、そのためには術前検査で得られる小さな数個の生検標本において以上の判定をできるだけ正確に行うことが必要となる。そこで臨床応用への可能性を検討する目的で、実際の術前生検標本 29 症例にて判定を行った結果、癌組織が 3 個以上採取されている 28 症例では全例が手術摘出標本の判定と一致した。29 例中、p53、cyclin E、CD44 のいずれもが陽性を示し、リンパ節転移危険群と判定した症例は計 4 例で、そのうちの 2 例がリンパ節転移症例であった。しかも転移陽性の 2 例のうち、1 例は p53、cyclin E が強陽性、他の 1 例は CD44 が強陽性を

示しており、われわれの判定基準に合致するとともに、癌組織から最低3個以上、できれば5個以上の生検組織を採取すれば、術前判定は可能と考えられた。さらに strip biopsy にてまとまった組織片を採取すれば、従来の病理組織診断と総合判断することで診断精度はさらに向上するものと考えられる。

また、近年急速に増加している粘膜内胃癌に対する EMR は、技術の向上により比較的大きな病変も安全に切除が可能となってきている。しかし、正確なリンパ節転移の術前判定が困難なために、陥凹を伴わない分化型で2cm以内という従来の病理組織学的データに基づいた適応範囲にとどまり、高齢者などの高リスク症例でのみ拡大適応が行われているのが現状である。さらに EMR 後に開腹術を追加するか否かの判断は切除標本の病理学的検索の結果によるところが大である。しかしながら実際には sm 層が十分に採取されていない症例や切除の際の熱変性により sm 層のリンパ管の判別が困難な症例が多い。また数切片でリンパ管侵襲が認められないといって、その症例のリンパ節転移をなしと判断するのは問題が残るところである。実際に今回検討したリンパ節転移21症例中、手術摘出標本における病変部の全割標本の病理組織診断においてさえリンパ管侵襲なし (ly<sub>0</sub>) と診断された症例を計4例の20%に認め、形態診断のみでは限界があるものと考えられた。このような EMR 症例においてこそ、当方法にてより正確にリンパ節転移の危険性を診断することが可能であり、最適な治療を行う上で極めて有用と考えられる。また、さらに診断精度を高めることができれば粘膜内胃癌に対する EMR の適応もより安全に拡大することができ、術後 QOL の向上に貢献できるものと思われる。

以上の結果をもとに1998年4月1日より当センター臨床部門において研究所の協力を得て臨床応用を開始した。胃内視鏡検査の生検で Group IV ならびに V と診断された症例、EMR 症例については全例、自動的に免疫染色による遺伝子診断を行い、癌の生物学的悪性度、特にリンパ節転移の危険性を予測診断し、5日以内に遺伝子学的悪性度診断として提出している。リンパ節転移高危険群と診断された症例は、早期胃癌であっても十分なリンパ節郭清を行って実際のリンパ節転移状況を検索するとともに、術後免疫化学療法の併用、術後検査の徹底を計り、進行癌と同様の対処をしている。今後症例を積み重ね、当診断法の有用性を検証していく予定である。複数の遺伝子異常の蓄積に

よって癌細胞の生物学的悪性度が増強し、浸潤、転移へと進展していくことを考えると、今後もより適切な癌関連遺伝子を追加して総合判定することにより、さらに診断精度をあげることができると考えられる。そうすれば近い将来、患者個々のオーダーメイドの治療、すなわち個人個人の癌の生物学的悪性度に応じた最適で無駄のない合理的な手術と治療の実現に近づくことが可能と考えられる。

なお本論文の要旨の一部は The First International Conference on Gastroenterological Carcinogenesis (1996. 10. Hiroshima), 第50回日本消化器外科学会総会 (1997. 7. 横浜) において報告した。

#### 文 献

- 1) Tahara E: Genetic alterations in human gastrointestinal cancers; the application to molecular diagnosis. *Cancer* 75: 1410—1417, 1995
- 2) Yasui W, Yokozaki H, Tahara E: Molecular diagnosis of gastrointestinal cancer. Edited by Tahara E. *Molecular pathology of gastrointestinal cancer—Application to clinical practice—*. Springer-Verlag, Tokyo, 1997, p187—207
- 3) 安井 弥, 田原榮一: ヒトがんでの遺伝子異常と遺伝子診断: 胃癌. 蛋・核・酵 42: 1739—1746, 1997
- 4) Yasui W, Kuniyasu H, Yokozaki H et al: Expression of cyclin E in colorectal adenomas and adenocarcinomas: Correlation with expression of Ki-67 antigen and p53 protein. *Virchows Archiv* 429: 13—19, 1996
- 5) Yasui W, Akama Y, Kuniyoshi H et al: Expression of cyclin E in human gastric adenomas and adenocarcinomas: Correlation with proliferative activity and p53 status. *J Exp Ther Oncol* 1: 88—94, 1996
- 6) Kameda T, Yasui W, Yoshida K et al: Expression of ERBB 2 in human gastric carcinomas: Relationship between p185<sup>ERBB2</sup> expression and the gene amplification. *Cancer Res* 50: 8002—8009, 1990
- 7) Yamaguchi A, Saito M, Goi T et al: Expression of CD44 variant exons 8-10 in gastric cancer. *Jpn J Cancer Res* 86: 1166—1171, 1995
- 8) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 改訂第12版. 金原出版, 東京, 1993
- 9) 竹越隆男, 川村紀夫: 胃内視鏡による治療—内視鏡的切除を中心に—. 岩永 剛編. 胃癌—診断と治療の最近の進歩—. 消化器病セミナー59. へるす出版, 東京, 1995, p81—98
- 10) 大上正裕, 北島政樹: 胃癌に対する腹腔鏡下手術. 岩永 剛編. 胃癌—診断と治療の最近の進歩—.

- 消化器病セミナー59, へるす出版, 東京, 1995, p99-114
- 11) Yokozaki H, Kuniyasu H, Senba S et al: Molecular bases of human stomach carcinogenesis. Edited by Tahara E. Molecular pathology of gastrointestinal cancer—Application to clinical practice—. Springer-Verlag, Tokyo, 1997, p55-70
  - 12) Yasui W, Ito H, Tahara E: The analysis of archival material and its application to tumour pathology. Edited by Herrington CS, McGee JO' D. Diagnostic molecular pathology Vol. II: A practical approach. Oxford, 1992, p193-206
  - 13) 松崎圭祐, 戸田智博, 吉田勝俊ほか: Virchow リンパ節転移を伴った早期胃癌の1例—核DNAならびに癌関連遺伝子の検討—. 日消外会誌 29: 1040-1045, 1996
  - 14) Akama Y, Yasui W, Yokozaki H et al: Frequent amplification of the cyclin E gene in human gastric carcinomas. Jpn J Cancer Res 86: 617-621, 1995
  - 15) Yu D, Hung MC: Expression of activated rat neu oncogene is sufficient to induce experimental metastasis in 3T3 cells. Oncogene 6: 1991-1996, 1991
  - 16) Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A et al: Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. Cancer Res 51: 1034-1038, 1991
  - 17) Tsujino T, Yoshida K, Nakayama H et al: Alterations of oncogenes in metastatic tumours of human gastric carcinomas. Br J Cancer 62: 226-230, 1990
  - 18) Gunthert U, Hofman M, Rudy W et al: A new variant of glycoprotein CD44 confer metastatic potential to rat carcinoma cells. Cell 65: 13-24, 1991
  - 19) 磯崎博司, 岡島邦雄, 一ノ名正ほか: 肝転移の危険因子と予後因子. 外科 58: 833-841, 1996

#### **Prediction of Lymph Node Metastasis in Early Gastric Carcinoma by Immunohistochemical Analysis and its Clinical Application**

Keisuke Matsusaki, Tomohiro Toda, Toyokazu Kawano, Osamu Miura,  
Yoshikazu Minamisono, Susumu Nagasaki and Wataru Yasui\*

Department of Surgery, Hofu Institute of Gastroenterology

\*First Department of Pathology, Hiroshima University School of Medicine

An immunohistochemical study was conducted by the ABC method for p53, c-erb B2, cyclin E and CD44 on formalin-fixed, paraffin-embedded slices obtained from 21 specimens of lymph node metastasis (n(+)) group) from a total of 326 patients with early gastric cancer who underwent surgery between 1986 and 1995. The incidence of positive cases was compared with that in 40 controls (n(-)) group). The incidence was significantly higher in the metastasis group than in the controls for p53, cyclin E and CD44. Thirty-three percent of the cases in the n(+) group and 8% of those in the n(-) group were positive for all three genes. All 7 of those who were strongly positive for cyclin E or CD44 were in the n(+) Group. Among the 29 patients who underwent surgery in 1996, four, including two with metastasis, were assessed as at high risk for lymph node metastasis based on the biopsy results. These findings indicate that consideration must be given to the fact that the risk of lymph node metastasis is extremely high in patients positive for p53, cyclin E and CD44, and that a judgement that can be used to assist in the selection of the most suitable therapy or surgery can be made prior to medical treatment at the time of biopsy.

**Reprint requests:** Keisuke Matsusaki Department of Surgery, Hofu Institute of Gastroenterology  
14-33 Ekiminami-machi, Hofu-city, 747-0801 JAPAN