日消外会誌　33（4）：433～439，2000年

原　著

胃癌における細胞周期調節因子の発現と悪性度
―特に粘膜下層浸潤胃癌について―

広島大学原爆放射能医学研究所腫瘍外科
香川　佳寛　　吉田　和弘　　西本　直樹
矢野　康生　　平井　敏弘　　峠　　哲哉

胃癌における細胞周期調節因子の発現を検討した．まず，胃癌の悪性度と相関する $p27^{Kip1}$（以下，p27と略記），p27により活性が抑制されるcyclin Eの発現を検討した後，sm胃癌についてp27，cyclin E，p53，$p21^{WAF1}$（以下，p21と略記）を検討し，リンパ節転移の予測について考察した．胃癌178例の検討では，低分化，進行した症例でp27低発現であった．また，リンパ節転移陽性症例はcyclin E高発現で，さらにp27低発現かつcyclin E高発現症例ではより強い相関を認めた．

予後に関して検討したが，p27，cyclin Eの発現の高低による有意な差は認められなかった．

一方，sm胃癌69例の検討ではp27発現低下はリンパ節転移とは関連せず，cyclin E，p21高発現が関連していた．p53はリンパ節転移とは関連しなかった．以上，胃癌ではp27の発現低下は悪性度に関連する重要な因子であるが，リンパ節転移に関しては，cyclin Eが関連する因子として考えられた．

はじめに

細胞周期は一連のサイクリン依存性キナーゼ（CDK）ファミリーの活性のバランスによって制御されている．$p27^{Kip1}$（以下，p27と略記）は1994年Polyakらによりクローニングされた27kDaの核蛋白で，CDK阻害因子でありcyclin A-Cdk2，cyclin D2-Cdk4，cyclin E-Cdk2複合体のキナーゼ活性を阻害し，Rbのリン酸化を抑制することによりG1期からS期への移行を抑制する[1)2)]．また，p27はTGF-βや細胞接触により誘導され細胞周期をG1期に停止させる[1)3)]ことから細胞外調節因子と細胞周期調節因子との関連からも重要である．また，一部の塩基配列は$p21^{WAF1}$（以下，p21と略記）と相同性を持つことも知られている[3)]．このような細胞増殖抑制因子であるp27のノックアウトマウスは下垂体腫瘍を形成したり，巨体化することから，p27発現の低下は発癌，腫瘍増殖に関し重要な役割を果たすと考えられている[4)]．しかし，ヒト癌ではp27の遺伝子変異は非常にまれで[2)5)]，その発現低下は蛋白へ転写されたのち，蛋白分解に関与するプロテアソームの活性に関係があるといわれている[5)]．臨床的には乳癌においてp27の発現低下が無病期間の短縮と10年生存率の低下に関連し[6)]，さらに，p27の発現低下とcyclin Eの発現増強が10年生存率を低下させることが報告された[2)4)]．また，消化器癌においては大腸癌[7)]や胃癌[5)]においてもp27の発現低下がリンパ節転移をはじめとした悪性度と関連することが報告された．

一方，p53は放射線や化学物質によってDNAが損傷を受けると発現量が増加し，p21の発現を誘導し[8)9)]，おおくのcyclin/Cdk複合体に結合しキナーゼ活性を抑制することで，G1停止やアポトーシスを誘導することが知られている[8)10)11)]．p53の変異はヒトがんの約50％に認められ，細胞周期関連遺伝子の変異や発現調節の異常は癌の増殖・進展にとって重要であることが示唆されている．

そこで我々は胃癌において，p27，cyclin Eの発現と臨床病理学的因子や予後との関係を明らかにした．また，その臨床応用を考えるうえで，内視鏡的粘膜切除術の適応，胃切除時におけるリンパ節郭清の範囲など臨床上大きな問題となるsm浸潤胃癌のリンパ節転移に対し，これらの因子が有用な指標と成りえるかどうかについて検討した．

対象と方法

1．対象

当科の粘膜癌を除く胃癌切除症例178例を対象とした．男女比は男性118例（66％），女性60例（34％），年

＜2000年1月26日受理＞別刷請求先：香川　佳寛
〒734-8553　広島市南区霞1―2―3　広島大学原爆放射能医学研究所腫瘍外科

Table 1　Relationship between clinicopathological parameters and 27^{kip1} expression in gastric carcinomas

			$p27^{kip1}$ expression		
		Total	High	Low	p
Histology	Diff.	110	50（45%）	60（56%）	＜0.0001
	Undiff.	68	9（13%）	59（87%）	
Depth	sm	69	36（52%）	33（48%）	＜0.0001
	mp	28	8（29%）	20（71%）	
	ss	36	11（31%）	25（69%）	
	se	28	3（11%）	25（89%）	
	si	17	1（6%）	16（94%）	
n	（－）	82	31（38%）	51（62%）	0.2223
	（＋）	96	28（29%）	68（71%）	
stage	Ⅰ	88	41（47%）	47（53%）	0.0021
	Ⅱ	24	6（25%）	18（75%）	
	Ⅲ	40	8（20%）	32（80%）	
	Ⅳ	26	4（15%）	22（85%）	
IFN	α	35	17（49%）	18（51%）	0.0061
	β	74	27（36%）	47（64%）	
	γ	64	12（19%）	52（81%）	
Total		178	51（29%）	127（71%）	

齢の中央値は66歳（36歳～89歳）であった．組織型では分化型110例（62%），未分化型68例（38%），リンパ節転移は陽性82例（46%），陰性96例（54%），INFはα35例（20%），β74例（43%），γ64例（37%），またstageはⅠ88例（49%），Ⅱ24例（13%），Ⅲ40例（22%），Ⅳ26例（15%）であった．なお，178例中5例についてはINF不明であった．

このうちsm癌症例は69例で，男女比は男性52例（75%），女性17例（25%），年齢の中央値は66歳（43歳～88歳）で，分化度では分化型56例（81%），未分化型13例（19%），リンパ節転移陽性症例は21例（30%，n1：15例，n2：3例，n3：0例，n4：3例）であった．

2．免疫組織化学染色

すべての切除標本は，10%ホルマリン固定後4μm厚パラフィン包埋切片を作成し，脱パラフィン・クエン酸緩衝液（10mM，pH6.0）内でマイクロウエーブ処理を行った後，DAKO社製SABキットで発色にはDAB（3, 3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride）を使用し免疫組織化学染色を施行した．1次抗体として，p27にはTransduction Laboratories社製モノクローナル抗体，cyclin EにはPharMingen社製モノクローナル抗体，p53にはDAKO社製モノクローナル抗体（DO-7），p21にはPharMingen社製モノクローナル抗体を用いた．各細胞周期調節因子の発現は顕微鏡下に評価し，p27は腫瘍部での染色陽性腫瘍細胞が20%，cyclin Eは50%，p53は30%，p21は5%以上を高発現症例，その他を低発現症例とし，2群に分類して臨床病理学的因子と比較検討した．

3．統計学的検討

各細胞周期調節因子について，その発現の高低と，それぞれ組織型，深達度，リンパ節転移，stageについて相関の有無を統計学的に検討した．有意差の検討にはχ^2検定を用い，$p<0.05$をもって統計学的有意差ありとした．また，予後についてはKaplan-Meier法により生存率を算出し，Log-rank testで有意差検定を行った．なお，記載方式は胃癌取扱い規約第12版[12]に従った．

結　果

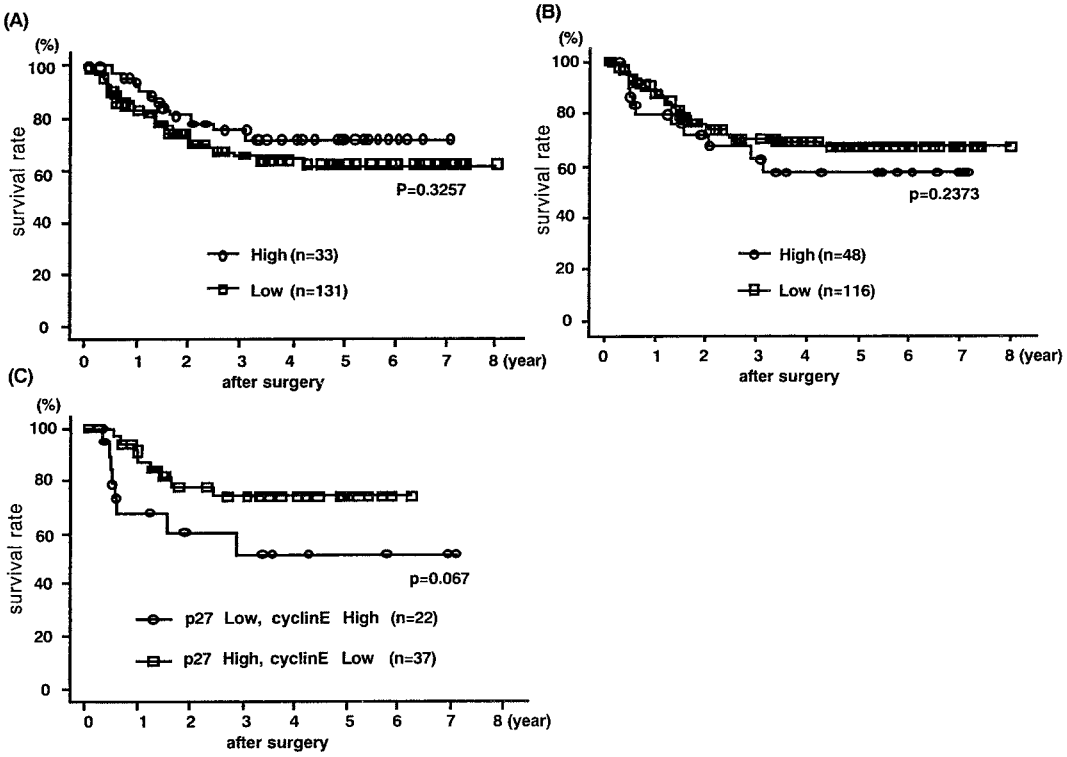
1．胃癌におけるp27，cyclin Eの発現

p27の発現は胃癌細胞では核に種々の程度の発現を認めた．また，癌細胞以外にも炎症細胞，線維芽細胞，正常腺管の底部領域などの細胞核にも程度の差はあれ発現を認めた．p27高発現であった症例は178例中51例（29%）で，癌症例の71%で発現の低下が認められた．これらの発現は腫瘍の先進部では低下する傾向が認められ，腫瘍の深達度が深いほど（$p<0.0001$），また，stageが進むにつれ（$p=0.0021$）発現の低下が認められた．さらに，未分化型腺癌では分化型腺癌と比べ，陽性率は低下していた（$p<0.0001$）．浸潤様式に関しては浸潤型（INFγ）において低下していた（$p=0.0061$）（**Table 1**）．予後について検討したところ発現の高低による有意差は認められなかった（**Fig. 1**）．

次に，cyclin Eの発現について検索した．cyclin Eも癌細胞の核に発現を認めたが，程度の差はあれ炎症細胞，線維芽細胞の核にも発現を認めた．cyclin E高発現を示したものは178例中40例（22%）で，リンパ節転移陽性症例が有意に多く認められたが（$p=0.0206$），予後については発現の高低による有意差は認められなかった（**Fig. 1**）．その他分化度，stage，深達度との関係は認められなかった（**Table 2**）．

また，p27，cyclin Eの発現を組み合わせてリンパ節転移，予後について検討した．p27低発現・cyclin E高発現症例は28例（16%），p27高発現・cyclin E低発現症例は39例（22%）であった．p27発現とcyclin E発現の間には有意な相関は認められなかったが，p27低発現・cyclin E高発現症例においてリンパ節転移が有意に高度であったが（$p=0.0005$）（**Table 3**），予後に有意な

Fig. 1 Survival curve with p27^{Kip1}, cyclin E expression in gastric carcinomas. P, Log-rank test. (A) Survival rate with p27^{Kip1} expression. (B) Survival rate with cyclin E expression. (C) Survival rate with the interaction between p27^{Kip1} and cyclin E expression.



差は認められなかった（**Fig. 1**）.

2. sm 癌における p27，cyclin E，p53，p21の発現

69例の sm 癌に関しては分化度，リンパ節転移，蛋白間の相互作用について検討した.

まず，p27高発現を示した症例は69例中36例（52%）で，胃癌全体の高発現率（29%）より高率であった. p27高発現の症例は，高分化な症例が多く認められた（p=0.0032）が，リンパ節転移との関連を検索すると，転移陽性症例が多く認められた（p=0.0342）.

また，cyclin E の発現について検討すると，高発現のものは69例中19例（28%）で，リンパ節転移陽性のものが多く認められた（p=0.0135）.

一方，p53，p21の発現について検索すると，p53は癌細胞の核に発現を認め，p21は癌細胞では核に，一部の正常腺管では基底層の細胞質に顆粒状に発現を認めた. p53高発現の症例は69例中32例（46%）で，pap を除く分化型症例での発現が高率（55%）であったが，pap では11%と未分化型症例の38%よりも発現率が低かった（p=0.0042）. また，リンパ節転移との関連は認められなかった. 一方，p21高発現症例は69例中15例（22%）で，分化度との関連は認められなかったが，リンパ節転移陽性症例で高発現の傾向が認められた（p=0.0538）. p53と p21の発現の間には関連性は認めなかった（**Table 4**）.

考　察

本研究では，胃癌における p27，cyclin E の発現の意義を検討し，p53，p21の発現も同時に検討することで sm 浸潤胃癌のリンパ節転移予測の可能性について検討した.

胃癌における細胞周期調節因子の発現と臨床病理学的因子の比較検討は多数報告されている. p53に関する報告では，免疫組織学的に発現が認められるものは野生型と変異型の分解消失時間の差により変異型と考えられており，その変異型 p53の発現がリンパ節転移

Table 2　Relationship between clinicopathological parameters and cyclinE expression in gastric carcinomas

			cyclinE expression		
		Total	High	Low	p
Histology	Diff.	110	28 (25%)	82 (75%)	0.2253
	Undiff.	68	12 (18%)	56 (82%)	
Depth	sm	69	19 (28%)	50 (72%)	0.7405
	mp	28	6 (21%)	22 (79%)	
	ss	36	6 (17%)	30 (83%)	
	se	28	6 (21%)	22 (79%)	
	si	17	3 (18%)	14 (82%)	
n	(−)	82	12 (15%)	70 (85%)	0.0206
	(+)	96	28 (29%)	68 (71%)	
stage	Ⅰ	88	18 (20%)	70 (80%)	0.9306
	Ⅱ	24	6 (25%)	18 (75%)	
	Ⅲ	40	10 (30%)	30 (75%)	
	Ⅳ	26	4 (17%)	20 (83%)	
IFN	α	35	13 (37%)	22 (63%)	0.0367
	β	74	12 (16%)	62 (84%)	
	γ	64	12 (19%)	52 (81%)	
Total		178	51 (29%)	127 (71%)	

Table 3　Interaction between $p27^{kip1}$ and cyclinE in gastric carcinomas

		$p27^{kip1}$ and cyclinE expression			
		Total	LH[1)]	HL[2)]	p
n	(−)	31	6 (19%)	25 (81%)	0.0005
	(+)	36	22 (61%)	14 (39%)	
Total		67	28 (42%)	39 (58%)	

1) LH, low expression of $p27^{kip1}$ and high expression of cyclinE. 2) HL, high expression of $p27^{kip1}$ and low expression of cyclinE

に関係があったとの報告[13)]もあれば，全く関係が無かったとの報告[14)]もある，また，p27発現とヒト癌の臨床病理学的因子との比較の報告では，乳癌では予後との関係が[2)4)6)]，大腸癌では Loda[7)]らが p27の発現減弱は蛋白転写後の減少であり生存率の低下と相関することを報告した．また，安井ら[5)]は胃癌においては組織型，深達度，進行度，リンパ節転移など悪性度と有意な相関があり，さらに cyclin E の発現と逆相関が認められることを報告した．cyclin E に関しては Akama ら[15)]が遺伝子増幅と発現増強が胃癌悪性度と関連することを報告した．しかし，現在までに症例を sm 胃癌に限定し詳細に検討した報告はない．

Table 4　Relationship between the expression of cell cycle regulators and histology and lymph node metastasis in gastric carcinomas with sm invasion

a) $p27^{kip1}$

			$p27^{kip1}$ expression		
		Total	High	Low	p
Histology	Diff.	56	34 (61%)	22 (39%)	0.0032
	Undiff.	13	2 (15%)	11 (85%)	
Lymph node metastasis	(−)	48	21 (44%)	27 (56%)	0.0342
	(+)	21	15 (71%)	6 (29%)	
Total		69	36 (52%)	33 (48%)	

b) cyclinE

			cyclinE expression		
		Total	High	Low	p
Histology	Diff.	56	17 (30%)	39 (70%)	0.4912
	Undiff.	13	2 (15%)	11 (85%)	
Lymph node metastasis	(−)	48	9 (19%)	39 (81%)	0.0135
	(+)	21	10 (48%)	11 (52%)	
Total		69	19 (28%)	50 (72%)	

c) p53

Total			p53 expression		
			High	Low	p
Histology	pap	9	1 (11%)	8 (89%)	0.0042
	por1, sig	13	5 (38%)	8 (62%)	
	tub1,2	47	26 (55%)	21 (45%)	
Lymph node metastasis	(−)	48	22 (46%)	26 (54%)	0.8911
	(+)	21	10 (48%)	11 (52%)	
Total		69	32 (46%)	38 (54%)	

d) $p21^{WAF1}$

Total			$p21^{WAF1}$ expression		
			High	Low	p
Histology	Diff.	56	13 (23%)	43 (77%)	0.7183 *
	Undiff.	13	2 (15%)	11 (85%)	
Lymph node metastasis	(−)	48	7 (15%)	41 (85%)	0.0538 *
	(+)	21	8 (38%)	13 (62%)	
Total		69	15 (22%)	54 (78%)	

まず，全胃癌症例を対象として p27について検討すると，発現低下と深達度，リンパ節転移など悪性度の指標との相関が認められた．対象を sm 胃癌を除く mp 以深の胃癌に対象を限定しても，同様の結果であり，おおよそ諸家の報告と一致していたが，p27と cyclin

Eの相互関係については関連を認めなかったことが異なっていた．

cyclin Eはリンパ節転移陽性症例において発現の増強が認められた．*cyclin E* 遺伝子の増幅とリンパ節転移に関して，Akamaら[15]は胃癌の15.6%に *cyclin E* 遺伝子の増幅が認められ，リンパ節転移と関連していたと報告している．今回はcyclin E蛋白の発現の検討であるが，一般的に遺伝子増幅とそのコードする蛋白の高発現とは関係しているといわれており，cyclin E高発現がリンパ節転移と関連する可能性が高いと考えられた．

p27とcyclin Eの発現を組み合わせて検討すると，理論的にはp27低発現，cyclin E高発現症例で細胞周期の回転が促進され，悪性度が増加すると考えられるが，今回の検討においてもp27低発現，cyclin E高発現症例において有意にリンパ節転移が高率であった．しかし，p27，cyclin Eの発現と予後との関係を検討した結果，発現の違いによる予後の差は認められなかった．p27が深達度・リンパ節転移などと相関し，cyclin Eもリンパ節転移と相関することから，それぞれ発現の違いによる予後の差が認められることが予想されたが，今回の検討では全症例に対するsm胃癌の割合が高かったため予後の差が現れにくかった可能性がある．

次に対象をsm胃癌に限定し，その特徴を検討すると，分化度に関しては同様にp27低発現症例に未分化型が多く認められ，p27発現と細胞分化の間の密接な関係が推察された．また，高分化な症例で変異型p53が高率に発現していた結果を考えると，p27発現の方が細胞分化に関してより強く作用している可能性がある．ここで興味深いのはpapでの変異型p53の発現で，tub1・2の55%と比較してわずか11%の症例で高発現であった．これが生物学的違いを意味するかどうかは不明である．

次にsm胃癌のリンパ節転移について検討してみると，転移陽性症例ではp27，cyclin E，p21が高発現であり，cyclin E高発現とリンパ節転移との関連が認められた．しかしながら，細胞増殖抑制因子であるp27，p21もリンパ節転移陽性症例で高発現していた．Yasuiら[16]のp21は増殖抑制因子でありながら悪性度の高い症例において高発現であったと報告しており，今回のp27，p21の理論的には矛盾した発現は，cyclin Eつまり細胞増殖促進因子の高発現に相対する増殖抑制因子のfeedbackによる可能性が示唆された．今回対象とした症例が，全胃癌で分化型62%，sm胃癌で分化型81%と分化型偏在傾向の可能性もあるが，sm胃癌症例を，分化型・未分化型に分けて検討しても，いずれもリンパ節転移陽性症例においてp27高発現であったため，分化型偏在傾向による可能性は低いと思われる．この正・負の細胞周期調節因子間のfeedbackは種々の細胞株での研究で証明されている．例えばSgambatoら[17]はHC11（non-transformed mouse mammary epitherial cell line）にcyclin E cDNAを過剰発現させるとp27が誘導され細胞増殖を抑制し，Hanら[18]はHC11にcyclin D1 cDNAを過剰発現させるとp27が誘導されることを報告している．また，Kitaharaら[19]は食道癌細胞株でcyclin D1蛋白の過剰発現がある株はp27蛋白の過剰発現が認められ，Chenら[20]はp21によりcyclin D1が誘導されることを報告した．また，逆にArberら[21]は大腸癌細胞株にアンチセンスcyclin D1 cDNAを発現させるとcyclin D1の発現が減少し，また，p27の発現も減少したと報告した．今回の結果は細胞株での結果が原発性のヒト癌についても成立する可能性があることを示唆するものであると考えられる．またsm胃癌のp27，cyclin E発現別の予後については，基本的にsm胃癌の５年生存率が90%以上であることから，今回は検討を行っていない．

以上，胃癌全体を対象とするとp27は分化度，深達度，リンパ節転移，進行度などの悪性度と非常によく相関し興味深い結果を示すが，sm浸潤胃癌のリンパ節転移を予測するために対象を限定して検討すると，各調節因子による細胞周期の制御は複雑に絡み合い，必ずしも理論どうりの結果とはならないことがわかった．細胞周期調節因子の間にはfeedback機構が備わっており，１つの因子でのみの検討では不十分であり，さらには，細胞周期調節因子のみの検討ではリンパ節転移をはじめとした癌の生物学的特性を明らかにすることは難しいと考えられた．今後，細胞接着因子，血管増生因子などの検討をすすめ，これらを総合して多角的に判断していくことにより，癌の悪性度の指標と成りえる因子を明らかに出来ることを期待している．

なお，本研究の主旨は第52回日本消化器外科学会総会（平成10年７月）において発表した．

文　献

1）Polyak K, Lee M-H, Erdjument-Bromage H et al：Cloning of $p27^{Kip1}$, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals. Cell **78**：59―66, 1994

2) Porter PL, Malone KE, Heagerty PJ et al：Expression of cell-cycle regulators $p27^{Kip1}$ and cyclin E alone and in combination, correlate with suvival in young breast cancer patients. Nat Med **2**：222—225, 1997
3) Toyoshima H, Hunter T：p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-cdk protein kinase activity, is related to p21. Cell **78**：67—74, 1994
4) Tan P, Cady B, Wanner M et al：The cell cycle inhibitor p 27 is an independent prognostic marker in small ($T_{1a,b}$) invasive breast carcinomas. Cancer Res **57**：1259—1263, 1997
5) Yasui W, Kudo Y, Semba S et al：Reduced expression of cyclin-dependent kinase $p27^{Kip1}$ is associated with advanced stage and invasiveness of gastric carcinomas. Jpn J Cancer Res **88**：625—629, 1997
6) Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung YC et al：Decreased levels of the cell-cycle inhibitor $p27^{Kip1}$ protein：prognostic implications in primary breast cancer. Nat Med **2**：227—230, 1997
7) Loda M, Cukor B, Tam SW et al：Increased proteasome-dependent degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carciomas. Nat Med **2**：231—234, 1997
8) Guillot C, Falette N, Paperin M-P et al：$p21^{WAF1/CIP1}$ reponse to genotoxic agents in wild-type TP53 expressing breast primary tumors. Oncogene **14**：45—52, 1997
9) El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE et al：WAF1, a potential mediator or p53 tumor supression. Cell **75**：817—825, 1993
10) Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER et al：Supression of human colorectal carcioma cell growth by wild-type p53. Science **249**：912—915, 1990
11) Lowe SW, Ruley HE, Jacks T et al：p53 independent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. Cell **74**：957—967, 1993
12) 胃癌研究会：胃癌取扱い規約．改訂12版．金原出版，東京，1993
13) Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S et al：Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. Br J Cancer **67**：859—862, 1992
14) Gabbert HE, Muller W, Schniders A et al：The relationship of p53 expression to the prognosis of 418 patients with gastric carcioma. Cancer **76**：720—726, 1995
15) Akama Y, Yasui W, Yokzaki H et al：Frequent amplification of the cyclin E gene in human gastric carciomas. Jps J Cancer Res **86**：617—621, 1995
16) Yasui W, Akama Y, Kuniyasu H et al：Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p $21^{WAF1/CIP1}$ in non-neoplastic mucosa and neoplasia of the stomach. J Pathol **180**：122—128, 1996
17) Sgambato A, Doki Y, Schieren I et al：Effects of cyclin E overexpression on cell growth and response to transforming growth factor β depend on cell context and $p27^{Kip1}$ expression. Cell Growth Differ **8**：393—405, 1997
18) Han E. K-H, Begeman M, Sgambato A et al：Increased expression of cyclin D1 in murine mammary epitheial cell line induces $p27^{Kip1}$, inhibits growth, and enhances apoptosis. Cell Growth Differ **7**：699—710, 1996
19) Kitahara K, Yasui W, Yokozaki H et al：Expression of cyclin D1, CDK4 and $p27^{Kip1}$ is associated with the $p16^{MTS1}$ gene status in human esophageal carcioma cell lines. J Exp Ther Oncol **1**：7—12, 1996
20) Chen X, Bargonetti J, Prives C：p53, through p21 (WAF1/CIP1), induces cyclin D1 synthesis. Cancer Res **55**：4257—4263, 1995
21) Arber N, Doki Y, Han E. K-H et al：Antisense to cyclin D1 inhibits the growth and tumorigenicity of human colon cancer cells. Cancer Res **57**：1569—1574, 1997

The Expression of Cell Cycle Regulators and Malignant Potential of Gastric Carcinomas —especially, Gastric Carcinoma with Submucosal（sm）Invasion—

Yoshihiro Kagawa, Kazuhiro Yoshida, Naoki Nishimoto, Yasuo Yano,
Toshihiro Hirai and Tetsuya Toge
Department of Surgical Oncology, Research Institute for Radiation Biology
and Medicine, Hiroshima University

In this study, we analysed the relationship between the expression of cell cycle regulators and clinicopathological parameters of gastric carciomas. We examined the expression of $p27^{Kip1}$（p27), cyclin E, p53 and $p21^{WAF1}$（p21）in gastric carciomas, especialy in order to predict lymph node metastasis of gastric carciomas with sm invasion. One hundred and seventy eight gastric adenocarcinomas were examined and Immunohistochemical staining was performed with p27, cyclin E monoclonal antibodies. Sixty nine gastric carciomas with sm invasion were also stained with p53, p21 monoclonal antibodies. The relationship between the grade of expression and clinicopathological parameters was examined. Low grade expression of p27 was detected in undifferentiated type, the cases with lymph node metastasis, and advanced stage. Moreover, low grade expression of p27 and high grade expression of cyclin E had a strong correlation with lymph node metastasis. The prognosis of these patients had no correlation with grade of expression of p27 or cyclin E. On the other hand, in gastric carciomas with sm invasion, high grade expression of p27 correlated with differentiation and lymph node metastasis. High grade expression of cyclin E and p21 also showed correlation with lymph node metastasis. Further analysis should be performed in order to predict lymph node metastasis of gastric carcinomas with sm invasion.

Key words：gastric carcioma, submucosal invasion, $p27^{Kip1}$, cell cycle regulator, lymph node metastasis

〔Jpn J Gastroenterol Surg 33：433—439, 2000〕

Reprint requests：Yoshihiro Kagawa　Department of Surgical Oncology, Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University
1-2-3 Kasumi Minami-Ku, Hiroshima, 734-8553 JAPAN