

原 著

Gastrointestinal stromal tumor 12例の免疫組織化学的検討

舞鶴共済病院外科, 金沢社会保険病院外科*

上田 順彦 根塚 秀昭 山本 精一
吉光 裕 磯部 芳彰 竹下八洲男*

Gastrointestinal stromal tumor (GIST) の免疫組織化学的検索の臨床的意義と問題点を明らかにすることを目的として広義の GIST 12例を検討した . 悪性度の判定は腫瘍径と核分裂度により 3 段階に分類した . Grade I の normal cellular type の 3 例は固有筋層と同様の染色態度を示した . その他の 9 例では vimentin と CD34 の染色性は固有筋層と比較して増加した . また , grade I の uncommitted type の 2 例は悪性度が低いことを考慮に入れて判定すると , 免疫染色所見から分化度が低い腫瘍であると考えられた . 一方 , grade II , III の中の combined type の 2 例と α SMA (+) , desmin (+) の smooth muscle type 1 例は分化した細胞を発生母地とした腫瘍と考えられたが , 免疫染色所見のみでは悪性度の判定はできなかった . 以上より GIST の免疫染色所見は悪性度の基準を明確にした上で判定することにより , はじめて臨床的評価が明らかになると考えられた .

緒 言

消化管の紡錘形細胞よりなる間葉系腫瘍は筋原性腫瘍と神経原性腫瘍に分類されているが , hematoxylin eosin (HE) 染色のみで両者を鑑別することは困難である . 近年 , 免疫組織化学的あるいは電子顕微鏡的検索により , 胃腸に発生するこれら間葉系腫瘍を gastrointestinal stromal tumor (以下 , GIST) とし , 新しい概念のもと総括される傾向にある^{1)~3)} . しかしながらこの概念は病理学的検索を主体として提唱された概念であり , 臨床的意義を検討した報告はほとんど見当たらない . 今回 , GIST の免疫組織化学的検索の臨床的意義と問題点を明らかにすることを目的として検討したので報告する .

対象および方法

対象は当科で切除された広義の GIST¹⁾ 症例 12 例である . これらの症例を免疫染色の結果に基づき Rosai¹⁾ の分類にしたがって分類し , 臨床病理学的に検討した . 病理組織学的な悪性度の判定は , 従来より平滑筋腫瘍の判定基準^{1)~3)} として汎用されている因子のうち , 肉眼的腫瘍径と核分裂度を用いて 3 段階に分類した . このうち腫瘍径は 5cm を基準値とした . ただし近接した範囲に 4cm , 4cm , 1cm の腫瘍が多発した症例は腫瘍

径を合計して考えた . 核分裂度は 400 倍視野下 10 視野での核分裂数を合計し , この操作を 5 回行い , その中の最大数を核分裂度とし , 1 を基準とした . これらの因子の組み合わせにより悪性度の判定基準を設定した . Grade I は腫瘍径 \leq 5cm かつ核分裂度 \leq 1 , grade II は腫瘍径 $>$ 5cm または核分裂度 \geq 2 , grade III は腫瘍径 $>$ 5cm かつ核分裂度 \geq 2 とした . また細胞密度は固有筋層とほぼ同等の細胞密度のものを normal cellular type , それより細胞密度が増加しているものを hypercellular type と分類した . HE 染色における核異型は二階堂⁴⁾ の判定基準を用い , 正常平滑筋細胞とほぼ同様な核を軽度異型 , 多少なりとも核が腫大しくロマチンの凝集傾向が見られるものを中等度異型 , 点状 ~ 明瞭な赤い核小体が見られるものを高度異型とした (Fig. 1) .

免疫染色は切除標本の 10% 中性緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより , 4 μ m の薄切連続切片を作製し脱パラフィン後 , Ultra Tech HRP キット (IM-MUNOTECH 社) を用いて Streptavidin-Biotin (SAB) 法で染色した . すなわち 0.3% H₂O₂ 加メタノールにて 10 分間反応させ , 内因性 peroxidase 阻止を行った後 , 0.05M トリス塩酸塩 (TBS) 緩衝液 (pH 7.6) で 5 分間 \times 2 回洗浄し , 1 次抗体と室温で 1 時間反応させた . 1 次抗体は vimentin (V9 : DAKO 社) , neuron specific enolase (以下 , NSE) (BBA/NC/VI H14 : DAKO 社) ,

Fig. 1 Pathological findings (HE, x 100)

- A : The tumor is judged grade I with mild dysplasia and normal cellularity (case ②)
- B : The tumor is judged grade III with severe dysplasia and hypercellularity (case ⑫)

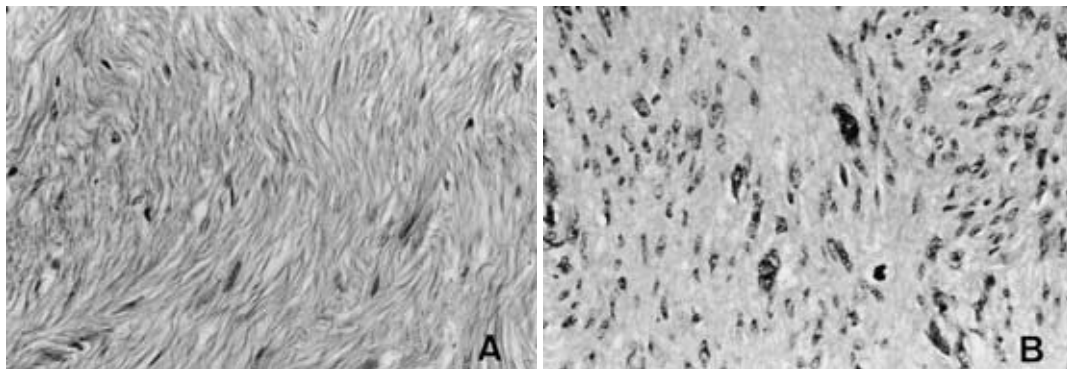


Table 1 Clinical figures

Grade	No.	Age/Sex	Organ	Concomitant lesions	Method of resection
I	①	57/M	Rectum	Rectal ca	Excision of rectum
	②	67/M	Esophagus	Esophageal ca	Resection of esophagus
	③	48/F	Rectum		EP
	④	60/F	Esophagus		EP
	⑤	74/F	Stomach(body)	Colon ca	Local resection of stomach
	⑥	56/F	Stomach(body)		EP
	⑦	82/M	Stomach(body)	Gastric ca	Gastrectomy
	⑧	71/M	Stomach(body)	Gastric ca	Gastrectomy
II	⑨	68/M	Stomach(body)	Gastric ca	Gastrectomy
	⑩	77/F	Stomach(body)	Ovarian ca	Local resection of stomach
III	⑪	49/M	Jejunum(multiple)		Resection of jejunum
	⑫	46/F	Stomach(cardia)		Local resection of stomach + PS

M : male, F : female, ca : cancer, EP : endoscopic polypectomy, PS : pancreatosplenectomy

S 100 (Z311 : IMMUNOTECH 社), alpha smooth muscle actin(以下, α-SMA)(1A4 : DAKO 社), desmin(D33 : DAKO 社), CD34(QEnd/10 : Novocastra 社)を用いた . 各 1 次抗体と反応させた後, biotin 標識 2 次抗体を室温で30分間反応させた . さらに peroxidase-conjugate streptavidin にて30分間室温で反応させた後, diaminobezidine(DAB)にて発色させ, 核染色後, 封入, 検鏡した . 同時に陽性, 陰性対照を

実施した . 染色程度は 4 段階に判定し, 腫瘍細胞が全く染色されないものを(-), < 10%を1(+), 10 ~ 50%を2(+), 50%を3(+)とした . また染色態度の基準として固有筋層を用いた .

成 績

1 . 臨床像

Grade I は 8 例, II は 2 例, III は 2 例であった . 発生部位は grade I は胃(体部) 4 例, 直腸 2 例, 食道 2 例,

Table 2 Pathological findings reviewed from HE staining

Grade	No.	Tumor size (mm)	Tumor cell	Dysplasia	Mitotic rate (/10HPF)	Cellularity	Diagnosis(HE)
I	①	4 × 4 × 2	Spindled	Mild	0	Normal	Leiomyoma
	②	14 × 10 × 10	Spindled	Mild	0	Normal	Leiomyoma
	③	8 × 7	Spindled	Mild	0	Normal	Leiomyoma
	④	10 × 8	Spindled	Mild	0	Hyper	Leiomyoma
	⑤	10 × 12 × 8	Spindled + Epithelioid	Mild	1	Hyper	Leiomyoma
	⑥	15 × 15	Spindled *	Mild	1	Hyper	Schwannoma
	⑦	7 × 7	Spindled	Mild	0	Hyper	Leiomyoma
	⑧	25 × 25 × 20	Spindled	Moderate	1	Hyper	Leiomyoma
II	⑨	70 × 55 × 70	Spindled *	Mild	1	Hyper	Schwannoma
	⑩	60 × 50 × 40	Spindled	Moderate	1	Hyper	Leiomyoma
III	⑪	40 × 30 × 35 40 × 30 × 35 10 × 10 × 5	Spindled	Severe	3	Normal	Leiomyosarcoma
	⑫	50 × 60 × 55	Spindled	Severe	2	Hyper	Leiomyosarcoma(s)

HE : hematoxylin eosin, * : palisading pattern, (s) : suspect

II は胃 (体部) 2 例 , III は空腸 1 例 , 胃 (弓隆部) 1 例であった . 合併病変および切除方法については , grade I のうち 4 例 (①②⑦⑧) は合併する癌の切除範囲内にあり , 大腸癌に合併した胃の GIST の 1 例 (⑤) に対しては胃の局所切除を施行した . また 3 例 (③④⑥) は内視鏡の切除であった . Grade II のうち進行胃癌に合併した胃の 70mm 大の GIST (⑨) に対しては両腫瘍が切除範囲内に入るように胃切除を施行し , 卵巣癌に合併した胃の GIST (⑩) に対しては胃の局所切除を施行した . grade III のうち空腸の多発性 GIST (⑪) に対しては空腸切除 , 胃弓隆部の GIST (⑫) に対しては胃の局所切除と膵脾合併切除を施行した . このうち症例⑪は空腸間膜から上腸間膜動脈周囲に至る浸潤部の断端陽性で非治癒切除となった . いずれも系統的リンパ節郭清は行っていないが , 術中肉眼的リンパ節転移 , 肝転移は認めていない . 予後は症例⑪は再燃疑いにて現在経過観察中である . 症例⑨は合併した胃癌により死亡したが , その他の症例は再発無く生存中である (Table 1) .

2. HE 染色による病理組織所見

腫瘍径は grade I は 11.9 ± 6.4 mm , II は 70 mm と 60 mm , III のうち症例⑪は 40 mm が 2 病変と 10 mm が 1 病変であり , 症例⑫は 60 mm であったが , 腫瘍細胞はいずれも紡錘型の細胞からなるが , grade I の 1 例と II

の 1 例は palisading 配列を示した . また , grade I の 1 例 (⑤) は epithelioid cell も認めた . 核異型は grade I では軽度 7 例 , 中等度 1 例 , II は軽度 1 例 , 中等度 1 例 , III は高度 2 例であった . 核分裂度は grade I は 0 が 5 例 , 1 が 3 例 , II は 1 が 2 例 , III は 2 が 1 例 , 3 が 1 例であった . 細胞密度は grade I では normal が 3 例 , hyper が 5 例 , II はそれぞれ 0 例 , 2 例 , grade III は 1 例 , 1 例であった . HE 染色による診断は grade I では palisading 配列を示した症例 (⑥) は Schwannoma であったが , 他の 7 例は leiomyoma であった . Grade II は Schwannoma 1 例 , leiomyoma 1 例であった . grade III のうち 1 例 (⑪) は多発で周囲組織への浸潤を認めたため leiomyosarcoma と診断し , 1 例 (⑫) の腫瘍径および核異型より leiomyosarcoma 疑いであった (Table 2) .

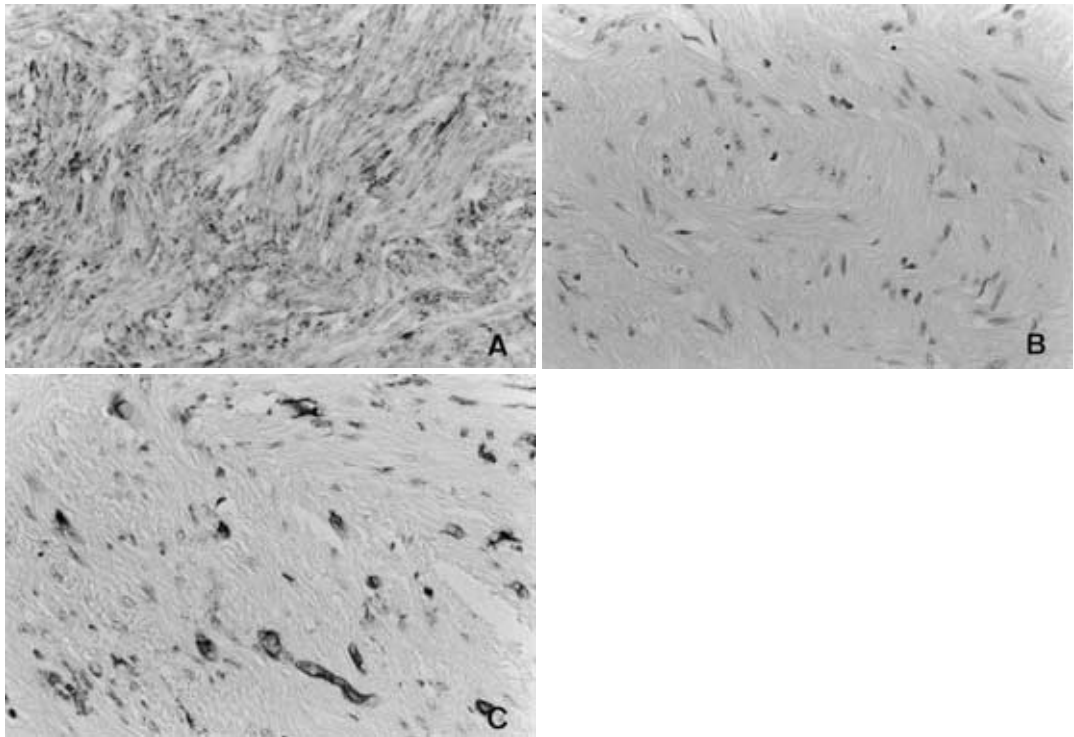
3. 免疫染色による病理組織所見

固有筋層の染色態度は vimentin (+) , NSE (-) , S 100 (-) , α SMA3 (+) , desmin3 (+) , CD34 1 (+) であった . Grade I の normal cellular type の 3 例 (①②③) は固有筋層と同じ染色態度を示し , smooth muscle type と診断された (Fig. 2) . Grade I の hypercellular type の 5 例および grade II , III の症例では vimentin と CD34 の染色性は 2 (+) または 3 (+) と固有筋層と比較して増加した . また , grade I の hyper-

Fig. 2 Immunohistochemical findings (× 100 μ case ②)

A : desmin stain, B : S 100 stain, C : vimentin stain.

The tumor of smooth muscle type of grade I with normal cellularity has diffusely positive reaction for desmin, negative for S 100 and a little positive for vimentin.



cellular type のうち smooth muscle type は 2 例あるが、うち 1 例(⑤)は desmin(-), α SMA 3(+)であった。Neural type の 1 例(⑥)も S 100(-), NSE 3(+)であった。また、uncommitted type は 2 例認められた (Fig. 3)。Grade II のうち 1 例(⑨)は S 100(-), NSE 3(+)の neural type, 1 例(⑩)は NSE, S 100, α SMA, desmin のすべてが陽性の combined type であった。Grade III のうち 1 例(⑪)は desmin 3(+), α SMA 3(+)の smooth muscle type, 1 例(⑫)は combined type であった (Table 3)。

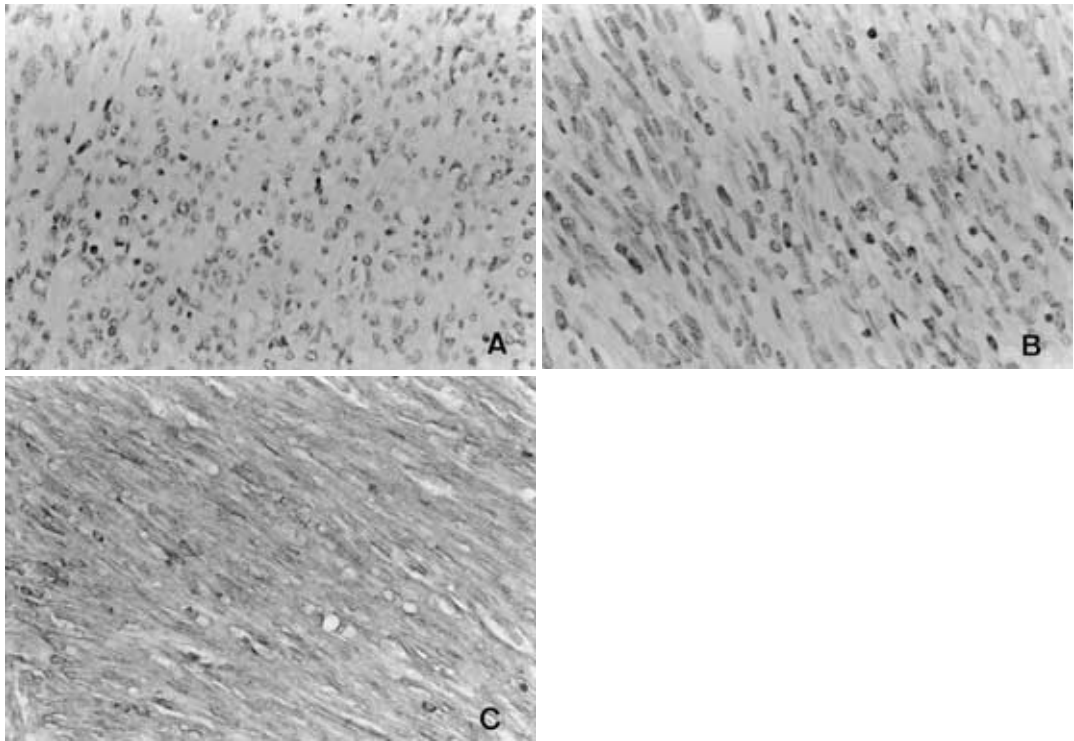
考 察

Rosai¹⁾は消化管の間葉系腫瘍を総括して広義の GIST とし、4 つの phenotype に分類している。すなわち①平滑筋細胞への分化を示すもの (smooth muscle type), ②神経系細胞への分化を示すもの (neural type), ③平滑筋細胞と神経系細胞の両方への分化を示すもの (combined smooth muscle-neural type), ④い

ずれの分化もみられないもの (uncommitted type, 狭義の GIST) である。しかしながら現時点では GIST の概念は研究者間で必ずしも一致していない^{2,3)}。

免疫染色では GIST のうち smooth muscle type は平滑筋マーカーの SMA や desmin が陽性を示し、neural type は神経系マーカーの S 100 や NSE が陽性を示し、また uncommitted type では vimentin や CD34 のみが陽性を示すとされている¹⁾⁻³⁾。しかしながら個々の症例をみると染色態度は様々である。平滑筋細胞は発達の過程で最初は vimentin のみを発現し、それから vimentin と desmin をともに発現し、成熟すると desmin のみを発現するとされている⁵⁾。一方、松田ら⁶⁾の胃筋原性腫瘍の病理学的検討では、細胞増殖能の高いものや細胞異型度が高いものほど desmin や muscle specific actin (MSA) の陽性率や陽性程度が低下し、逆に vimentin の陽性率や程度が高くなるが、高異型度平滑筋肉腫では vimentin の発現も低下すると報

Fig. 3 Immunohistochemical findings (× 100) (case ⑧)

A : α SMA stain, B : S 100 stain, C : CD34 stain.The tumor of uncommitted type of grade I with hypercellularity has negative reaction for α SMA and S 100, and diffusely positive for CD34.

告されている。また S 100は神経鞘細胞系腫瘍に分布しているが、悪性化に伴い蛋白量が低下するとされている⁷⁾。一方、CD34は骨髄幹細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞または一定の分化を示さない未熟間葉系細胞などに発現するとされている⁸⁾。これらの報告により免疫染色結果は腫瘍構成細胞の分化度(成熟度)と悪性度の2つの因子を同時に表現していることを考慮に入れて判定する必要があると考えられた。

自験例のうち grade I で normal cellular type の3例は、悪性度および細胞増殖能ともに低いと考えられ、また vimentin や CD34を含めて固有筋層と同様の染色態度を示した。これらの症例は三上⁹⁾が述べているように、正常平滑筋細胞に近い性質を示し腫瘍の性格は乏しいと考えられた。その他の9例では vimentin と CD34の染色性が2(+)または3(+)となり、HE染色所見のみでなく、免疫染色所見からも正常平滑筋細胞と比較して腫瘍の性格を有すると判断された。

個々の症例では grade I の hypercellular type では smooth muscle type でも desmin(-), α SMA3(+) や neural type も grade I, II の hypercellular type では S 100(-), NSE3(+)を示し、細胞増殖能の増加あるいは腫瘍の性格を有していることが免疫染色所見からも示唆された。しかしながら grade I の uncommitted type の2例は、免疫染色のみの判定では分化度が低い(悪性度に関しては判定不能)あるいは分化度は高いが悪性度も極めて高いかのいずれかを測定できない。これに今回設定した悪性度の判定基準が grade I で悪性度が低いことを考慮に入れて判定すると、免疫染色所見は腫瘍の分化度が低いことを示していると考えられた。また grade II, III 中の多分化能を示す combined type 2例と固有筋層と同様の α SMA3(+), desmin3(+) の smooth muscle type 1例は分化した細胞を発生母地とした腫瘍と考えられた。これらの症例は grade I の症例に比べ悪性度が高

Table 3 Pathological findings reviewed from immunohistochemical staining

Grade	No.	vimentin	NSE	S-100	α -SMA	desmin	CD34	Diagnosis (Immunohistochemical)
I	①	1(+)	(-)	(-)	3(+)	3(+)	1(+)	Smooth muscle type
	②	1(+)	(-)	(-)	3(+)	3(+)	1(+)	Smooth muscle type
	③	1(+)	(-)	(-)	3(+)	3(+)	1(+)	Smooth muscle type
	④	2(+)	(-)	(-)	3(+)	3(+)	1(+)	Smooth muscle type
	⑤	3(+)	(-)	(-)	3(+)	(-)	2(+)	Smooth muscle type, epithelioid variant
	⑥	3(+)	3(+)	(-)	(-)	(-)	3(+)	Neural type
	⑦	3(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	3(+)	Uncommitted type
	⑧	3(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	3(+)	Uncommitted type
II	⑨	3(+)	3(+)	(-)	(-)	(-)	3(+)	Neural type
	⑩	3(+)	2(+)	1(+)	2(+)	2(+)	3(+)	Combined type
III	⑪	3(+)	(-)	(-)	3(+)	3(+)	2(+)	Smooth muscle type
	⑫	3(+)	2(+)	1(+)	3(+)	3(+)	1(+)	Combined type

く腫瘍細胞の異型性も強いが、免疫染色所見のみの判定では発生母地は推察できても悪性度の判定はできなかった。すなわち広義のGISTの免疫染色所見の判定のうち、陽性例は発生母地の推測は可能であるが、悪性度に関しては免疫染色のみでは判定できない。一方、陰性例(uncommitted type)では発生母地が未分化間葉系細胞なのか悪性度が高いために陰性化しているのか判定は困難である。以上よりGISTの免疫染色所見は悪性度の基準を明確にした上で判定することにより、はじめて臨床的評価が明らかになると考えられた。

GISTの良悪性の組織学的診断基準はいまだ確立されたものではなく、諸家の報告ではおしなべて平滑筋肉腫の悪性度分類に準じている¹⁾⁻³⁾。すなわち遠隔転移、周囲臓器への浸潤、腫瘍の大きさ、壊死の有無、核異型、核分裂像の出現頻度、細胞密度などの所見をもって良悪性の診断がなされている。とりわけ腫瘍径が5~6cm以上のもの、高倍率10視野で5個以上核分裂像を認める場合は予後不良であるとの報告が多い。しかしながら、核分裂像の判定は客観性に問題があるとの意見もある⁶⁾。今後、GISTの良悪性の組織学的診断基準の作成に際しては、これらHE染色による形態的所見とともに、proliferating cell nuclear antigenやKi67などの増殖活性因子やp53などの癌遺伝子の検討を加え、より客観的な基準を作成していくことが重要であると考えられた。

稿を終えるにあたり、病理標本作製に御協力頂いた当院

検査科病理の山口直則氏、病理組織学的所見を御指導頂いた福井医科大学第1病理の福田 優先生、法木左近先生、今村好章先生に深謝致します。

文 献

- 1) Rosai J: Stromal tumors. Edited by Ackerman's Surgical Pathology. 8th edition. Mosby-Year Book, Inc, St Louis, Chicago, 1996, p645-647
- 2) Ueyama T, Guo K, Hashimoto H et al: A clinicopathologic and immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors. Cancer 69: 947-955, 1992
- 3) Miettinen M, Virolainen M, Rikala MS: Gastrointestinal stromal tumors-Value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. Am J Surg Pathol 19: 207-216, 1995
- 4) 二階堂孝, 山田哲也, 下田忠和ほか: 胃原発平滑筋肉腫における悪性度診断の客観的指標の検索. 胃と腸 30: 1125-1132, 1995
- 5) Tsutsumi Y, Kubo H: Immunohistochemistry of desmin and vimentin in smooth muscle tumors of the digestive tract. Acta Pathol Jpn 38: 455-469, 1988
- 6) 松田圭二, 渡辺伸伸, 西倉 健ほか: 新しい視点から見た胃筋原性腫瘍の病理. 胃と腸 30: 1109-1124, 1995
- 7) Jacque CM, Kujas M, Poreau A et al: GFA and S-100 protein levels as an index for malignancy in human gliomas and neurinomas. J Natl Cancer Inst 62: 479-483, 1979

8) 一安のり子, 多田修治, 神尾多喜浩ほか: 早期胃癌術後の経過観察中に発見された十二指腸原発 malignant gastrointestinal stromal tumor の1例. 日消病会誌 95: 1235-1239, 1998

9) 三上哲夫: 胃の microleiomyoma と gastrointestinal stromal tumor その組織所見, 免疫組織化学的所見と増殖能. お茶の水医誌 44: 9-17, 1996

Immunohistochemical Study of Twelve Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors

Nobuhiko Ueda, Hideaki Nezuka, Seiichi Yamamoto, Yutaka Yoshimitu,
Yoshiaki Isobe and Yasuo Takeshita*

Department of Surgery, Maizuru Kyosai Hospital
Department of Surgery, Kanazawa Social Insurance Hospital*

Twelve patients with gastrointestinal stromal tumors (GIST) in a broad sense, were analyzed to elucidate the clinical significance and problems of immunohistochemical study. Malignant potentials were classified into three degrees by tumor size and mitotic rate. Three patients with the normal cellular type, grade I, showed the same staining as the proper muscle. The other 9 patients had increased staining of vimentin and CD34 in comparison with the proper muscle. Two patients with the uncommitted type, grade I, were judged to have immature tumors considering the low malignant potential. Two patients with the combined type and one with the smooth muscle type with α -SMA 3(+) and desmin 3(+) grade II or III, were judged to have mature tumors. However, malignant potential could not be judged from immunohistochemical findings alone. The above results indicate that clinical evaluation of immunohistochemical findings of GIST can initially be clarified by making an assessment with definite grading of malignant potential.

Key words : gastrointestinal stromal tumor, immunohistochemical staining of GIST, classification of GIST, differentiation of GIST, malignant potential of GIST

[Jpn J Gastroenterol Surg 33 : 1737-1743, 2000]

Reprint requests : Nobuhiko Ueda Department of Surgery, Maizuru Kyosai Hospital
1035 Hama, Aza, Maizuru, 625-8585 JAPAN
