

原 著

腫瘍関連抗原 CA72-4 の組織内発現からみた大腸癌患者の予後・再発形式の検討～CEA 免疫組織化学染色と比較して～

河北総合病院外科, 同 病理¹⁾, 杏林大学消化器・一般外科²⁾

服部 正一 洲之内廣紀 町並 陸生¹⁾ 森 正樹
村田祐二郎 坂東 道哉 正木 忠彦²⁾ 跡見 裕²⁾

目的: 大腸癌における CA72-4 組織内発現と予後・再発規定因子としての有用性を明らかにする。**対象と方法:** 大腸癌手術症例 211 例を対象に, CEA および CA72-4 免疫組織化学染色を施行した。CEA 染色パターンは diffuse cytoplasmic pattern (DC) と apicoluminal pattern (AL) に分類し, CA72-4 染色パターンは陽性群と陰性群に分類して腫瘍全体 (CEA tumor/CA72-4 (tumor) cyto) と腫瘍先進部 (CEA margin/CA72-4 (margin) cyto) で染色判定を行った。CA72-4 では, さらに腫瘍組織内の間質または腫瘍内粘液結節を腫瘍細胞外 (CA72-4ex) と定義して染色判定を行った。**結果:** 多変量解析による累積生存では CA72-4ex 分類が最も高いハザード比を示し, 陽性群が陰性群に比べ有意に予後不良であった。染色パターン分類による再発後生存では, CA72-4ex 陽性群だけが陰性群に比べ有意に予後不良であった ($p=0.0063$)。再発形式では CA72-4 (tumor) cyto と CA72-4ex 陽性群に非血行性再発を含む症例が多く, 有意差を認められた ($p=0.0232$, $p=0.0221$)。**考察:** CA72-4ex 陽性例は非血行性再発を伴いやすく予後不良であり, 術後再発時の治療方針決定に有用な指標となる可能性が示唆された。

緒 言

現在, 大腸癌症例における肝転移や肺転移に対しては, 外科的治療および化学療法で良好なコントロールが得られる症例が多くなってきている。しかし, 腹膜播種や大動脈周囲リンパ節転移などの非血行性転移を来した症例はいまだに予後不良である。大腸癌肝転移症例に対する初回肝切除後の再発形式についても小林ら¹⁾の報告では, 肝再発または肺再発を除く他臓器再発は約 42% (55 例中 23 例) であったと報告しており, 他臓器再発を来す症例も比較的多く認められる。このため, 大腸癌再発症例において, 再発形式を予知する指標が得られれば再発時の治療方針決定に有用なものになると考えられる。

大腸癌症例では, 癌胎児性抗原 (carcinoembryonic antigen; 以下, CEA と略記) が, 手術や化学

療法などの治療効果判定, 術後再発や転移の予知などに広く有用性が認められている。また, CEA は immunoglobulin super gene family に属する糖蛋白で接着因子としての肝転移誘導因子²⁾³⁾と知られており, さらに CEA 陽性癌細胞は肝転移を引き起こしやすいという報告⁴⁾もなされている。

CA72-4 は 1981 年 Colcher ら⁵⁾によって作製されたモノクローナル抗体 B72.3 と CC49 によって認識される腫瘍関連抗原であるが, 大腸癌症例の腫瘍組織内発現および予後との関連について検討した報告は, Pub Med および JMEDPlus で「CA72-4」をキーワードとして 2004 年 12 月まで検索した範囲ではみられない。そこで, 大腸癌症例に広く有用性が認められている CEA と比較して, CA72-4 の予後規定因子としての意義を明らかにする目的で以下の検討を行った。

対象と方法

1. 対象

1996 年 1 月から 2000 年 12 月までに河北総合

<2005 年 5 月 25 日受理> 別刷請求先: 服部 正一
〒166-8588 杉並区阿佐谷北1-7-3 河北総合病院
外科

病院外科で開腹切除された根治度 A・B 単発大腸癌手術症例 224 例のうち他癌死・非癌死を除く 211 例を対象とした。内訳は年齢 37 歳～91 歳(平均 69.6 歳), 男性 115 例, 女性 96 例, 主病変は結腸癌 140 例, 直腸癌 71 例であった。また, 術後 follow up については, 原則として 3 か月ごとに腫瘍マーカー (CEA, CA19-9, CA72-4) を検査し, 3～6 か月ごとに腹部 CT または腹部超音波検査 (US) を施行, 6～12 か月ごとに胸部 X-P 撮影を行い, 術後 1 年～1 年半の間に内視鏡検査を行った。再発の可能性が高い症例では, さらに間隔を短くして検索を行った。

2. 標本作製方法

原発巣切除標本の腫瘍最深部を通過するパラフィン包埋標本から厚さ 3 μ m の連続切片を作製した。また免疫染色パターンの再現性確認のため腫瘍最深部とそれに隣接して切り出したパラフィン包埋標本 1～2 か所の部分でも連続切片を作製した。HE 染色切片で大腸癌取扱い規約⁶⁾に基づく病理組織学的診断を行った後, ENVISION 法 (DakoCytomation, Denmark) にて免疫組織化学染色を行った。脱パラフィン後, 親水化を行い, 95 $^{\circ}$ C, 45 分単純加熱処理 (CA72-4 (B72.3) 染色のみ) にて組織抗原の賦活化を行った。3% 過酸化水素水 5 分間にて内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害した。0.05M トリス緩衝液 (PH7.6) にて洗浄後, 1 次抗体として希釈済み抗ヒト CEA・ウサギポリクローナル抗体 (DakoCytomation, Denmark) および CA72-4 測定時に用いるモノクローナル抗体 B72.3 抗体 (Fujirebio Diagnostics, U.S.A) 希釈倍率 100 倍を薄切片上にそれぞれ添加し, 室温で 60 分間反応させた。0.05M トリス緩衝液にて洗浄後, horseradish peroxidase (HRP) 結合 2 次抗体 (DakoCytomation, Denmark) を添加し, 室温で 60 分間反応させた。3-3' diaminobenzidine (DAB) 基質溶液にて発色させ, ヘマトキシリンで対比染色後, 脱水, 透徹, 封入を行った。

3. 染色判定方法

1) 組織 CEA 染色パターン分類の定義

CEA の組織内局在は, 標本上の腫瘍全体 (以下, CEAtumor と略記) と腫瘍先進部 (以下, CEA-

margin と略記) で, Kim ら⁷⁾の染色分類を参考に下記のごとく染色判定を行った。Apicoluminal pattern (以下, AL と略記): 管腔内分泌物および腫瘍管腔側細胞膜に主として局在するもの (Fig. 1A)。

Diffuse cytoplasmic pattern (以下, DC と略記): 管腔内分泌物と腫瘍管腔側細胞膜も含め腫瘍細胞質内にも diffuse に局在するもの (Fig. 1B)。

腫瘍先進部とは腫瘍細胞が顕微鏡的に浸潤している最深部とし, 局在様式で混在がみられた場合には, 50% 以上占める様式で判定した。

2) 組織 CA72-4 染色パターン分類の定義

CA72-4 の組織内局在は, 管腔内分泌物, 腫瘍細胞膜, 腫瘍細胞質内で主に出現を認め, CEA 染色と同様に標本上の腫瘍全体 (以下, CA72-4 (tumor) cyto と略記) と腫瘍先進部 (以下, CA72-4 (margin) cyto と略記) で染色判定を行った。染色判定については, 川畑⁸⁾が胃癌で腫瘍組織の 10% 以上を陽性としており, 同様の基準で下記のように分類した。

CA72-4 (tumor) cyto (-) または CA72-4 (margin) cyto (-): 管腔内分泌物および腫瘍管腔側細胞膜 (apicoluminal pattern) または腫瘍細胞質内 (diffuse cytoplasmic pattern) のどちらでも明らかに陽性反応を示した腫瘍細胞が 10% 未満のもの (Fig. 1C)。

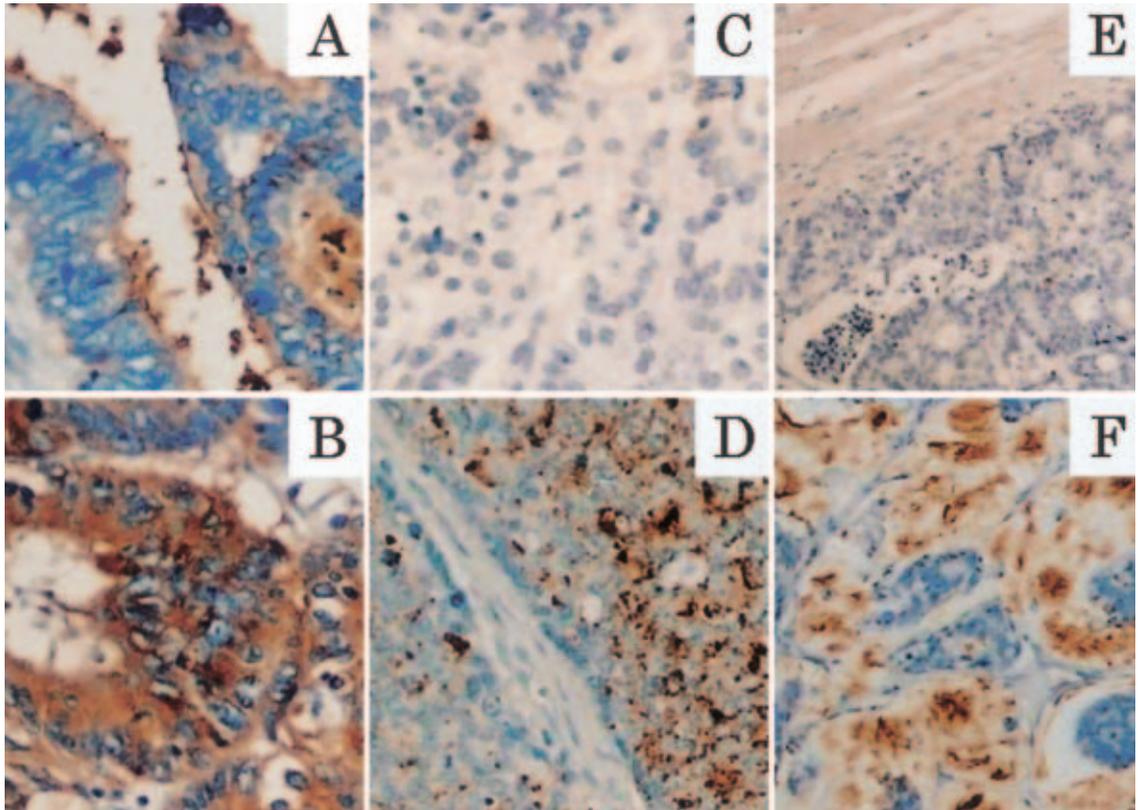
CA72-4 (tumor) cyto (+) または CA72-4 (margin) cyto (+): 陽性反応を示した腫瘍細胞が 10% 以上を占めるもの (Fig. 1D)。

そしてまた, 腫瘍組織内の間質または腫瘍内粘液結節に陽性反応を示す症例もあり, これらを腫瘍細胞外 (以下, CA72-4ex と略記) 陽性例と定義し染色判定を行った。陽性判定については, Sunouchi K ら⁹⁾が CEA の stromal type を 30% 以上で判定しており, CA72-4ex の判定も同様の基準に定義して以下のように分類した。

CA72-4ex (-): 腫瘍組織全体で腫瘍細胞外に陰性または約 30% 未満の陽性反応を示すもの (Fig. 1E)。

CA72-4ex (+): 腫瘍組織全体で腫瘍細胞外に

Fig. 1 Immunohistochemistry of CEA distribution pattern. **A** : Apicoluminal pattern ($\times 100$). CEA is localized along the apical and luminal border. **B** : Diffuse cytoplasmic pattern ($\times 100$). CEA is diffusely expressed in cytoplasm as well as in the cytoplasmic membrane. Immunohistochemistry of CA72-4 distribution pattern. **C** : Negative pattern ; the expression of CA72-4 is completely absent in either the cytoplasm or cytoplasmic membrane ($\times 100$). **D** : Positive pattern ; the expression of CA72-4 is diffusely present in both the cytoplasm and cytoplasmic membrane ($\times 100$). Immunohistochemistry of extracellular CA72-4 distribution pattern. **E** : Negative pattern ; the expression of CA72-4 is completely absent in the extracellular tissue ($\times 40$). **F** : Positive pattern ; the expression of CA72-4 is diffusely present in the extracellular tissue ($\times 40$).



約 30% 以上の陽性反応を示すもの (Fig. 1F).

染色判定については、症例をブラインドとして著者および予後を知らない共著者 1 名で行い、結果は病理医が再確認した。異なった判定のときは最終的に病理医の意見に従って判定した。

4. 術後再発診断および再発形式の分類

術後再発診断は CT, US, MRI などで行い、臨床的に切除可能と判断した症例は second look operation を行った。再発後生存期間は、初回再発診断時からの生存期間で検討した。再発形式については、初回再発と初回再発時不顕性であった再発

を再発形式に含めることを目的に、その後 6 か月以内に認めた再発を再発形式に含めた。そして、肝転移再発・肺転移再発を血行性再発、腹膜播種再発・局所再発・リンパ節再発などを非血行性再発とし、①血行性再発②血行性再発+非血行性再発③非血行性再発に分類して検討した。

5. 統計学的処理

統計学的有意差検定は Fisher の直接確率検定で行い、2 群間の有意差検定には Mann-Whitney U 検定で行った。また、生存曲線は Kaplan-Meier 法で算出し、Logrank test による有意差検定を

Table 1 Clinicopathological findings and immunohistochemical staining patterns of CEA and CA72-4 in patients with colorectal carcinoma

	CEAtumor		CEAmargin		CA72-4 (tumor) cyto		CA72-4 (margin) cyto		CA72-4ex	
	AL	DC	AL	DC	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
Tumor differentiation										
Well	102	22	91	33	105	19	106	18	116	8
Moderately	44	34	34	44	60	18	64	14	74	4
Poorly	1	3	1	3	3	1	3	1	3	1
Mucinous	2	3	1	4	0	5	3	2	0	5
Tumor size										
≤ 5cm	113	43	94	62	126	30	132	24	148	8
5cm <	36	19	33	22	42	13	44	11	45	10
Depth of invasion										
m, sm, mp	52	6	43	15	52	6	51	7	57	1
ss/a1, se/a2, si/ai	97	56	84	69	116	37	125	28	136	17
Lymphatic invasion										
ly (-)	94	23	82	35	97	20	98	19	112	5
ly (+)	55	39	45	49	71	23	78	16	81	13
Venous invasion										
v (-)	110	29	96	43	116	23	117	22	130	9
v (+)	39	33	31	41	52	20	59	13	63	9
Lymph node metastasis										
n (-)	108	25	95	38	110	23	112	21	127	6
n (+)	41	37	32	46	58	20	64	14	66	12
Dukes classification										
A	46	5	40	11	45	6	44	7	50	1
B	62	21	55	28	66	17	69	14	78	5
C	38	28	30	36	52	14	57	9	57	9
D	3	8	2	9	5	6	6	5	8	3

AL : apicoluminal pattern, DC : diffuse cytoplasmic pattern, ※ : p < 0.05

行った。そして、その結果より Stepwise 変数選択法 (変数減少法) を用いて Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析を行った。p < 0.05 をもって有意差ありと判定した。統計解析ソフトは Stat View 5.0 を用いた。

結 果

1. 染色パターン分類と臨床病理学的検討

1) CEA 染色パターン分類と臨床病理学的所見との関連

CEAtumor 分類では AL 149 例 (71%), DC 62 例 (29%), CEAmargin 分類では AL 127 例 (60%), DC 84 例 (40%) に認められ、CEAtumor 分類より CEAmargin 分類で DC が有意に高頻度であった (p = 0.0315)。CEAtumor 分類および

CEAmargin 分類で、両群間に有意差を認めたものは組織型、壁深達度、リンパ管侵襲、静脈侵襲、リンパ節転移、Dukes 分類であった (Table 1)。

2) CA72-4 染色パターン分類と臨床病理学的所見との関連

CA72-4 (tumor) cyto 分類では陰性 168 例 (80%), 陽性 43 例 (20%), CA72-4 (margin) cyto 分類では陰性 176 例 (83%), 陽性 35 例 (17%) に認められ、腫瘍全体と先進部における陽性群・陰性群の差は認めなかった。CA72-4 (tumor) cyto 分類で両群間に有意差を認めたものは組織型、壁深達度、Dukes 分類であった。CA72-4 (margin) cyto 分類で両群間に有意差を認めるものはなかった。また、CA72-4ex 分類では陰性 193 例

Table 2 Immunohistochemical and clinicopathological factors affecting disease-free survival and overall survival in patients with colorectal carcinoma by multivariate analysis using Cox's proportional hazard model (backward stepwise selection)

Disease-free survival				
Prognostic factors	Category	p value	Hazard ratio	95% Confidence Interval
CEAmargin	AL DC	< 0.0001	5.53	2.595 ~ 11.786
Dukes classification	A ~ C D	< 0.0001	5.15	2.345 ~ 11.313
CA72-4ex	(-) (+)	0.0003	4.184	1.936 ~ 9.042
Venous invasion	(-) (+)	0.0392	2.039	1.036 ~ 4.015
Overall survival				
Prognostic factors	Category	p value	Hazard ratio	95% Confidence Interval
CA72-4ex	(-) (+)	< 0.0001	7.747	3.154 ~ 19.029
CEAmargin	AL DC	0.0003	7.267	2.453 ~ 21.530
Dukes classification	A ~ C D	0.0012	4.597	1.826 ~ 11.574
Venous invasion	(-) (+)	0.0398	2.526	1.044 ~ 6.112

(91%), 陽性 18 例 (9%) に認められ, 両群間で有意差を認めたものは組織型, 腫瘍径, 壁深達度, リンパ管侵襲, リンパ節転移, Dukes 分類であった (Table 1).

また, 再現性確認のため作製した腫瘍先進部と隣接した組織標本の染色パターンについては, CEA および CA72-4 ともにすべて同じ染色判定結果であった.

2. 臨床病理学的因子と染色パターン分類による無再発生存および累積生存の比較

無再発 5 年生存率は全体で 76.3%, 累積 5 年生存率は全体で 82.5% であった. 臨床病理学的因子と染色パターン分類による検討では, 無再発生存曲線および累積生存曲線の Logrank test で有意差 ($p < 0.05$) を認めたものは, ともに組織型 (高分化型腺癌/それ以外), 壁深達度, リンパ管侵襲, 静脈侵襲, リンパ節転移, Dukes 分類 (A~C/D), CEAtumor 分類, CEAmargin 分類, CA72-4(tu-

mor) cyto 類, CA72-4ex 分類であり, 腫瘍径と CA72-4 (margin) cyto 分類では有意差を認めなかった. 次に, Logrank test で有意差を認めた因子から Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析への妥当性を Stepwise 変数選択法 (変数減少法) で検討したところ, 無再発生存および累積生存に対して選択された因子は, ともに静脈侵襲, Dukes 分類, CEAmargin 分類, CA72-4ex 分類の 4 因子であった. そして, 無再発生存に対する各因子の重みをハザード比で比較したところ CEAmargin 分類が最大で AL に対する DC のハザード比は 5.53 ($p < 0.0001$) であった. 次いで高値を示したのは Dukes 分類 5.15 ($p < 0.0001$), CA72-4ex 分類 4.184 ($p = 0.0003$), 静脈侵襲 2.039 ($p = 0.039$) であった (Table 2). また, 累積生存に対する検討では, CA72-4ex 分類が最大を示し, 陰性群に対する陽性群のハザード比は 7.747 ($p < 0.0001$) であった. 次いで高値を示したものは, CEAmargin 分類

Fig. 2 Overall survival curves of patients with colorectal carcinoma. (venous invasion, Dukes classification, CEAmargin staining patterns, CA72-4ex staining patterns)

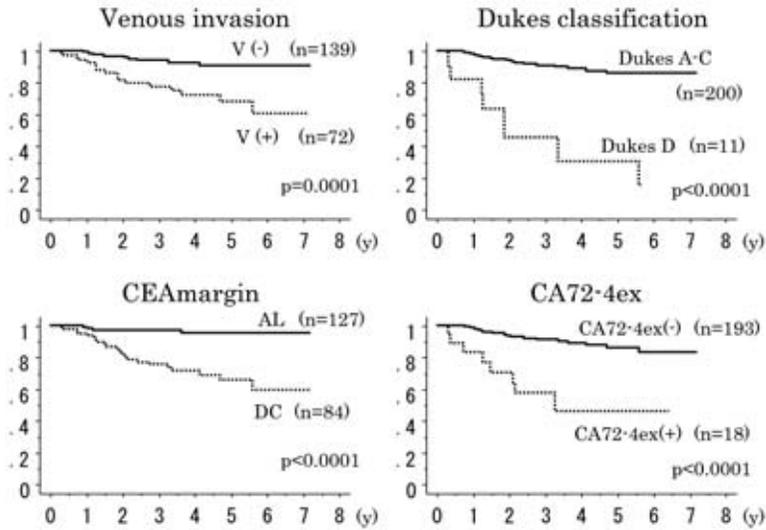
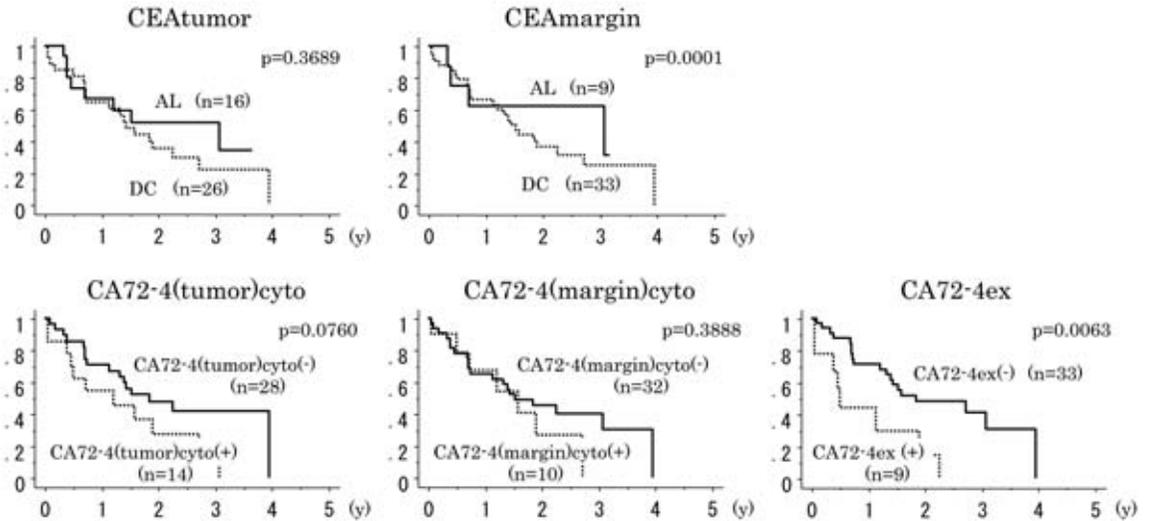


Fig. 3 Survival curves after recurrence of colorectal carcinoma patients with reference to CEA and CA72-4 staining patterns



7.267 (p=0.0003), Dukes 分類 4.597 (p=0.0012), 静脈侵襲 2.526 (p=0.0398) であった (Table 2) (Fig. 2).

3. 術後再発例における検討

1) 術後再発例の内訳

対象症例における術後再発症例は 42 例であり 男性 29 例, 女性 13 例であった. 再発形式は肝転移再発 24 例, 肺転移再発 7 例, 腹膜播種再発 11

Table 3 Patterns of recurrence in colorectal carcinoma patients after surgery and staining patterns of CEA and CA72-4 (B72.3)

Total patients (n = 42)				
		Recurrence patterns		p value
		Numbers of patients with only he- matogenous recurrence	Numbers of patients with non-he- matogenous recurrence included	
CEAtumor	AL	6	10	p = 0.3545
	DC	14	12	
CEAmargin	AL	4	5	p > 0.9999
	DC	16	17	
CA72-4 (tumor) cyto	(-)	17	11	p = 0.0232
	(+)	3	11	
CA72-4 (margin) cyto	(-)	18	14	p = 0.0709
	(+)	2	8	
CA72-4ex	(-)	19	14	p = 0.0221
	(+)	1	8	
Patients of hematogenous recurrence included (n = 29)				
		Recurrence patterns		p value
		Numbers of patients with only he- matogenous recurrence	Numbers of patients with non-he- matogenous recurrence included	
CEAtumor	AL	6	3	p > 0.9999
	DC	14	6	
CEAmargin	AL	4	2	p > 0.9999
	DC	16	7	
CA72-4 (tumor) cyto	(-)	17	5	p = 0.1581
	(+)	3	4	
CA72-4 (margin) cyto	(-)	18	6	p = 0.2872
	(+)	2	3	
CA72-4ex	(-)	19	5	p = 0.0223
	(+)	1	4	

例, 局所再発9例, リンパ節再発3例で認め, このうち再発形式単独は29例, 重複は13例であった. これを血行性再発と非血行性再発による再発形式で分類したところ①血行性再発20例, ②血行性再発+非血行性再発9例, ③非血行性再発13例であった. 初回再発に対しては肝切除12例, 肺切除4例, 局所再発切除2例が施行され, 化学療法は, 再発症例中29例に施行した. 各染色パターン分類と化学療法の有無における差は認めなかった.

2) 染色パターン分類と再発後生存率の関連

i) CEA 染色パターン分類

CEAtumor 分類およびCEAmargin 分類の再発後生存率ではALとDCによる統計学的有意差は認められなかった (Fig. 3).

ii) CA72-4 染色パターン分類

CA72-4 (tumor) cyto 分類の再発後生存率は陰性群より陽性群がやや低率であったが, 有意差は認めなかった. CA72-4 (margin) cyto 分類も再発後生存率では陽性群と陰性群で有意差は認めなかった. しかし, CA72-4ex 分類の再発後2年生存率は陽性群14.8%, 陰性群48.2%と陽性群が陰性群に比べ明らかな差を示し, 統計学的有意差を認めた (p=0.0063) (Fig. 3).

3) 再発形式の検討

再発形式を血行性再発単独例 (①) と非血行性再発を含む例 (②③) に分けて検討した結果, CA72-4 (tumor) cyto 分類および CA72-4ex 分類の陽性群において, 血行性再発単独例が少なく, 非血行性再発を含む例が多く存在し, 統計学的有意差が認められた ($p=0.0232$, $p=0.0221$) (Table 3). また, 血行性再発 (①) と血行性再発+非血行性再発 (②) で比較した結果でも CA72-4ex 分類にのみ同様の結果を認め, 統計学的有意差が認められた ($p=0.0223$) (Table 3).

考 察

癌胎児性抗原 (CEA) は 1965 年に Gold ら¹⁰⁾ により報告されて以来, 数多くの研究がなされてきた. 大腸癌の免疫組織化学的検討についても CEA の局在および染色性を中心に多くの報告があり, Denk ら¹¹⁾, 三輪ら¹²⁾, 松田ら¹³⁾, 浜田ら¹⁴⁾ は CEA の局在性が大腸癌の組織型と関連すると述べている. 予後に関しては, Teixeira ら¹⁵⁾ が腫瘍先進部における CEA の局在性について, cytoplasmic pattern が apical pattern より短い無再発期間であったと報告し, Kim ら⁷⁾ は各種モノクローナル抗体を用い腫瘍全体と腫瘍先進部における CEA の局在性について AL と DC に分類したところ, 腫瘍先進部の DC が AL に比べ短い無再発期間であったと報告した.

1981 年 Colcher ら⁵⁾ はヒト乳癌肝転移細胞膜成分分画を免疫して得たモノクローナル抗体 B72.3 が反応する物質を Tumor-associated glycoprotein-72 (TAG-72) と命名した. その後, 大腸癌の培養細胞株に含まれる TAG-72 の精製抗原を免疫して作製されたモノクローナル抗体 CC49 との組み合わせで測定した血中抗原名称が CA72-4 と呼ばれるようになった. CA72-4 は, ムチン型糖鎖の母核糖鎖関連抗原である Sialy Tn および Sialyl T をそれぞれエピトープと認識する B72.3 および CC49 が反応するムチン型の糖蛋白質であることが明らかにされている¹⁶⁾.

今回, 我々は Kim ら⁷⁾ の分類を参考に組織内 CEA の局在性を判定した結果, 高分化型腺癌で AL, 中分化型および低分化型腺癌で DC が高頻度

となり, 多くの報告と同様に分化度の変化と CEA の局在性に関連性を認めた. CA72-4 に対する免疫組織化学染色については, 当初 B72.3 と CC49 の両方で免疫組織化学染色を行ったが, 胃癌による小西ら¹⁷⁾ の報告と同様に, 大腸癌でも B72.3 と CC49 はほぼ同様の組織局在性を認め, CC49 が B72.3 より広範囲に陽性を示した. しかし, B72.3 陽性部で CC49 が陰性の所見は認められないため (著者らの検討結果: 結果示さず), 特異性が高いと考えられる B72.3 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った. 著者らの臨床病理学的検討では, CA72-4 (tumor) cyto 分類で有意差を認めたものは, 組織型, 深達度, Dukes 分類だけであり, CA72-4 (margin) cyto 分類で有意差を認めるものはなかった. CA72-4 免疫組織化学染色は, CEA 免疫組織化学染色と比べ染色反応を示す例が少なく, 染色性の違いが認められた. また, 組織型では CA72-4 (tumor) cyto 分類および CA72-4ex 分類で粘液癌が全例陽性 (5 例) を示し, 粘液癌の産生する粘液には, Sialyl Tn 抗原をエピトープとしたムチン性糖蛋白質が多く発現する性質があると考えられた. しかし, 腫瘍内粘液結節を有する症例は粘液癌も含め 211 例中 29 例 (13.7%) 認められたが, すべて染色性を示すわけではなく因果関係は不明であった.

臨床病理学的因子と染色パターン分類による無再発生存および累積生存の検討では, 染色パターン分類における Logrank test で有意差を認めたものは, ともに CEA tumor 分類, CEA margin 分類, CA72-4 (tumor) cyto 分類および CA72-4ex 分類であり, Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析では, CEA margin 分類と CA72-4ex 分類の 2 因子が独立した予後因子として選択された. そして CEA margin (腫瘍先進部) 分類については, 他の報告と同様に無再発生存における有用性が今回我々の結果としても認められ, 最も重要な再発予知因子として認められた. しかし, 累積生存については, CA72-4ex 分類が CEA margin 分類よりもハザード比が高値を示し, CA72-4ex 分類が, 累積生存における最も重要な予後因子として示された.

次に、再発症例による検討では、染色パターンによる再発後生存曲線で有意差を認めたものはCA72-4ex 分類だけであり、陽性群が陰性群に比べ再発後の生存率が有意に低かった（再発後2年生存率14.8%, $p=0.0063$ ）。無再発生存の結果からCEA margin 分類が、最も重要な再発予知因子として認められたが、再発後生存についてはALとDCに差がみられず、再発後の予後を示すものとはいえなかった。一方、CA72-4ex 分類については、陽性群が陰性群に比べ再発後の生存率が有意に低く、再発後生存における予後因子としての有用性が認められた。また、CA72-4 (tumor) cyto 分類とCA72-4ex 分類の陽性群では、再発形式に非血行性を含む再発例が多く認められ ($p=0.0232$, $p=0.0221$)、そしてまた、血行性再発を来した症例だけによる検討でもCA72-4ex 分類にのみ同様の結果が認められ ($p=0.0223$)、術後再発時に非血行性再発を来しやすい結果も認められた。胃癌において、川畑⁸⁾がCA72-4の血清値および免疫組織化学染色で腹膜播種の存在や危険性を予測する因子としての有用性を報告しており、高橋¹⁸⁾も胃癌再発症例で腹膜播種再発やリンパ節再発症例に血清値陽性例が多いことを報告した。Ikeguchi¹⁹⁾も、術前血清CA72-4高値例で腹膜播種が高頻度であったと報告した。今回の検討は大腸癌症例を対象としているが、我々の検索した範囲ではCA72-4による組織染色性をCA72-4 (tumor) cyto, CA72-4 (margin) cyto およびCA72-4ex に分けて検討したのは、胃癌・大腸癌を通じ我々の報告がはじめてであった。今回、我々の術後再発例における検討では、CA72-4 (tumor) cyto とCA72-4ex 分類の陽性群で腹膜播種をはじめとする非血行性再発を含む症例が多く認め、血行性再発を来した症例だけによる検討でもCA72-4ex 分類で同様の結果であった。そしてまた、CA72-4ex 陽性例については、再発後の予後が著しく不良であった。現在、大腸癌術後再発例における血行性再発に対しては、手術的治療または肝動注療法を積極的に行う場合が多いが、CA72-4ex 陽性例に対しては、十分な非血行性再発の検索を行ったうえで慎重に治療法を選択すべきであ

ると考えられた。逆に、血行性再発例でCA72-4ex 陰性例の場合には、積極的な手術的治療により長期予後が得られる可能性が推察され、CA72-4ex 分類は、術後再発時（特に血行性再発時）の治療方針決定に有用な指標となる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 小林 聡, 北村 宏, 三輪史郎ほか: 転移性肝癌治療—最近の進歩 I 大腸癌肝転移 A 肝切除術肝再発に対する再肝切除の意義. 外科 62: 637—642, 2000
- 2) Kim JC, Roh SA, Park KC: Adhesive function of carcinoembryonic antigen in the liver metastasis of KM-12c colon carcinoma cell line. Dis Colon Rectum 40: 946—953, 1997
- 3) Hostetter RB, Augustus LB, Mankarious R et al: Carcinoembryonic antigen as a selective enhancer of colorectal cancer metastasis. J Natl Cancer Inst 82: 380—385, 1990
- 4) Jessup JM, Thomas P: Carcinoembryonic antigen: Function in metastasis by human colorectal carcinoma. Cancer Metastasis Rev 8: 263—280, 1989
- 5) Colcher D, Horan HP, Nuti M et al: A spectrum of monoclonal antibodies reactive with human mammary tumor cells. Proc Natl Acad Sci USA 78: 3199—3203, 1981
- 6) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 改定第6版. 金原出版, 東京, 1998
- 7) Kim JC, Han MS, Lee HK et al: Distribution of carcinoembryonic antigen and biologic behavior in colorectal carcinoma. Dis Colon Rectum 42: 640—648, 1999
- 8) 川畑真治: 胃癌における癌関連抗原CA72-4の臨床的検討. 久留米医会誌 57: 682—689, 1994
- 9) Sunouchi K, Machinami R, Mori M et al: Clinical impact of carcinoembryonic antigen Meaenger ribonucleic acid expression in tumor-draining vein blood on postoperative liver metastasis in patients with colorectal carcinoma. Dis Colon Rectum 46: 467—473, 2003
- 10) Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumor-specific antigen in human colonic carcinoma by immunological tolerance and absorption techniques. J Exp Med 121: 439—462, 1965
- 11) Denk H, Tappeiner G, Eckerstorfer R: Carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal tumors and its relationship to tumor cell differentiation. Int J Cancer 10: 262—272, 1972
- 12) 三輪洋子, 長谷川かおり, 藤森孝博ほか: 大腸におけるCEAの組織学的検討. 日消病会誌 77: 1562—1565, 1980
- 13) 松田泰次, 福原 猛, 安富正幸ほか: 酵素抗体法

- による CEA の細胞組織化学的研究(I). 近畿大医誌 3 : 379—390, 1978
- 14) 浜田吉則, 山村 学, 日置鉦士郎ほか: 大腸組織内 CEA の免疫組織学的研究—とくに血清 CEA 値上昇因子について—. 日消外会誌 17 : 1002—1009, 1984
- 15) Teixeira CR, Tanaka S, Haruma K et al : Carcinoembryonic antigen staining patterns at the invasive tumor margin predict the malignant potential of colorectal carcinoma. *Oncology* 51 : 228—233, 1994
- 16) 黒木政秀 : 腫瘍マーカー CA72-4 (TAG-72) の基礎と応用. *Prog Med* 12 : 699—708, 1992
- 17) 小西二三男, 松能久雄, 小西奎子ほか: 腫瘍関連抗原 CA72-4 (TAG72) の胃癌組織内局在と血中濃度の診断意義. *癌の臨* 36 : 691—699, 1990
- 18) 高橋 豊, 磨伊正義: 胃癌再発のフォローアップにおける腫瘍関連抗原 CA72-4 の意義—血清 CEA, CA19-9 との比較—. *癌と治療* 19 : 515—517, 1992
- 19) Ikeguchi M, Katano K, Saitou H et al : Pre-operative serum levels of CA72-4 in patients with gastric adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 44 : 866—871, 1997

Tumor-Associated Antigen CA72-4 Expression Pattern as a Significant Determinant of Prognosis and Recurrence Pattern in Patients with Colorectal Carcinoma

Shoichi Hattori, Koki Sunouchi, Rikuo Machinami¹⁾, Masaki Mori,
Yujiro Murata, Michiya Bando, Tadahiko Masaki²⁾ and Yutaka Atomi²⁾

Departments of Surgery and Department of Pathology¹⁾, Kawakita General Hospital
Department of Gastrointestinal and Department of General Surgery, Kyorin University²⁾

Purpose : The purpose of this study was to identify the clinical impact of CA72-4 staining patterns on the prognosis and recurrence patterns in patients with colorectal carcinomas. **Materials and methods** : Tissue samples were collected from 211 colorectal carcinoma patients who underwent curative resection during the period from January 1996 to December 2000. The correlations between the staining patterns of CEA and CA72-4 and clinicopathological factors were analyzed and then patients outcomes were reviewed. The localization patterns of CEA staining were classified into apicoluminal (AL) and diffuse-cytoplasmic (DC) patterns in the tumor (CEAtumor) and invasive tumor margin (CEAmargin). The patterns of CA72-4 staining were classified into two groups : positive or negative staining patterns in the tumor (CA72-4 (tumor) cyto) and invasive tumor margin (CA72-4 (margin) cyto). In addition, the CA72-4 (B72.3) staining patterns in the extracellular tissue (CA72-4ex) were classified into two groups : positive or negative staining groups. **Results** : Patients with a positive staining pattern of CA72-4ex showed shorter overall survival than those with a negative CA72-4ex staining pattern. A multivariate analysis showed that the positive CA72-4ex staining pattern affected the overall survival with the highest Hazard rate. Patients with a positive CA72-4ex staining pattern showed a lower survival rate after recurrence than those with a negative CA72-4ex staining pattern. The difference was statistically significant ($p = 0.0063$). Non-hematogenous recurrence developed far more frequently in patients with a positive CA72-4 (tumor) cyto or CA72-4ex staining pattern than in those who stained negative for these patterns, respectively ($p = 0.0232$, $p = 0.0221$). **Conclusions** : Patients with a positive CA72-4ex staining pattern showed poorer outcomes and lower survival rate after recurrence because of a higher rate of non-hematogenous recurrence. Our study suggested that the extracellular staining patterns of CA72-4 may be useful for decision making regarding treatment after recurrence in patients with colorectal carcinoma.

Key words : colorectal cancer, CA72-4, CEA, immunohistochemical staining, extracellular staining pattern

[*Jpn J Gastroenterol Surg* 38 : 1795—1804, 2005]

Reprint requests : Shoichi Hattori Department of Surgery, Kawakita General Hospital
1-7-3 Asagaya-Kita, Suginami-ku, 166-8588 JAPAN

Accepted : May 25, 2005