

# 胃に発生する腺癌における胃型腸型関連抗原の発現と胃型腸型分類

神津稔典<sup>1</sup>, 関 貴行<sup>2</sup>, 山田哲夫<sup>1,2</sup>, 小池盛雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 文京学院大学大学院 保健医療科学研究科

<sup>2</sup> 文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科

## 要旨

今回我々は癌の胃型腸型分類に注目し、胃腺癌における胃型腸型関連抗原の発現頻度および発現パターンと、癌の進行度や組織型分類、リンパ節転移との相関を検討した。胃腺癌 40 症例 43 病変を対象とし、胃型腸型関連抗原の発現頻度および発現パターンを免疫組織化学的に検討した。進行癌では早期癌と比較して胃型および胃型優位混合型に分類された病変の割合が低かった。腸型関連抗原 CD10 の陽性率は、分化型癌で未分化型癌と比較して有意に高かった ( $p=0.014$ )。また、未分化型癌は分化型癌と比較して腸型および腸型優位混合型に分類された病変の割合が低く、無形質型の癌は未分化型癌にのみ存在した。原発巣とリンパ節転移巣の胃型腸型分類は 15 症例中 9 例で完全に一致した。胃腺癌における胃型腸型関連抗原の発現頻度および発現パターンは、癌の発育進展や組織学的分化に伴って一定の傾向をもって変化する可能性が示唆された。また、転移巣では原発巣と同様の胃型腸型形質が保持されている可能性が示唆された。

## キーワード

胃腺癌, 胃型腸型分類, 癌の進行度, 組織型分類, リンパ節転移

## 研究の背景と目的

胃粘膜を被覆する上皮は腺上皮であり、胃に発生する上皮性悪性腫瘍に関しては腺癌が一般型と定められている。胃腺癌はその腺管形成の程度により分化型癌（腺管形成が明らかな癌）と未分化型癌（腺管形成の不明な癌）に亜分類される<sup>1)</sup>。この組織型分類により症例を亜分類すると、各病変群が異なった臨床病理学的特徴を示すことが明らかになっており、現在では胃癌内視鏡治療の適応基準にも反映されている<sup>2)</sup>。

近年、とくに日本において、組織型分類の他に胃癌を亜分類する手段として胃型腸型分類が用いられている。固有胃粘膜上皮の粘液関連抗原である MUC5AC（腺窩上皮型抗原）、MUC6（幽門腺型抗原）、腸上皮関連抗原である CD10（小腸吸収上皮型抗原）および MUC2（腸杯細胞型

抗原）の発現頻度および発現パターンにより、胃腺癌を胃型ないし腸型に亜分類するという方法である。この胃型腸型分類と臨床病理学的因子との間にいくつかの相関が報告されているが<sup>3-5)</sup>、未だに一定の傾向が明らかにされていないのが現状である。

今回我々はこの胃型腸型分類に注目し、胃腺癌における胃型腸型関連抗原の発現頻度および発現パターンと、癌の進行度や組織型分類、そしてリンパ節転移との相関を検討した。

## 材料と方法

### 症例と病変

1997 年に東京都保健医療公社大久保病院において外科的でないし内視鏡的に切除された胃腺癌 40 症例 43 病変（平

均 66.6 歳，男：女 = 24：16) を対象とした。症例の内訳は早期癌 22 症例 25 病変，進行癌 18 症例 18 病変である。また，このうちリンパ節転移陽性であった 15 症例に関しては，代表的なリンパ節転移巣を各症例 1 病変ずつ選び，これも同様に検討に加えた。

病変はすべてホルマリン固定パラフィン包埋ブロックとして入手した。原発巣については壁深達度が最大で，かつできる限り最大断面に相当する検体を用いた。最適の断面を構成する検体が分割されて複数のパラフィンブロックに包埋されている場合，入手できるすべてのブロックを用いた。病変を含むパラフィンブロックから 3 μm 薄切切片を作製し，ヘマトキシリン・エオジン染色および免疫組織化学を行い，以下の検討に用いた。

### 免疫組織化学

今回の検討では，抗 CD10 抗体 (56C6, Leica Microsystems, Tokyo, Japan)，抗 MUC2 抗体 (Ccp58, Leica Microsystems)，抗 MUC5AC 抗体 (CLH2, Leica Microsystems)，抗 MUC6 抗体 (CLH5, Leica Microsystems) を一次抗体として用いた (すべてマウスモノクローナル抗体)。薄切切片を脱パラフィン，水洗後，クエン酸緩衝液 (pH6.0) に浸し，オートクレーブを用いた抗原賦活処理を行った。その後，1% 過酸化水素加メタノールに浸漬して内因性ペルオキシダーゼ活性を抑制した。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.4) で切片を洗浄した後，非特異的な反応のブロッキングを目的に，2.5% 正常馬血清 (Vector Laboratories, Burlingame, US) を組織切片に滴下し湿潤箱内で放置した。続いて各一次抗体 (抗 CD10 抗体：800 倍希釈，抗 MUC2 抗体：400 倍希釈，抗 MUC5AC 抗体：2000 倍希釈，抗 MUC6 抗体：800 倍希釈) を湿潤箱内において 4℃ 下で一晩反応させた。PBS で洗浄後，R.T.U. Universal Elite ABC kit (Vector Laboratories) を用いて ABC 法にて反応を行い，発色は ImmPACT DAB Peroxidase Substrate (Vector Laboratories) を用いて行った。PBS で洗浄し発色を止め，流水水洗した。さらにマイヤーのヘマトキシリンで核染色を行い，水洗後，脱水，透徹，封入した。

### 免疫組織化学の評価と胃型腸型分類

病変を構成する癌組織における各抗原の発現頻度を評価した。評価は，二人以上の観察者で同一標本をディスカッション顕微鏡で観察し，観察者間で調整のち決定した。病変を構成する癌組織全体のうち 10% 以上の領域において発現が観察された場合を陽性と評価した。

胃型腸型関連抗原の発現パターンにより病変に対して胃

型腸型分類を行った。胃型関連抗原 (MUC5AC, MUC6) のみが陽性の場合を純粋胃型 (G type) とし，逆に腸型関連抗原 (CD10, MUC2) のみが陽性の場合を純粋腸型 (I type) とした。胃型抗原と腸型抗原が共に陽性の場合を混合型 (M type) とし，胃型抗原の発現が優位な場合を胃型優位混合型 (MG type)，腸型抗原が優位な場合を腸型優位混合型 (MI type) とした。どの抗原も陰性 (<10%) であった場合は無形質型 (N type) に分類した。

## 結果

今回検討した胃型腸型関連抗原の，原発巣における発現パターンを図 1 に示す。原発巣 43 病変のうち，CD10 は 12 病変 (27.9%)，MUC2 は 23 病変 (53.5%)，MUC5AC は 26 病変 (60.5%)，MUC6 は 16 病変 (37.2%) で陽性となった。また，胃型腸型分類により，10 病変 (23.3%) が G type，12 病変 (27.9%) が MG type，10 病変 (23.3%) が I type，6 病変 (14.0%) が MI type，5 病変 (11.6%) が N type に分類された (表 1)。

### 癌の進行度と胃型腸型分類 (表 1)

CD10, MUC2, MUC5AC, MUC6 は，早期癌 25 病変においてそれぞれ 9 病変 (36.0%)，14 病変 (56.0%)，18 病変 (72.0%)，11 病変 (44.0%) で陽性であったが，進行癌 18 病変においては 3 病変 (16.7%)，9 病変 (50.0%)，8 病変 (44.4%)，5 病変 (27.8%) で陽性となり，すべての抗原が進行癌と比較して早期癌において高頻度に発現していた。

胃型腸型分類を行うと，進行癌では早期癌と比較して特に G type および MG type に分類された病変の割合が低い結果となった。G type および MG type に分類された病変は，早期癌で 15 病変 (60.0%)，進行癌で 7 病変 (38.9%) であった (統計学的有意差なし)。

### 癌の組織型分類と胃型腸型分類 (表 2)

組織型分類を行うにあたり，分類困難であった粘液癌 3 病変は検討から除外した。

CD10, MUC2, MUC5AC, MUC6 は，分化型癌 20 病変においてそれぞれ 10 病変 (50.0%)，11 病変 (55.0%)，12 病変 (60.0%)，8 病変 (40.0%) で陽性であったが，未分化型癌 20 病変においては 2 病変 (10.0%)，9 病変 (45.0%)，11 病変 (55.0%)，5 病変 (25.0%) で陽性となり，すべての抗原が未分化型癌と比較して分化型癌におい

表 1 癌の進行度と胃型腸型分類

	合計 (43 病変)	早期癌 (25 病変)	進行癌 (18 病変)
胃型腸型関連抗原の発現			
CD10	12/43 (27.9%)	9/25 (36.0%)	3/18 (16.7%)
MUC2	23/43 (53.5%)	14/25 (56.0%)	9/18 (50.0%)
MUC5AC	26/43 (60.5%)	18/25 (72.0%)	8/18 (44.4%)
MUC6	16/43 (37.2%)	11/25 (44.0%)	5/18 (27.8%)
胃型腸型分類			
G	10/43 (23.3%)	7/25 (28.0%)	3/18 (16.7%)
MG	12/43 (27.9%)	8/25 (32.0%)	4/18 (22.2%)
I	10/43 (23.3%)	5/25 (20.0%)	5/18 (27.8%)
MI	6/43 (14.0%)	4/25 (16.0%)	2/18 (11.1%)
N	5/43 (11.6%)	1/25 (4.0%)	4/18 (22.2%)

G, 純粹胃型; MG, 胃型優位混合型; I, 純粹腸型; MI, 腸型優位混合型; N, 無形質型

表 2 癌の組織型分類と胃型腸型分類

	合計 (40 病変)	分化型癌 (20 病変)	未分化型癌 (20 病変)
胃型腸型関連抗原の発現			
CD10	12/40 (30.0%)	10/20 (50.0%)	2/20 (10.0%)
MUC2	20/40 (50.0%)	11/20 (55.0%)	9/20 (45.0%)
MUC5AC	23/40 (57.5%)	12/20 (60.0%)	11/20 (55.0%)
MUC6	13/40 (32.5%)	8/20 (40.0%)	5/20 (25.0%)
胃型腸型分類			
G	10/40 (25.0%)	5/20 (25.0%)	5/20 (25.0%)
MG	10/40 (25.0%)	5/20 (25.0%)	5/20 (25.0%)
I	11/40 (27.5%)	7/20 (35.0%)	4/20 (20.0%)
MI	4/40 (10.0%)	3/20 (15.0%)	1/20 (5.0%)
N	5/40 (12.5%)	0/20 (0%)	5/20 (25.0%)

G, 純粹胃型; MG, 胃型優位混合型; I, 純粹腸型; MI, 腸型優位混合型; N, 無形質型

て高頻度に発現していた。CD10の陽性率は分化型癌と未分化型癌の間に有意な差が認められた (Fisherの直接法,  $p=0.014$ )。

胃型腸型分類を行うと、未分化型癌は分化型癌と比較して特にI typeおよびMI typeに分類された病変の割合が低い結果となった。I typeおよびMI typeに分類された病変は、分化型癌で10病変 (50.0%)、未分化型癌で5病変 (25.0%)であった (統計学的有意差なし)。また、N typeの癌は未分化型癌にのみ存在した。

### 癌のリンパ節転移と胃型腸型分類

リンパ節転移陽性であった症例の原発巣15病変は全て進行癌であった。

CD10, MUC2, MUC5AC, MUC6は、原発巣15病変においてそれぞれ3病変 (20.0%)、8病変 (53.3%)、8病変 (53.3%)、5病変 (33.3%)で陽性であったが、リンパ節転移巣15病変においては3病変 (20.0%)、5病変 (33.3%)、5病変 (33.3%)、1病変 (6.7%)で陽性となり、CD10以外の抗原は原発巣と比較してリンパ節転移巣において発現頻度が低下していた。

胃型腸型分類を行うと、9症例 (60%)で原発巣とリンパ節転移巣の分類が完全に一致し、2症例 (13.3%)で分類が類似 (G⇔MG, I⇔MI)していた。また3症例 (20.0%)で転移巣においてN typeに変化していた。残りの1症例 (6.7%)は原発巣でMG type、リンパ節転移巣でMI typeであった (表3)。

### 考察

近年、特に本邦において、消化管に発生する腺癌に対して胃型腸型分類を行うことが一般的になりつつある。胃型腸型分類と臨床病理学的特徴の相関については既に複数の

報告が存在するが、胃型腸型関連抗原の発現ないし発現の消失がどのようなメカニズムで臨床病理学的悪性度に貢献しているかは未だほとんど明らかにされていない。今回我々は胃腺癌における胃型腸型関連抗原の発現を免疫組織化学的に観察し、癌の進行度および組織型分類、そしてリンパ節転移との相関を検討した。

今回の研究ではまず、癌の進行度と胃型腸型関連抗原の発現の相関について検討した。今回の検討では全ての抗原が、進行癌と比較して早期癌において高頻度に発現しており、また進行癌と比較して早期癌でG typeないしMG typeに分類された病変の割合が高い結果となった。胃腺癌はその発育進展に伴って腸型形質を発現する病変の割合が増加するという報告がある<sup>6,7)</sup>。今回の我々の検討ではI typeないしMI typeの病変の割合は、早期癌 (9/25, 36.0%)と進行癌 (7/18, 38.9%)でほぼ同様であった。今回の結果から、癌の発育進展に伴って胃型腸型関連抗原の発現パターンは変化するが、腸型形質の発現が増すというよりはむしろ、胃型形質の発現が消失する可能性が示唆された。

次に我々は癌の組織型分類と胃型腸型関連抗原の発現の相関について検討した。今回の検討では全ての抗原が、未分化型癌と比較して分化型癌において高頻度に発現していた。CD10においては未分化型癌で、その発現は有意に低率であった。また、分化型癌と比較して未分化型癌でI typeないしMI typeに分類された病変の割合が低く、N typeの癌は全て未分化型癌であった。CD10は消化管上皮組織においては、小腸の吸収上皮の刷子縁に発現が認められ、癌組織においては主に癌腺管の内腔表面に発現が認められる。そのため胃腺癌においては腺管形成が明らかでない未分化型癌ではCD10を発現する病変の割合は低いことが予測され、今回の結果はその予測に従う形となった。今回CD10が陽性であった未分化型癌2病変である

表3 原発巣とリンパ節転移巣の胃型腸型分類

原発巣	リンパ節転移巣				
	G	MG	I	MI	N
G (3病変)	2 (66.7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (33.3%)
MG (4病変)	1 (25.0%)	2 (50.0%)	0 (0%)	1 (25.0%)	0 (0%)
I (5病変)	0 (0%)	0 (0%)	3 (60.0%)	0 (0%)	2 (40.0%)
MI (1病変)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
N (2病変)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)

G, 純粋胃型; MG, 胃型優位混合型; I, 純粋腸型; MI, 腸型優位混合型; N, 無形質型

が、癌組織において腺腔形成部のみでなく癌細胞の細胞質にも CD10 の発現が観察されており、この 2 病変は CD10 の発現に関して特殊な病変である可能性が示唆された。Lauren<sup>8)</sup> は中村ら<sup>1)</sup> の二分法とほぼ同様の分類法を提唱し、胃腺癌を、分化型に相当する Intestinal-type と未分化型に相当する Diffuse-type に分類した。その形態学的特徴から Lauren が Intestinal-type (腸型) とした腺癌の中にも相当の割合で胃型形質の癌が存在することは既に広く認識されているが、今回の検討の結果、腺管形成の明らかな分化型癌では細胞学的にも腸型形質を発現する病変が多いことが示唆された。また、未分化癌では N type の癌の割合が高く、組織学的に分化すること、つまり腺管を形成する事と胃型腸型関連抗原の発現の間に相関があることが示唆された。

最後に我々はリンパ節転移と胃型腸型関連抗原の発現の相関について検討した。今回の検討では CD10 以外の抗原が、原発巣と比較してリンパ節転移巣において発現頻度が低下していた。また、胃型腸型分類を行うと、原発巣と転移巣の分類は多くの場合で一致ないし類似し、一部の症例で転移巣において N type に変化していた。仙谷ら<sup>9)</sup> は我々と同様の検討により、約 65% の症例で原発巣と転移巣の分類が一致していたと報告している。仙谷らは胃型腸型形質が混在したものを「GI」と分類したのみで、今回我々が行った MG type および MI type という細分類は行っていない。細分類を行った今回の結果でも 60% (9/15) の症例で原発巣と転移巣の分類が完全に一致しており、転移巣を構成する癌組織は基本的に原発巣の細胞学的性質を保持している可能性が示唆された。一部の症例において転移巣で N type に変化していたが、CD10 を除く抗原の発現頻度がリンパ節転移巣において低下していたことも合わせて考えると、癌が浸潤転移し転移巣を形成する際、胃型腸型形質が失われる可能性が示唆された。しかしながら転移巣の形成に関しては、そもそも N type の癌細胞がリンパ管侵襲をきたし転移巣を形成した可能性も考えられ、転移巣形成と胃型腸型関連抗原の発現にいかなる因果関係があるかは今後さらに詳細に検討する必要がある。

胃腺癌における胃型腸型関連抗原の発現頻度および発現パターンは、癌の発育進展や組織学的分化に伴って一定の傾向をもって変化する可能性が示唆された。また、転移巣では原発巣と同様の胃型腸型形質が保持されている可能性が示唆された。胃腺癌における胃型腸型分類は臨床病理学的にも重要な意義を備えており、継続した研究により臨床の現場にも寄与できるような結果が報告されることが期待される。

## 謝辞

今回の研究にあたり材料およびそれに付随する情報を提供して下さった、東京都保健医療公社大久保病院検査科医長の迫間隆昭先生に感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) Nakamura K, Sugano H, Takagi K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. *Gann* 1968; 59: 251-258
- 2) 日本胃癌学会 編. 胃癌治療ガイドライン. 第 3 版. 東京: 金原出版; 2010
- 3) Toki F, Takahashi A, Aihara R, Ogata K, Ando H, Ohno T, et al. Relationship between clinicopathological features and mucin phenotypes of advanced gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2010 June;16 (22): 2764-2770
- 4) Wakatsuki K, Yamada Y, Narikiyo M, Ueno M, Takayama T, Tamaki H, et al. Clinicopathological and prognostic significance of mucin phenotype in gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2008 Aug 98 (2): 124-9
- 5) Nakamoto J, Torisu R, Aoki R, Kimura Y, Yasuda M, Shiota K, et al. Clinicopathological evaluation of biological behavior of submucosal invasive gastric carcinomas: relationship among lymph node metastasis, mucin phenotype and proliferative activity. *J Med Invest*. 2007 Feb; 54 (1-2): 99-108
- 6) Yamachika T, Inada K, Fujimitsu Y, Nakamura S, Yamamura Y, Kitou T, et al. Intestinalization of gastric signet ring cell carcinomas with progression. *Virchows Arch*. 1997 Aug; 431 (2): 103-10
- 7) Yoshikawa A, Inada Ki, Yamachika T, Shimizu N, Kaminishi M, Tatematsu M. Phenotypic shift in human differentiated gastric cancers from gastric to intestinal epithelial cell type during disease progression. *Gastric Cancer*. 1998 Mar; 1 (2): 134-141
- 8) Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal type carcinoma. *APMIS* 1965; 64: 31-49
- 9) 仙谷和弘, 若松雄太, Htoo Zarni Oo, 安井弥. 胃癌原発巣と転移巣の病理像. *胃がん perspective*. 2010;3(4): 256-261

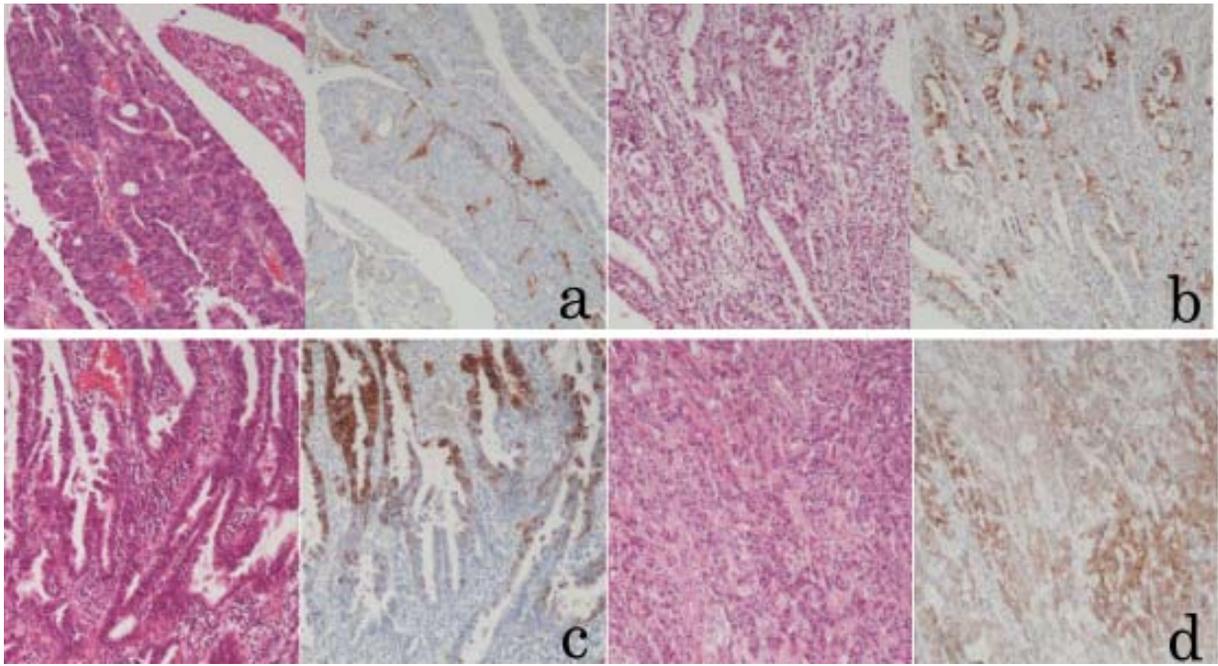


図1 病変における胃型腸型関連抗原の発現

左：HE染色，右：免疫組織化学。

- (a) CD10. 癌腺管腺腔表面に発現. (b) MUC2. 癌細胞の細胞質に発現. (c) MUC5AC. 癌細胞の細胞質に発現.  
(d) MUC6. 癌細胞の細胞質に発現. すべて顕微鏡観察倍率 200 倍.

## Expression of Gastrointestinal Phenotypic Marker in Gastric Adenocarcinoma

Toshinori Kozu<sup>1</sup>, Takayuki Seki<sup>2</sup>, Tetsuo Yamada<sup>1,2</sup>, Morio Koike<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Health Care Science, Bunkyo Gakuin University

<sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory Medicine, Faculty of Health Science Technology,  
Bunkyo Gakuin University

### Abstract

Forty-three gastric adenocarcinomas resected from 40 patients were immunohistochemically examined to find a correlation between the expression of gastrointestinal phenotypic marker and the tendency in cancer progression, histological differentiation, and lymph node metastasis. Gastric-type and mixed-type (gastric phenotype predominant) lesions were observed with greater frequency in early cancers than in advanced ones; and intestinal-type and mixed-type (intestinal phenotype predominant) lesions, with greater frequency in differentiated-type than in undifferentiated-type. An intestinal phenotypic marker, CD10, was expressed significantly more frequently in differentiated-type cancers than in undifferentiated-type. Null-type lesions were all undifferentiated-type cancers. Most of lymph node lesions showed the phenotypes which the corresponding primary lesions showed. Our results suggested that the expression of gastrointestinal phenotypic marker could correlate with cancer progression and histological differentiation in gastric adenocarcinomas. Furthermore, cancer cells of metastatic lesion could maintain the gastrointestinal phenotype which those of primary lesion had.

**Key words** — gastric adenocarcinoma, gastrointestinal phenotypic marker, cancer progression, histological differentiation, lymph node metastasis

Bunkyo Journal of Health Science Technology vol.5: 7-13