

分化型胃癌における胃粘膜型形質の出現と 類器官様構造について

中村 喜行

信州大学医学部第2内科学教室

(主任: 古田 精市教授)

Appearance of Gastric Phenotypes and Organoid Structure in Gastric Cancer of Differentiated Type

Yoshiyuki NAKAMURA

Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Seiichi FURUTA)

Fifty-seven cases of differentiated or intestinal type carcinoma of the human stomach were studied by employing a battery of histochemical techniques to characterize mucins and antigens such as lysozyme and secretory components. Carcinoma cells were classified into 6 types largely depending on their histochemical properties. They were surface mucous cell-type, mucous neck cell-pyloric gland cell-type, absorptive cell-type, goblet cell-type, Paneth cell-type and unclassified cell-type. In 35 cases, the histochemical staining demonstrated the presence of carcinoma cells containing gastric type mucins. In 55 cases, carcinoma tissues revealed organoid differentiation, in which carcinoma cells with properties of covering epithelial cells occupied the upper region of the mucosa and those with properties of gland mucous cells the lower region. This structure was found only in the mucosa. These results indicated that differentiated or intestinal type carcinoma of the stomach consisted of tumor cells showing not only intestinal phenotypes but also gastric phenotypes and revealed organoid differentiation as did signet ring cells. *Shinshu Med. J.*, 39: 731-744, 1991

(Received for publication May 28, 1991)

Key words: gastric cancer, mucin histochemistry, gastric phenotypic tumor cell, organoid structure
胃癌, 粘液組織化学, 胃粘膜型形質, 類器官様構造

I 緒 言

胃癌は、1965年、Lauren¹⁾によって組織学的に intestinal type と diffuse type の2型に分類された。わが国では、中村ら²⁾により分化型と未分化型に分類されたが、前者はLaurenのintestinal typeに、また後者はdiffuse typeにそれぞれ相当する。中村ら³⁾、Nakamuraら³⁾は、分化型胃癌では腸上皮の性格を示す腫瘍細胞がしばしば出現し、癌の周囲の粘膜には腸上皮化生が広範に認められたことから、このタイプの

胃癌は化生上皮を足場として発生するとし、一方、未分化型癌については、その周囲の胃粘膜が胃固有粘膜のままであることが多いなどの理由から、このタイプの胃癌は固有粘膜から発生したと結論づけ、前者に腸型、後者に胃型の別称を与えた。しかし、すでに一部報告したように⁴⁾、腫瘍細胞の表現形質を組織化学的な観点から検討してみると、分化型腺癌の腫瘍細胞には明らかに胃粘膜の形質を発現しているものがあり、中村ら²⁾、Nakamuraら³⁾の仮説には疑問が残されている。著者ら⁴⁾は癌組織が非癌粘膜を模倣したような

分化を示す類器官様構造についてすでに報告してきたが、今回、分化型胃癌における胃型形質の発現とその臨床病理学的な意義についてさらに検討を加えた。

II 材料と方法

信州大学医学部附属病院中央検査部および一部関連施設にて診断した早期胃癌切除例のうち分化型腺癌57例を対象とした。切除標本は10%中性緩衝ホルマリン液にて固定し、その後切除胃全体を5 mm幅の短冊状に切り出し、通常の方法にてパラフィン包埋し、3 μm に薄切を行い、ヘマトキシリン・エオジン染色標本にて癌の組織型、広がり、深達度を判定した。57例の内訳は日本内視鏡学会分類⁹⁾による肉眼分類で、I:隆起型6例, II a:表面隆起型16例, II b:表面平坦型2例, II c:表面陥凹型32例, III:陥凹型1例であり、胃癌取り扱い規約⁹⁾による組織型では、乳頭腺癌(pap)13例, 高分化型管状腺癌(tub₁)25例, 中分化型管状腺癌(tub₂)19例で、癌の存在部位では、腸上皮化生を伴った幽門腺領域に34例, 中間腺領域に9例, 胃底腺領域に8例, 噴門腺領域に1例, 腸上皮化生を伴わない幽門腺領域に3例, 胃底腺領域に2例であり、病巣の大きさでは10mm未満の小胃癌8例, 40mm以上の表層拡大型胃癌12例, 両者の中間群37例で、深達度ではm癌29例, sm癌28例であった。

癌細胞の表現形質を組織化学的な立場から観察する目的で、各病変の中央を通るブロックより3 μm の連続切片を作成し、以下の染色を行った。上皮性粘液細胞のapical cytoplasmに含まれる粘液については上皮性ムチンとして、また、腸管の吸収上皮表面にみられるPASに強く反応するいわゆる糖衣をsurface coatとしてそれぞれ区別して扱った。なお、粘液とはムコ物質を多量に含む流動性に富む液体の総称であるが、この論文では粘液染色に反応する糖質全体をさす一般名として使用した。

A 糖組織化学的染色

1 Alcian blue pH 2.5-periodic acid-Schiff (AB-PAS) 重染色⁷⁾

粘液を検出し、中性粘液と酸性粘液に分類するために行った。なお、以下alcian blueはChroma (Koenig, Germany)の、basic fuchsinは和光純薬(大阪)の製品を使用した。

2 High iron diamine-alcian blue pH 2.5 (HID-AB) 重染色⁷⁾⁸⁾

酸性粘液の検出に使用し、スルフォムチン、シアロ

ムチンに分類した。N, N-dimethyl-*m*-phenylenediamine-dihydrochlorideは関東化学(東京)の、また、N, N-dimethyl-*p*-phenylenediamine-monohydrochlorideはSigma (St. Louis, Missouri, U. S. A.)の製品を使用した。

3 Galactose oxidase-Schiff (GOS) 反応⁹⁻¹¹⁾

糖鎖末端の β -galactose, および β -N-acetylgalactosamineの検出を行うために行った。Galactose oxidaseはSigma製(type V)を用いた。

4 Periodic acid-sodium borohydride-potassium hydroxide-periodic acid-Schiff (PA-SB-PH-PAS) 反応⁹⁾¹²⁾

C7-8-9上にO-acetyl基を有するシアル酸の検出に使用した。陽性対照としてヒト大腸切除例から得られた正常粘膜の3 μm 厚パラフィン切片を用いた。

5 Paradoxical concanavalin A 染色(PCS)¹³⁾

胃粘膜の噴門腺上皮, 副細胞, 幽門腺上皮を検出する目的でIII型粘液の染色を行った。Concanavalin AはSigma製(type IV)を、horseradish peroxidaseはSigma製を用い、発色に和光純薬の3,3'-N-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)を使用した。

6 *Griffonia simplicifolia* agglutinin-II (GSA-II) 染色

GSA-IIはPCS III型粘液に強い親和性を示す。染色法はすでに報告された方法⁹⁾にしたがった。GSA-IIはE. Y. Laboratory Institute (San Mateo, U. S. A.)製を20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で使用しDABで発色した。

B 免疫組織化学的染色

酵素抗体法(PAP法)¹⁴⁾を用いてsecretory componentおよびlysozymeについて検索を行った。一次抗体はそれぞれDAKO (Santa Barbara, California, U. S. A.)製のウサギ抗ヒトsecretory component抗体およびウサギ抗ヒトlysozyme抗体を1,000倍に希釈し使用し、二次抗体はDAKO製のブタ抗ウサギ抗体を用いた。なお、脱パラフィン後の切片を0.3%過酸化水素加メタノールに30分浸漬して内因性ペルオキシダーゼを失活させた。発色はDABで行った。

なお、この研究における有意差の判定は χ^2 検定で行った。

III 結果

A 非癌部粘膜の粘液組織化学的検討

表層粘液細胞は胞体内に中性粘液を有し、強い

Table 1 Histochemical properties of six types of carcinoma cells and their normal counterparts

	Surface mucous cell-type	Mucous neck cell-pyloric gland cell-type	Absorptive cell-type	Goblet cell-type	Paneth cell-type	Unclassified cell-type
AB-PAS	red or purple	red or purple	blue purple	blue purple	-	variable
HID-AB	- or blue	variable	blue or black	blue or black	-	variable
GOS	+++	±	±	±	-	-
PA-SB-PH-PAS	-	-	-	- or +	-	-
PCS	-	+++	-	-	-	-
GSA-II	-	+++	-	-	-	-
Sc	+	-	+	-	-	-
Lysozyme	-	±	-	-	+++	-
Normal counterparts	Surface mucous cell	Mucous neck cell Pyloric gland cell	Absorptive cell	Goblet cell	Paneth cell	Not found

GOS: Galactose oxidase-Schiff, PA-SB-PH-PAS: Periodic acid-sodium borohydride-potassium hydroxide-periodic acid-Schiff, PCS: Paradoxical canavalin A staining, GSA-II: *Griffonia simplicifolia* agglutinin-II staining, Sc: Secretory component

Table 2 Frequency of the types of carcinoma cells

	Surface mucous cell-type	Mucous neck cell-pyloric gland cell-type	Absorptive cell-type	Goblet cell-type	Paneth cell-type	Unclassified cell-type
Total	12	29	53	30	6	57
Macroscopic classification						
I	2	3	6	2	0	6
II a	6	6	15	9	1	16
II b	0	2	2	2	1	2
II c	4	18	29	17	4	32
III	0	0	1	0	0	1
Histological classification						
pap	4	5	13	5	1	13
tub ₁	5	14	23	18 ^a	4	25
tub ₂	3	10	17	7	1	19

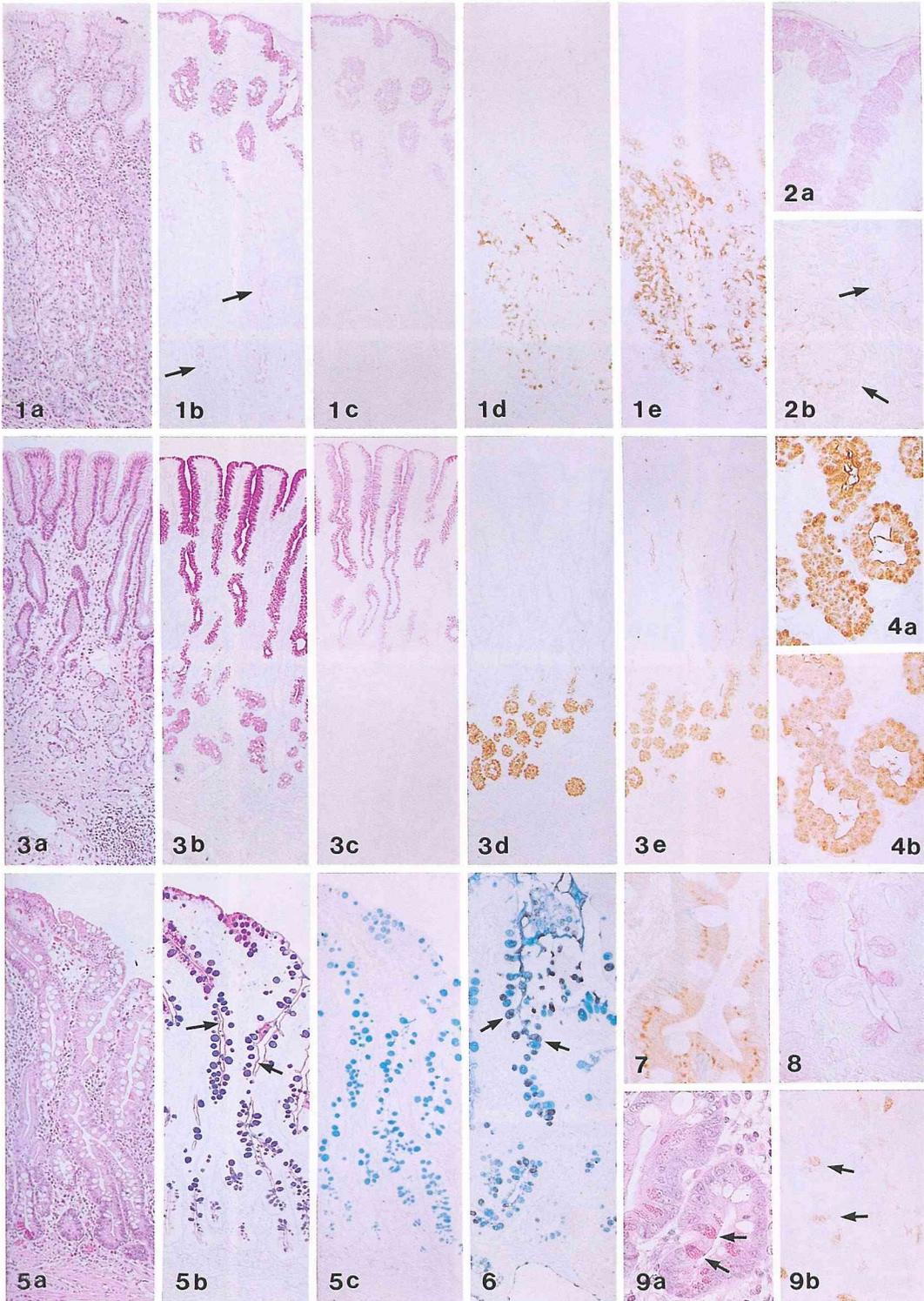
^a: p<0.01 from other histological type

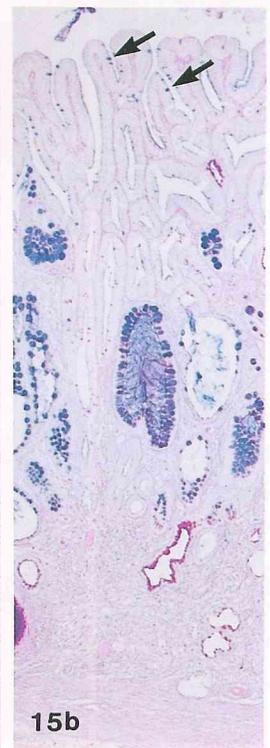
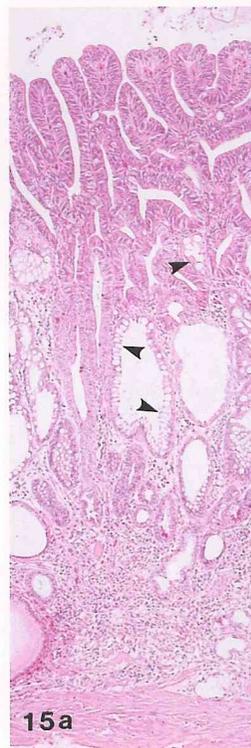
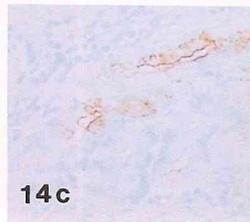
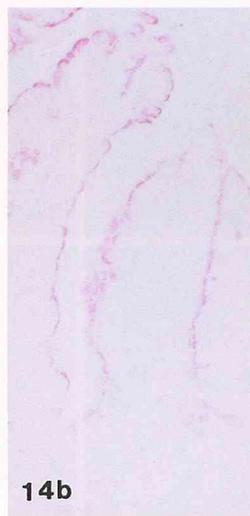
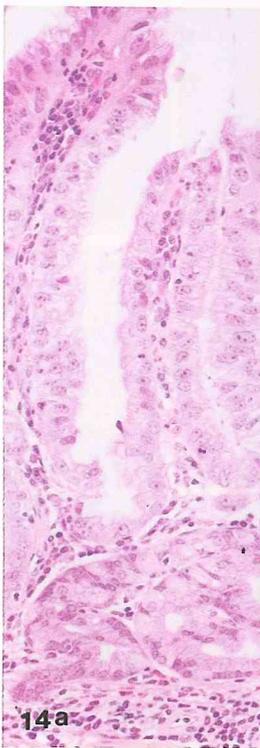
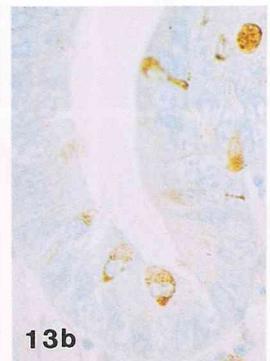
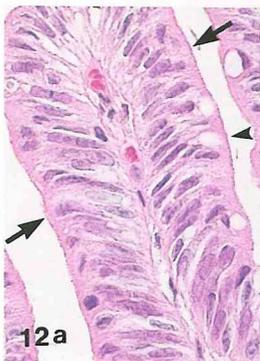
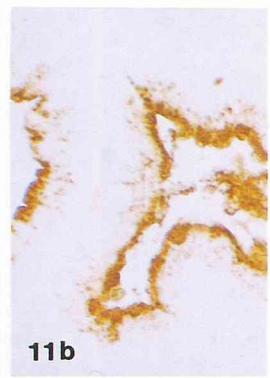
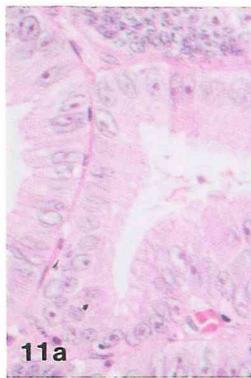
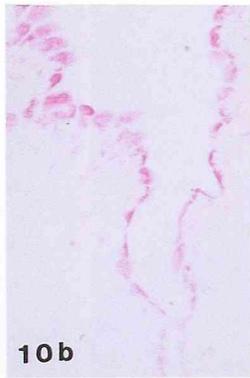
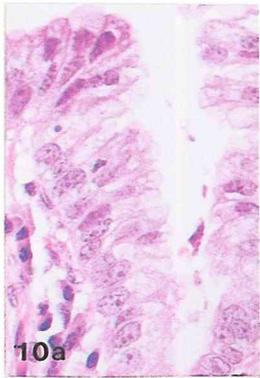
GOS 反応性を示し, secretory component は時に胞体内に微細顆粒状に弱陽性に認められる場合があるが, PCS, GSA-II, lysozyme に対する反応性はみられなかった (Fig. 1-3)。噴門腺上皮, 副細胞と幽門腺上皮は胞体内に中性粘液を含み, PCS ではIII型の反応性を示し, GSA-IIに親和性を示した (Fig. 1, 3, 4)。ただ, 副細胞については, 粘膜の上方に位置しているものほど AB-PAS でしばしば青紫色, HID-AB で淡灰

色を呈し, 酸性粘液, 特にスルフォムチンを含んでいる可能性が示唆された。なお, GSA-II 反応性はこれらの腺上皮型粘液細胞以外にもしばしばみられたが, その場合, 反応性は核上部の Golgi 野に限局していた。化生粘膜に残存する幽門腺上皮はしばしば酸性粘液, 特にスルフォムチンに対する反応性を示した。GOS 反応性はみられないかきわめて微弱であった。幽門腺上皮は lysozyme が顆粒状に陽性となる場合があるが,

-
- Fig. 1 Normal fundic mucosa. Fig. 1a, 1b, 1c, 1d and 1e were prepared from the serial sections.
 a: Hematoxylin-eosin (HE) stain, $\times 57$
 b: The surface mucous cells are stained more intensely for AB-PAS than mucous neck cells (arrows). Note that mucous cells almost lack alcianophilia. Alcian blue pH 2.5-periodic acid-Schiff (AB-PAS), $\times 57$
 c: Only the surface mucous cells reveal intense reactivity. Galactose oxidase-Schiff (GOS), $\times 57$
 d: The mucous neck cells stain for class III mucins. Paradoxical concanavalin A staining (PCS), $\times 57$
 e: The mucous neck cells reveal an affinity for *Griffonia simplicifolia* agglutinin-II (GSA-II). GSA-II-horseradish peroxidase (HRP) stain, $\times 57$
- Fig. 2 The surface mucous cells.
 a: The surface mucous cells exhibit GOS reactivity. Note that interstitial PAS reactive components such as the basement membrane lack this reactivity. GOS, $\times 228$
 b: Foveolar epithelia are stained faintly (arrows) for secretory component. Immunostain for secretory component, $\times 228$
- Fig. 3 Normal pyloric mucosa. Fig. 3a, 3b, 3c, 3d and 3e were prepared from the serial sections.
 a: HE, $\times 57$
 b: The surface mucous cells are stained intensely, whereas the pyloric gland cells react less intensely. AB-PAS, $\times 57$
 c: Only the surface mucous cells reveal intense reactivity. GOS, $\times 57$
 d: The pyloric gland cells are stained selectively. PCS, $\times 57$
 e: The pyloric gland cells are stained selectively. GSA-II-HRP, $\times 57$
- Fig. 4 Higher magnification of the pyloric glands.
 a: The gland mucous cells are stained intensely for class III mucins. PCS, $\times 228$
 b: The GSA-II reactivity is confined to the gland cells. GSA-II-HRP, $\times 228$
- Fig. 5 The gastric mucosa showing the complete type of intestinal metaplasia. Fig. 5a, 5b and 5c were prepared from the serial sections.
 a: HE, $\times 57$
 b: The goblet cells are stained intensely and show alcianophilia. Note that the cuticular border (arrows) also reveals PAS reactivity. AB-PAS, $\times 57$
 c: The goblet cells contain sialomucins almost exclusively. High iron diamine-alcian blue pH 2.5 (HID-AB) stain, $\times 57$
- Fig. 6 The incomplete type of intestinal metaplasia. Note that the goblet cells are stained either for sialomucins or sulfomucins (arrows). HID-AB, $\times 57$
- Fig. 7 Metaplastic cells are stained for secretory component. Immunostain for secretory component, $\times 228$
- Fig. 8 Metaplastic goblet cells contain 8-0-acetyl-N-acetylneuraminic acid. Periodic acid-sodium borohydride-potassium hydroxide-periodic acid-Schiff, $\times 228$
- Fig. 9 Paneth cells in metaplastic mucosa.
 a: The Paneth cells contain coarse granules (arrows). HE, $\times 228$
 b: The Paneth cells contain lysozyme (arrows). Immunostain for lysozyme, $\times 228$

分化型胃癌の胃粘膜型形質と類器官様構造





特に腸上皮化生に伴ってみられる萎縮した幽門腺では反応が強かった。腸上皮化生により出現する吸収上皮細胞の小皮縁はAB-PASで酸性粘液を有したが、完全型腸上皮化生では原則としてシアロムチンのみがみられ、不完全型ではスルフォムチンも同時に証明された (Fig. 5, 6)。Secretory componentはGolgi野に強い反応がみられ、管腔側の細胞質内に陽性であった (Fig. 7)。GOS反応ではsurface coatが弱陽性になる場合があった。杯細胞の粘液産生は粘液細胞型を示し、酸性粘液が大部分でスルフォムチン優位であった。大腸杯細胞に特徴的な8-0-acetyl-N-acetylneuraminic acid (8-0-Ac-NeuAc)を含む杯細胞 (Fig. 8)が37%の症例に認められた。Paneth細胞はエオジンに好染性のlysozymeに反応するやや大型の顆粒を胞体内に有するが、粘液産生はみられなかった (Fig. 9)。

以上の結果をTable 1に要約した。

B 癌細胞の分類

癌細胞は組織学的所見と各染色による特徴から以下の6種類に分類可能であり、臨床病理学的に検討した。

1 表層粘液細胞型 (surface mucous cell type) (Fig. 10)

明るい胞体を有する細胞で、粘液細胞型粘液産生を示し、主として中性ムチンを含んでおりGOS反応陽性である。

このタイプの腫瘍細胞は検討対象57例中の12例、21%にみられた。m癌、sm癌ともに認められたが、癌組織内では腺管の上部に観察され、1例を除き粘膜固有層内に限局して存在し、病巣内の一部にのみ認められることが多かった。

2 副細胞—幽門腺細胞型 (mucous neck cell-pyloric gland cell type) (Fig. 11)

PCS III型粘液を有する細胞で、GSA-IIに親和性を示した。中性ムチンが主であるが、シアロムチン、ス

Fig. 10 The surface mucous cell-type carcinoma cells. Fig. 10a and 10b were prepared from the serial sections, which were also used for Fig. 14.

a: Carcinoma cells have clear apical cytoplasm. HE, $\times 343$

b: Carcinoma cells reveal definite GOS reactivity. GOS, $\times 343$

Fig. 11 Carcinoma cells of the mucous neck cell-pyloric gland cell type. Fig. 11a and 11b were prepared from the serial sections.

a: Carcinoma cells have clear cytoplasm. HE, $\times 343$

b: Carcinoma cells are stained for class III mucins. PCS, $\times 343$

Fig. 12 Carcinoma cells of the absorptive cell and goblet cell types. Fig. 12a and 12b were prepared from the serial sections, which were also used for Fig. 15.

a: The apical surface of the absorptive cell type (arrows) possesses the cuticular border. An arrow head indicates the goblet cell type carcinoma cell. HE, $\times 343$

b: The cuticular border and the apical cytoplasm of goblet cell type reveal intense alcianophilia. AB-PAS, $\times 343$

Fig. 13 The Paneth cell type carcinoma cells.

a: This type of carcinoma cells contains coarse eosinophilic granules (arrows). HE, $\times 343$

b: They are stained for lysozyme. Immunostain for lysozyme, $\times 343$

Fig. 14 The organoid structure of complete pyloric mucosa type. Fig. 14a, 14b and 14c were prepared from the serial sections.

a: The carcinoma locates in the mucosa. HE, $\times 171$

b: Carcinoma cells occupying the upper region show the GOS reactivity. GOS, $\times 171$

c: Carcinoma cells containing class III mucins are restricted to the bottom region. PCS, $\times 171$

Fig. 15 The organoid structure of complete intestinal metaplasia type. Fig. 15a and 15b were prepared from the serial sections.

a: The carcinoma locates in the mucosa. The Paneth cell type carcinoma cells are observed in the lower part of crypts. Metaplastic epithelia remain in the lesion (arrowheads). HE, $\times 45$ cf. Fig. 12a and 13a.

b: Carcinoma cells show properties either of the absorptive cell (note alcianophilia of the apical surface) or goblet cell (arrows). PAS reactive glands in the bottom region are remained pyloric glands. AB-PAS, $\times 45$ cf. Fig. 12b.

ルフォムチンも認められた。また、lysozymeを淡い微細顆粒状に胞体内に有する場合が多かった。

PCS陽性細胞は57例中29例、51%に認められた。癌組織内では腺管の底部に多く観察され、症例によっては病巣の全長にわたり分布する場合もみられた。GSA-II陽性細胞は57例中51例89%で認められた。PCS陽性細胞はGSA-II陽性であったが、逆は必ずしも成立しなかった。GSA-II反応性は癌細胞のapical cytoplasm, surface coatに認められるほかGolgi野にしばしば限局して認められた。

3 吸収上皮細胞型 (absorptive cell type) (Fig. 12)

HE染色で小皮縁が観察され、粘液染色で小皮縁に一致してシアロムチンあるいはスルフォムチンの染色性を示すsurface coatが認められる癌細胞である。

この型の癌細胞は57例中53例、93%に認められた。Secretory componentはこの型の癌細胞の96%に証明された。粘膜内癌組織では腺管のほぼ全層にわたって存在していた。また、このタイプの腫瘍細胞は癌組織の中で広範囲に認められた。

4 杯細胞型 (goblet cell type) (Fig. 12)

HE染色では、胞体内に境界明瞭な空胞を有し、粘液染色でシアロムチンあるいはスルフォムチンに染色される。

57例中30例53%に認められ、粘膜内の癌組織内では腺管の全層にみられ、ほとんどの症例で吸収上皮型の癌細胞と混在していた。組織型では tub_1 に25例中18例と多く認められた。

杯細胞型癌細胞の中で8-0-Ac-NeuAc陽性の癌細胞は化生を伴う幽門腺領域のII c型、 tub_2 の1例にみられた。

5 Paneth細胞型 (Paneth cell type) (Fig. 13)

エオジン好性で、lysozymeを有する大型顆粒を管腔側細胞質内に有する。

57例中6例11%に認められ、全例が吸収上皮型癌細胞、杯細胞型癌細胞とともに存在し、腺管の底部に存在する場合が多かった。この型の細胞は病巣の一部に限局している場合が多かった。

6 分類不能型 (unclassified cell type)

上記1から5までの特徴的性質を示さないもの。

全症例に多少にかかわらず存在したが、この細胞のみで構成された癌組織は2例のみであった。

以上の結果をTable 1および2に要約した。

C 癌組織の類器官様構造 organoid structure

今回検索した胃癌57例中分類不能型癌細胞のみで構

成された2例を除く55例では粘膜内の癌組織の少なくとも一部には以下に述べるごとく非癌部粘膜に類似した腺管構造がみられた。

1 胃粘膜模倣型類器官様構造

a 完全幽門粘膜構造型 (complete pyloric mucosa type organoid structure) (Fig.14)

癌組織上層に表層粘液細胞型癌細胞が存在し、底部に副細胞—幽門腺細胞型癌細胞が認められるもの。

57例中11例19%に存在し、I型2例、II a型5例、II c型4例と、隆起型癌に高頻度で認められた。組織型、背景粘膜および腸上皮化生の有無によるこの型の構造の出現率には差がみられなかった。標本上では小範囲に出現する場合が多く、腫瘍の大きさ別では差がみられなかった。

b 不完全幽門粘膜構造型 (incomplete pyloric mucosa type organoid structure)

胃型の粘液を有する癌細胞が完全な胃粘膜を模倣するのではなく、腺窩内に表層粘液細胞型癌細胞、副細胞—幽門腺細胞型癌細胞のいずれか一方のみを認めるもので、表層粘液細胞型癌細胞は腺窩上部に、副細胞—幽門腺細胞型癌細胞は腺窩下部に存在する傾向がみられた。57例中12例21%に存在し、III型を除く各肉眼型に認められた。各組織型にみられ、大きさ別では小胃癌の8例中2例、中間群の37例中6例、表層拡大型の12例中4例に認められた。

2 腸上皮化生模倣型類器官様構造

a 完全腸上皮化生型構造 (complete intestinal metaplasia type organoid structure) (Fig. 15)

吸収上皮型癌細胞、杯細胞型癌細胞、Paneth細胞型癌細胞から構成され、完全型腸上皮化生に類似したもの。

57例中6例11%に認められ、肉眼型別ではII a型1例、II b型1例、II c型4例に、組織型ではpapに1例、 tub_1 に4例、 tub_2 に1例認められた。周囲非癌粘膜の腸上皮化生の有無および癌の存在領域に関係なく認められた。小胃癌、中間群に1例ずつみられたが、表層拡大型には12例中4例33%と多く認められた。

b 不完全腸上皮化生型構造 (incomplete intestinal metaplasia type organoid structure)

吸収上皮型癌細胞が時に杯細胞型癌細胞を伴い癌組織の腺管上部に認められ、腺底部に副細胞—幽門腺細胞型癌細胞あるいは分類不能型癌細胞が存在し、不完全型腸上皮化生に類似したもの。

57例中55例96%に認められ、肉眼型、深達度、組織

Table 3 Frequency of the types of organoid structure

Type	CPM	IPM	CIM	IIM	NOS	
Total	57	11	12	6	55	8
Macroscopic classification						
I	(6)	2	3	0	6	0
IIa	(16)	5	4	1	16	3
IIb	(2)	0	1	1	2	0
IIc	(32)	4	4	4	30	5
III	(1)	0	0	0	1	0
Histological classification						
pap	(13)	4	3	1	13	1
tub ₁	(25)	4	7	4	25	5
tub ₂	(19)	3	2	1	17	2
Depth of tumor invasion						
m	(29)	5	6	3	29	5
sm: in m	(28)	6	6	3	26	3
Area of background						
pyloric gl IM+	(34)	5	3	3	32	5
-	(3)	1	1	1	3	0
intermed gl IM+	(9)	2	2	1	9	1
-	(0)					
fundic gl IM+	(8)	2	6	1	8	2
-	(2)	1	0	0	2	0
cardiac gl IM+	(1)	0	0	0	1	0
-	(0)					
Diameter of lesion						
<10mm	(8)	1	2	1	7	1
10≤, <40mm	(37)	8	6	1	37	6
40mm≤	(12)	2	4	4 ^a	11	1

^a: p<0.05 from other diameter

CPM: Complete pyloric mucosa type, IPM: Incomplete pyloric mucosa type, CIM: Complete intestinal metaplasia type, IIM: Incomplete intestinal metaplasia type, NOS: No organoid structure, gl: gland, IM: Intestinal metaplasia, intermed: intermediate

型によるこの型の構造の出現率に差は認められず、背景粘膜による差もみられなかった。腫瘍の大きさ別ではその頻度に差はなかったが、標本上でこの型の構造は広範囲にみられる場合が多かった。

3 類器官様構造欠如型 (no organoid structure type)

分類不能型癌細胞のみで癌腺管が形成され、類器官様構造を欠くもの。

57例中、8例14%に認められた。肉眼分類では、II a型3例、II c型5例、組織型分類ではpap 1例、tub₁ 5例、tub₂ 2例、深達度別ではm癌5例、sm癌3例であった。存在部位別では化生を伴った胃底腺領域に2例、中間腺領域に1例、幽門腺領域に5例みら

れた。

以上の結果を Table 3 に要約した。

D 粘膜下層への浸潤と各癌細胞、類器官様構造との関係

sm癌における腫瘍の浸潤部位による各型の癌細胞の出現頻度をみると表層粘液細胞型、副細胞—幽門腺細胞型、杯細胞型の癌細胞は粘膜下層での出現頻度が低く、Paneth細胞型癌細胞は粘膜下層にはみられなかった。吸収上皮型癌細胞は粘膜下層においてもしばしば観察された。一方、粘膜下層へ浸潤している部位では類器官様構造は認められなかった。粘膜筋板はsm癌28例中12例ではsm浸潤部においても多少にか

かわらず保たれていたが、他の16例では完全に消失していた。粘膜筋板が完全に消失した部位では粘膜固有層に当たる部分の癌組織にも副細胞—幽門腺細胞型癌細胞が認められることはなく、同型の癌細胞を伴った型の類器官様構造は認められなかった。

IV 考 察

非癌胃粘膜上皮の構成細胞は粘液組織化学的に識別が可能であり、その染色性は従来の報告^{9)13)19)~19)}にほぼ一致していた。癌細胞の染色性を非癌細胞の染色性と対比すると、従来、腸型と呼ばれてきた胃の腺管形成性の腺癌には、胃上皮の性格を示す癌細胞が多く含まれていることが明らかになった。さらに、すでに Akamatsu と Katsuyama²⁰⁾が報告している未分化型癌における癌細胞の類器官様層状分化と同様の構造が分化型癌においても存在することが証明された。

著者は今回の研究で、主として粘液組織化学的な立場から、分化型胃癌の癌細胞を正常消化管上皮と比較して6種類に分類した。この分類は、Katsuyamaら⁹⁾、勝山ら¹⁹⁾、Akamatsu と Katsuyama²⁰⁾および Tatematsuら²¹⁾が未分化型癌で示してきた分類から microcyst 型を除き、吸収上皮型と Paneth 細胞型を加えたものに相当する。この中で、未分化型癌における microcyst 型癌細胞は、以下の理由で分化型癌における吸収上皮型あるいは表層粘液細胞型癌細胞と癌細胞の表現型として類似の意義を有すると考えられる。すなわち、Akamatsu と Katsuyama²⁰⁾は、粘膜内に増殖した microcyst 型印環細胞は主として被蓋上皮型癌細胞の分布する粘膜の表層部に出現すると述べ、この型が被蓋上皮の性格を示す癌細胞である可能性を示唆している。また、電顕的に microcyst の内面には微絨毛が観察され、一部には粘液顆粒を有するものもみとめられている²²⁾。一方、Paneth 細胞型の癌細胞は未分化型癌でも認められており²³⁾²⁴⁾、癌細胞の表現型には、未分化型癌と分化型癌の間に本質的な差がないと言える。なお、今回著者は、Katsuyamaら⁹⁾、勝山ら¹⁹⁾、Akamatsu と Katsuyama²⁰⁾および Tatematsuら²¹⁾により用いられていた染色に加え、III型粘液に対する GSA-IIによる染色、および副細胞—幽門腺細胞に証明される lysozyme、吸収上皮に豊富に存在する secretory component に対する免疫染色を行って、癌細胞の分類を再確認することができた。ただし、GSA-IIは正常粘膜でみられたように、副細胞、幽門腺細胞以外にも各種細胞の Golgi 野と反応するので、

GSA-II陽性のみで副細胞—幽門腺細胞型癌細胞と判断することは不適當であるが、PCSと併用すればIII型粘液の検出には便利な方法と思われる。また、lysozymeは副細胞—幽門腺細胞においてはGSA-IIとほぼ同様の染色態度を示し、淡い反応性の場合が多いが、PCSとの併用により副細胞—幽門腺細胞の同定に有用と思われる。Secretory componentはHE、AB-PASにより小皮縁の観察された細胞に証明され、吸収上皮型癌細胞の検出には有用である。

6種類の癌細胞の表現型の中で、著者が胃上皮型と考えた細胞は次の2種類である。すなわち、表層粘液細胞型とした癌細胞は粘液細胞で、非癌部粘膜の表層粘液細胞と同様にGOS陽性であること、粘膜内癌組織では常にその表層を縁どるように分布していることなどの理由から表層粘液細胞への分化を示す癌細胞と考えられる。従来の報告では、かつて吉井²⁵⁾が、高円柱状で一様に粘液顆粒を含有し、小皮縁を有さず、胃表面上皮に類似しているとして表面上皮型と呼んだ癌細胞や、Sasanoら²⁶⁾が電子顕微鏡による観察で特徴的な分泌顆粒の存在により surface epithelium typeと呼んだ癌細胞、さらに Fioccaら²⁷⁾がその形態とAB-PASで中性粘液を有することから gastric foveolar cellと呼んだ細胞、石黒²⁸⁾がその形態とAB-PASで中性粘液を有することから胃腺窩上皮型癌と呼んだ癌の構成細胞などがあり、著者の言う癌細胞もこれらにほぼ相当する。

一方、III型粘液を有する癌細胞は副細胞—幽門腺細胞へ分化していると考えられ、従来の未分化型癌における研究^{9)19)~21)}でもIII型粘液は同様に評価されている。この癌細胞は、吉井²⁵⁾が粘液顆粒を含有して明るい泡沫状の原形質を有する類円形あるいは円柱状の癌細胞で房状腺のような構造を呈し、細胞の粘液が大部分PAS陽性でalcian blueにそまらず、幽門腺の粘液に似た性質を示すとして呼んだ偽幽門腺型癌細胞、Sasanoら²⁶⁾が電子顕微鏡に粘液分泌顆粒と主細胞の分泌顆粒に似た顆粒の存在から呼んだ pyloric gland cell type、Fioccaら²⁷⁾がPAS陽性とPCS陽性の粘液性状から呼んだ mucoprotein cell、Tatematsuら²⁹⁾がPCS、pepsinogen I、IIより呼んだ mucous neck cell type、および pyloric gland cell type に当たると考えられる。ただし、副細胞—幽門腺細胞も、その表現型をとる癌細胞も少なからず酸性粘液を有しており、AB-PASによる染色性のみから幽門腺との類似を論ずることは不適當と考えられる。

以上のごとく、分化型癌に胃上皮の性格を示す癌細胞が出現することが明らかになったがこのことは次の2つの意味を持っている。第1に、Lauren¹⁾によるintestinal type, 中村ら²⁾の腸型胃癌なる分類名の提案以来、腸上皮化生粘膜から発生するものと信じられがちであった分化型胃癌の組織発生を新しい観点から考える必要性を示唆している。第2に、分化型胃癌に出現する胃上皮型癌細胞の臨床病理学的な意義を追求することにより、分化型胃癌に対する理解に新しい展開がひらける可能性がある。分化型胃癌の組織発生については従来、分化型腺癌が腸型と呼ばれ、腸上皮化生粘膜を足場として発生したと考えられてきた。その理由は、杯細胞や吸収上皮のように明らかに腸上皮の性格を有する癌細胞がしばしば観察されることと、癌周囲粘膜に一般的に腸上皮化生が観察されることの2点であろう。さらに、胃上皮型の表現形質を同定することが困難であったことも上述のような推論が行われた原因と考えられる。今回の研究では、分化型癌においても胃上皮の形質発現を示す癌細胞が高い頻度で出現することが証明され、さらに背景粘膜に腸上皮化生が認められなかった癌でも腸上皮型癌細胞が認められた。一般に、ヒトでは大腸粘膜、小腸粘膜に被蓋上皮、腺上皮をともに備えた胃粘膜への化生はみられず、大腸癌における胃粘膜型粘液の産生を検討した研究³⁰⁾でもその報告がなく、いまままでに小腸癌における報告もみられない。したがって、仮に化生上皮を足場とし、腸上皮の性格を示す癌細胞からなる胃癌が発生した場合、その組織内に、胃上皮型癌細胞のみで構成された癌腺管が出現する可能性を想定するのは難しい。胃上皮型癌細胞を含む癌は、胃上皮の形質発現を保った粘膜、すなわち、胃固有粘膜、あるいは不完全型腸上皮化生を伴う粘膜から発生すると考えざるを得ない。このような症例における腸上皮型形質の発現は、背景粘膜で観察される胃上皮の腸上皮化生のように、癌細胞自身の腸上皮化生の結果と思われる。分化型腺癌細胞の腸上皮との類似性を強調した腸型なる呼称¹¹⁻²⁰⁾³¹⁾³²⁾は、粘液組織化学的な面からは不適当と考えられる。

今回の研究で分化型癌を構成する多種類の癌細胞は粘膜内でただ雑然と増殖しているのではなく、癌腺管内では非癌胃粘膜の腺管を模倣するようにそれぞれの癌細胞が分布していることが明らかとなった。このように異なった形質発現を示す癌細胞が規則的に配列して正常腺管を模倣するような配列を示す現象を類器官様分化、その結果生ずる構造を類器官様構造と呼ぶこ

とにしたが、未分化型癌における同様な癌細胞の分布をAkamatsuとKatsuyama²⁰⁾はintramucosal laminated structureと呼んでいる。今回検討した分化型胃癌57例中55例に類器官様構造が観察され、類器官様構造は分化型腺癌では普遍的にみられる構造と言える。類器官様構造を示す癌腺管内では、分裂能力を有する癌細胞の腺管内での位置によって、その細胞が供給する未熟な癌細胞の分化の方向性が決定され、類器官様構造が形成されるものと思われる。類器官様構造の形成機転をさらに追求するためには、今後、類器官様構造と³H-thymidineあるいはBrdUなどで標識される細胞と類器官様構造との関連について検討を重ねる必要がある。

類器官様構造は分化型癌でも未分化型癌と同様に粘膜内でのみ観察された。この結果は、より未分化な癌細胞が粘膜下に選択的に進展したことを反映しているのかも知れない。粘膜下層への浸潤を伴った症例に着目すると、粘膜内での副細胞—幽門腺細胞型癌細胞を伴った類器官様構造は粘膜筋板の保たれた部位のみ出現しており、類器官様構造と粘膜筋板の保持が密接に関連することを示しているが、その理由については現段階では明らかではない。AkamatsuとKatsuyama²⁰⁾は未分化型癌の癌病巣内における粘膜筋板の消失は、肉眼的に同部に皺皺の集中などが認められることから潰瘍の経過を意味しているとして、潰瘍による層状構造の乱れが粘膜下への浸潤を促すと考察している。しかし、陥凹型が大部分を占め、潰瘍を作る頻度の高い未分化型癌と異なって、分化型癌でよくみられる隆起型の病変における粘膜筋板保持と類器官様構造の関係については、彼らの未分化型癌からの推論と別個に考える必要があるものと思われる。

分化型胃癌における粘膜内癌組織の類器官様構造については、石黒²⁸⁾により、胃腺窩上皮類似性より胃腺窩上皮型癌と呼ばれた34例が報告されている。胃腺窩上皮型癌にみられる癌細胞の特徴として形態のほか、大多数の症例で中性粘液を含むことをあげ、CEA, lysozymeの局在から腺管の極性を捉えている。著者が胃粘膜模倣型類器官様構造とした現象を観察しているものと思われるが、今回の研究では、GOS陽性細胞が必ずしも中性粘液を含むとは限らず、また、彼はPCS染色を行っていないので腺上皮の識別が難しく、細胞単位での各種粘液あるいは抗原の分布を正確に判定することは困難であったものと推測される。Fioccaら²⁷⁾は未分化型癌、進行癌を含めた148例を検討して、

AB-PAS から同定した foveolar cell, PCS から同定した mucoprotein cell の局在から“organoid”と表現される癌細胞の分布が存在し、分化型癌にもみられると述べているが、詳細な検討は行われていない。また、丸山と土屋³³⁾、丸山ら³⁴⁾は secretory component, CEA, リゾチームの小窩細胞、腺細胞に対する反応性を利用して胃癌組織型と胃粘膜構築について報告している。

癌細胞の各表現型の中で癌組織の進展との関連が明らかであったのは副細胞—幽門腺細胞型と Paneth 細胞型で、いずれも長径の大きな症例に高い頻度で認められた。このような機能的に高度に分化した表現型に属する癌細胞は、その成熟度から増殖、浸潤能力は低いものと考えられる。したがって、癌腺管底部に副細胞—幽門腺細胞型癌細胞が分布する幽門腺粘膜模倣型と不完全腸上皮化生型、さらに Paneth 細胞型癌細胞が同様な分布を示す完全腸上皮化生型の類器官様構造を形成しつつ増殖する癌組織は、側方へ進展する傾向が強いと推定される。

特徴的な分化を示す癌細胞は、吸収上皮型癌細胞を除き、大多数が粘膜内の癌組織に限って存在した。勝山ら³⁵⁾、Akamatsu と Katsuyama²⁰⁾は、未分化型癌では特定の表現型を示す癌細胞は粘膜下でもかなりの頻度で認められることを報告しており、この点で分化型癌と未分化型癌には明らかな差がみられることになる。類器官様構造の各型別の出現頻度は完全腸上皮化生型構造が表層拡大型に多いという点を除けば、肉眼型、組織型、深達度、大きさ、背景粘膜による差はみられなかった。このことは、類器官様構造の種類が異なっても分化型癌としての性格に差がないことを示しており、伝統的な分化型、未分化型の分類の正当性を間接的に支持する結果である。

生検標本、あるいはストリップバイオプシー材料でも、癌細胞の表現型や類器官様構造は容易に同定できるので、今後、さらに臨床的な意義や内視鏡所見との

関連を検討する予定である。

V 結 語

早期胃癌、分化型腺癌57例を対象とし、主として粘液組織化学的手法を用い癌細胞の分化の方向性を検討し以下の結論を得た。

- 1 癌細胞をその表現形質から表層粘液細胞型、副細胞—幽門腺細胞型、吸収上皮細胞型、杯細胞型、Paneth 細胞型、分類不能型の6型に分類した。その結果、57例中35例の分化型腺癌に胃上皮型の形質発現を示す癌細胞が確認できた。
- 2 腸上皮化性のない粘膜を背景とした癌組織にも腸上皮型の形質を示す癌細胞が認められ、その逆もみられた。これらの結果は分化型胃癌は腸上皮化生粘膜から発生するとの仮説を否定する結果と考えられる。
- 3 57例中55例で、粘膜固有層内では非癌部粘膜を模倣した癌細胞の類器官様分化が認められた。
- 4 癌組織の類器官様構造には粘膜固有層という場が重要な役割をはたしていると考えられた。
- 5 分化型、未分化型の型分類は細胞分化の面では本質的な差がみられないが、浸潤様式など臨床病理学的な違いが存在し、従来の分類の正当性も支持された。

本論文の一部は、1987年9月、第46回日本癌学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、終始懇篤なる御指導、御校閲を賜りました信州大学第2内科学教室古田精市教授、信州大学臨床検査医学教室金井正光教授、勝山 努助教授に深く感謝の意を表します。さらに、本研究を御援助下さった信州大学臨床検査医学教室、信州大学附属病院中央検査部、松本市医師会医療センターの方々へ心より厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Lauren, P.: The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand, 64: 31-49, 1965
- 2) 中村恭一, 菅野晴夫, 高木国夫, 熊倉賢二: 胃癌組織発生の概念. 胃と腸, 6: 849-861, 1971
- 3) Nakamura, K., Sugano, H. and Takagi, K.: Carcinoma of the stomach in incipient phase: Its histogenesis and histological appearances. Gann, 59: 251-258, 1968
- 4) 中村喜行, 赤松泰次, 中山 淳, 太田浩良, 江原孝史, 勝山 努: 分化型早期胃癌の細胞分化の方向性と臨床所見との関連性について. 日本癌学会記事(第46回), pp. 510, 1987

- 5) 田坂定孝：早期胃癌の全国集計. *Gastroenterol Endosc*, 4: 4-11, 1962
- 6) 胃癌研究会編：胃癌取り扱い規約（改訂第11版），金原出版，東京，1985
- 7) Spicer, S. S., Horn, R. G. and Leppi, T. J.: Histochemistry of connective tissue mucopolysaccharides. In: Wagner, B. M. and Smith, D. E. (eds.), *The Connective Tissue*, pp. 251-303, Williams and Wilkins, Baltimore, 1967
- 8) Spicer, S. S.: Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. *J Histochem Cytochem*, 13: 211-234, 1965
- 9) Katsuyama, T., Ono, K., Nakayama, J. and Kanai, M.: Recent advances in mucosubstance histochemistry. In: Kawai, K. (ed.), *Gastric mucus and mucus secreting cells*, pp. 3-18, Excerpta Medica, Amsterdam, 1985
- 10) Katsuyama, T., Ono, K. and Nagata, T.: Application of galactose oxidase to mucosubstance histochemistry. Galactose oxidase-Schiff reaction. *J Histochem Cytochem*, 30: 555 (Abstract), 1982
- 11) Schulte, B. and Spicer, S. S.: Light microscopic histochemical detection of terminal galactose and N-acetylgalactosamine residues in rodent complex carbohydrates using a galactose oxidase-Schiff sequence and peanut lectin-horseradish peroxidase conjugate. *J Histochem Cytochem*, 31: 19-24, 1983
- 12) Culling, C. F. A. and Reid, P. E.: The histochemistry of colonic mucins. *J Histochem Cytochem*, 27: 1177-1179, 1979
- 13) Katsuyama, T. and Spicer, S. S.: Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. *J Histochem Cytochem*, 26: 233-250, 1978
- 14) Sternberger, L. A., Hardy, P. H., Cuculis, J. J. and Meyer, H. G.: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (Horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem*, 18: 315-333, 1970
- 15) 堤 寛, 名倉 宏, 三方淳男：胃粘膜腸上皮化生の免疫組織化学的ならびに粘液組織化学的検討. *消化器と免疫*, 8: 65-70, 1982
- 16) Reitamo, S., Reitamo, J. J., Sipponen, P. and Klockars, M.: The distribution of lysozyme in human gastric mucosa in inflammatory and neoplastic disorders. *Acta Pathol Microbiol Scand [A]*, 87: 451-456, 1979
- 17) Matsukura, N., Suzuki, K., Kawachi, T., Aoyagi, M., Sugimura, T., Kitaoka, H., Numajiri, H., Shiota, A., Itabashi, M. and Hirota, T.: Distribution of marker enzymes and mucin in intestinal metaplasia in human stomach and relation of complete and incomplete types of intestinal metaplasia to minute gastric carcinomas. *J Natl Cancer Inst*, 65: 231-240, 1980
- 18) 勝山 努, 塚原正典, 那須 毅：コンキカナバリン A パラドックス染色法の消化管病理への応用 I. 幽門腺の分類. *医学のあゆみ*, 108: 303-306, 1979
- 19) 勝山 努, 山上 修, 滝沢 通, 羽田 悟, 土屋真一, 太田正穂：細胞診と細胞化学, 粘液組織化学を中心として, 山中 學, 村地 孝, 林 康之, 信田重光, 山田 喬, 天神美夫（編）, *臨床検査 Mook*, No. 21, 細胞診, pp. 10-27, 金原出版, 東京, 1985
- 20) Akamatsu, T. and Katsuyama, T.: Histochemical demonstration of mucins in the intramucosal laminated structure of human gastric signet ring cell carcinoma and its relation to submucosal invasion. *Histochem J*, 22: 416-425, 1990
- 21) Tatematsu, M., Katsuyama, T., Fukushima, S., Takahashi, M., Shirai, T., Ito, N. and Nasu, T.: Mucin histochemistry by paradoxical concanavalin A staining in experimental gastric cancers induced in Wistar rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline 1-oxide. *J Natl Cancer Inst*, 64: 835-843, 1980

- 22) Kondo, K., Tamura, H. and Taniguchi, H.: Intracellular microcyst in gastric cancer cells. *J Electron Microsc (Tokyo)*, 19: 41-49, 1970
- 23) Ohtani, H. and Sasano, N.: Ultrastructural immunolocalization of lysozyme in Paneth-like cells in undifferentiated (gastric)-type carcinoma of the stomach. *Acta Pathol Jpn*, 38: 861-871, 1988
- 24) 吾妻美子: 進行性胃癌におけるリゾチーム陽性細胞および Paneth 様細胞一特に組織分化との関連について一. *高知県立中央病院医学雑誌*, 12: 27-41, 1985
- 25) 吉井隆博: 胃の病理. 第3版, pp. 167-179, 医学図書出版, 東京, 1975
- 26) Sasano, N., Nakamura, K., Arai, M. and Akazaki, K.: Ultrastructural cell patterns in human gastric carcinoma compared with non-neoplastic gastric mucosa-Histogenetic analysis of carcinoma by mucin histochemistry. *J Natl Cancer Inst*, 43: 783-802, 1969
- 27) Fiocca, R., Villani, L., Tenti, P., Solcia, E., Cornaggia, M., Frigerio, B. and Capella, C.: Characterization of four main cell types in gastric cancer: Foveolar, mucopeptic, intestinal columnar and goblet cells. An histopathologic, histochemical and ultrastructural study of "early" and "advanced" tumours. *Pathol Res Pract*, 182: 308-325, 1987
- 28) 石黒信吾: 胃腺窩上皮型癌の意義—その組織発生と未分化型癌との関係—。大阪大学医学雑誌, 39: 507-515, 1987
- 29) Tatematsu, M., Ichinose, M., Miki, K., Hasegawa, R., Kato, T. and Ito, N.: Gastric and intestinal phenotypic expression of human stomach cancers as revealed by pepsinogen immunohistochemistry and mucin histochemistry. *Acta Pathol Jpn*, 40: 494-504, 1990
- 30) Ono, K. and Katsuyama, T.: Mucosubstance histochemistry of the normal mucosa and epithelial neoplasms of the large intestine. *Acta Pathol Jpn*, 35: 281-297, 1985
- 31) Jarvi, O. and Lauren, P.: On the role of heterotopias of the intestinal epithelium in the pathogenesis of gastric cancer. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 29: 26-44, 1951
- 32) Morson, B. C.: Carcinoma arising from areas of intestinal metaplasia in the gastric mucosa. *Br J Cancer*, 9: 377-385, 1955
- 33) 丸山雄造, 土屋真一: 胃癌組織型と胃粘膜構築. 日本癌学会総会記事 (第45回), pp. 464, 1986
- 34) 丸山雄造, 土屋真一, 松山郁生: CEA, SC, LZ をマーカーとした進行胃癌の解析と AFP 産生癌の位置付けに就いて. *臨床病理*, 36 [Suppl]: 136, 1988
- 35) 勝山 努, 塚原正典, 那須 毅: コンキカナバリン A パラドックス染色法の消化管病理への応用 II. ヒト胃癌における粘液産生について. *医学のあゆみ*, 111: 156-158, 1979

(3. 5. 28 受稿)