

胃内分泌細胞腫瘍における KIT 蛋白発現の検討

榎 本 剛 彦

新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野

(指導：畠山勝義教授)

Analysis of KIT Protein Expression in Endocrine Cell Tumor of the Stomach

Takehiko ENOMOTO

Division of Digestive and General Surgery,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Katsuyoshi HATAKEYAMA)

要 旨

胃内分泌細胞腫瘍には、低悪性度のカルチノイド、高悪性度の内分泌細胞癌、および中間悪性度の異型カルチノイドがある。本研究では、KIT 蛋白発現と胃内分泌細胞腫瘍群の発生・進展との関連、同蛋白が胃内分泌細胞腫瘍群の病理組織学的鑑別に有用なマーカーになりうるかどうか、を明らかにするため、カルチノイド 10 病変、異型カルチノイド 4 病変、内分泌細胞癌 24 病変を対象に、KIT 蛋白発現を免疫組織学的に検討した。通常型胃腺癌 50 病変（分化型 27 病変、低分化充実型 23 病変）を対照とした。KIT 蛋白発現は内分泌細胞癌の 79.2 % にみられたが、カルチノイド、異型カルチノイドでは同蛋白発現はみられなかった。内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現頻度は、対照とした通常型胃腺癌 50 例に比べ有意に高く（分化型で 18.5 %、低分化充実型で 4.4 %）、同蛋白発現は胃内分泌細胞腫瘍の中でも高悪性度の内分泌細胞癌に特異的なものであると考えられたが、同癌の KIT 蛋白発現率は腺癌随伴の有無で異なり、腺癌随伴内分泌細胞癌は純粋内分泌細胞癌に比べ有意に高値を示した（88.3 % vs 43.0 %）。前者では、腺癌部にも内分泌細胞癌部と同様に高頻度（70.6 %、12/17）に KIT 蛋白発現があり、随伴腺癌部と内分泌細胞癌部の同蛋白発現の有無は 82.4 %（14/17）が一致していた。内分泌細胞癌では p53 蛋白過剰発現も高頻度に認められたが（75.0 %）、KIT 蛋白発現との間に相関はなかった。以上のことから、KIT 蛋白発現は p53 蛋白過剰発現・遺伝子異常とは独立した機序として、胃内分泌細胞癌の組織発生（先行する腺癌が内分泌細胞癌に進展する過程）に関与し、カルチノイドや異型カルチノイドの発生・進展には関与していないことが想定されたが、KIT 蛋白発現陰性のカルチノイドまたは異型カルチノイドを経て、同蛋白陰性の内分泌細胞癌に至る経路も存在しうると考えられた。KIT 免疫染色を用いた KIT 蛋白発現の有無は、高悪性度の内分泌細胞癌と低悪性度のカルチノイドの病理組織学的鑑別のマーカーにはなりうるが、カルチノイドと中間悪性度である異型カルチノイドとの鑑別には、有用性は低いと考えられた。

キーワード：胃内分泌細胞腫瘍、内分泌細胞癌、カルチノイド、異型カルチノイド、KIT

Reprint requests to: Takehiko ENOMOTO
Division of Digestive and General Surgery
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野
榎 本 剛 彦

緒 言

胃内分泌細胞腫瘍は、組織学的に低異型度で生物学的にも低悪性度のカルチノイドと、高異型度で高悪性度の内分泌細胞癌とに大別される^{1)~3)}。カルチノイドは弱好酸性微細顆粒状細胞質と、円形~卵円形の均一小型核を持つ細胞の索状・リボン状・充実結節状胞巣からなり^{1)~6)}、核分裂像は希で、脈管侵襲やリンパ節・他臓器転移を来すことはほとんどなく、粘膜深層から粘膜下層を發育主座とする^{4)~6)}。一方内分泌細胞癌はクロマチンが粗造な大型異型核を持つ細胞から構成され、壊死巣や偽ロッド構造を伴う充実結節状胞巣やシート状胞巣からなり^{1)~6)}、多数の核分裂像がみられ、脈管侵襲やリンパ節・他臓器転移の頻度が高く、臨床的発見時には固有筋層に深に浸潤していることが多い^{4)~6)}。両者はHE染色標本による細胞・組織像、發育様式、核分裂像の多寡などから診断が可能であるが、時として鑑別困難な病変が存在することがある。また、組織学的にはカルチノイドと近似するが、内分泌細胞癌と同様に固有筋層に浸潤し、脈管侵襲や転移を来すものがあり、これらは異型カルチノイド⁶⁾⁷⁾と呼ばれる。カルチノイド、異型カルチノイド、内分泌細胞癌はそれぞれに生物学的悪性度が異なるため、臨床的にはこれらの厳密な鑑別が必要である。そのため、胃内分泌腫瘍の病理診断には、細胞増殖マーカーであるKi-67免疫染色やp53免疫染色などの補助的手段が用いられることがあるが⁴⁾⁶⁾、更に鑑別に有用なマーカーが望まれる。

カルチノイドと内分泌細胞癌はその組織発生や発生に関与する分子メカニズム・遺伝子異常も異なると推定されている。カルチノイドは胃上皮の幹細胞由来で内分泌細胞への分化能を獲得した幼若内分泌細胞から発生すると考えられている⁴⁾⁸⁾。一方、内分泌細胞癌は、充実結節状胞巣やシート状胞巣を形成する癌巣に分化型腺癌を併存することが多いことから、管状腺癌が先行発生し、腺癌細胞の異分化で出現した増殖能の高い腫瘍性内分泌細胞の増生により形成されると考えられている⁴⁾。前者の発生には多発性内分泌腫瘍1型(MEN1)

の原因遺伝子であるMEN-1遺伝子異常⁹⁾¹⁰⁾や*H.pylori*感染¹¹⁾が、後者の発生にはp53遺伝子異常の関与が⁶⁾¹²⁾想定されている。

KIT蛋白はc-kit遺伝子にコードされる受容体型チロシンキナーゼであり、stem cell factor (SCF)をリガンドとし、SCFと結合することで起きる受容体のリン酸化が細胞内への様々なシグナル伝達を調節している¹³⁾。正常組織では、KITは肥満細胞、メラノサイト、生殖細胞、消化管のカハール介在細胞、造血前駆細胞の分化・増殖に必須な役割を果たしている^{14)~16)}。その異常発現はGIST (gastrointestinal stromal tumor: 消化管間葉系腫瘍)¹⁷⁾¹⁸⁾、精上皮腫¹⁹⁾、悪性黒色腫¹⁹⁾などの発生に関与していると推定されているが、肺²⁰⁾²¹⁾、大腸²²⁾²³⁾、胃²³⁾、膀胱²⁴⁾、前立腺²⁴⁾、などの種々の臓器の内分泌細胞からなる腫瘍でも、比較的高頻度にKIT蛋白の発現がみられることが報告されている。

本研究では、KIT蛋白発現と胃内分泌細胞腫瘍群の発生・進展との関連、同蛋白が胃内分泌細胞腫瘍群の病理組織学的鑑別に有用なマーカーになりうるかどうか、を明らかにするため、胃内分泌細胞腫瘍を構成するカルチノイド、異型カルチノイド、内分泌細胞癌のKIT蛋白発現を免疫組織学的に検討した。また、内分泌細胞癌の発生に関与すると想定されているp53蛋白過剰発現についても併せて検討した。

材料と方法

1. 検討対象

カルチノイド10病変、異型カルチノイド4病変、内分泌細胞癌24病変を検討対象とした。カルチノイドと内分泌細胞癌の病理組織診断はWHOの組織分類¹⁾³⁾および胃癌取扱規規約²⁾に従った。異型カルチノイドは、通常のカルチノイドに比べ細胞異型や増殖活性が高いか、固有筋層まで浸潤しているもの⁶⁾とした(図1)。カルチノイドは内視鏡的切除例7例、外科切除例3例で、異型カルチノイド、内分泌細胞癌は全例外科切除例であった。対照は、外科切除例通常型胃腺癌50病

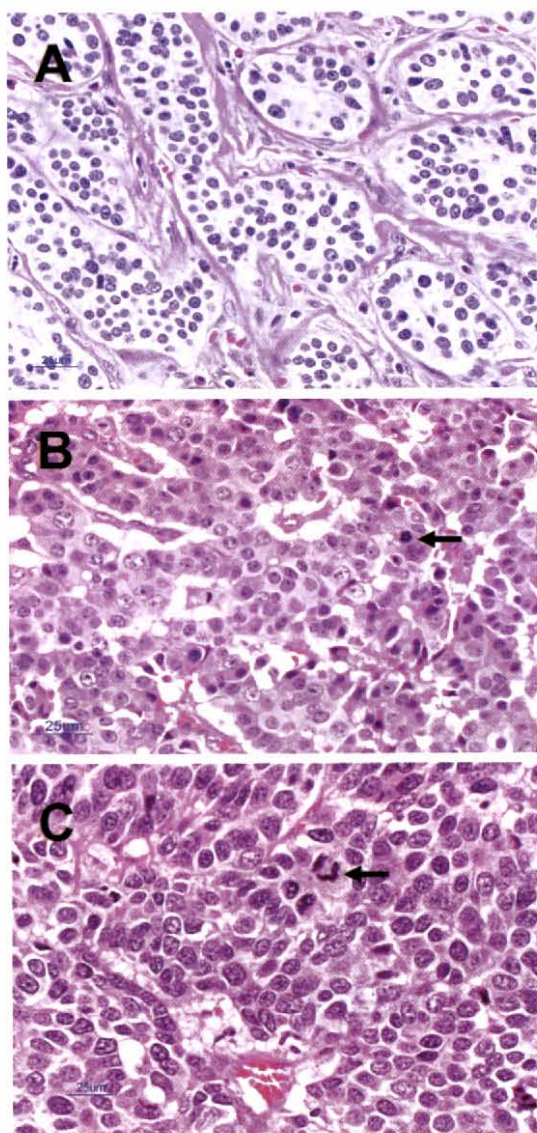


図1 胃内分泌細胞腫瘍の HE 染色組織像

A: カルチノイド。円形～卵円形小型均一核と弱好酸性微細顆粒状細胞質からなり、索状・リボン状・充実結節状胞巣を形成している。核分裂像はみられない。B: 異型カルチノイド。カルチノイドに比べやや大型の核からなり、核の大小不同などもあり、核分裂像もみられる（矢印）。索状・リボン状胞巣を形成している。C: 内分泌細胞癌。カルチノイドに比べ大型で粗造なクロマチンを持つ異型核からなり、充実結節状胞巣を形成する。核分裂像がみられる（矢印）。

変（分化型 27 病変，低分化充実型 23 病変）とした。内分泌細胞腫瘍，通常型腺癌ともに，10 %ホルマリン固定・パラフィン包埋ブロックの HE 標本で病理組織像を検索し，更に神経内分泌細胞マーカーである Grimelius 染色，chromogranin A 染色，neuron-specific enolase 染色を行い，前者ではこれらの 2 つ以上がびまん性に陽性⁵⁾⁹⁾であることを，後者ではいずれの染色でも陽性細胞が 10 %未満であることを確認した。各病変の病理組織学的診断事項は胃癌取扱い規約²⁾に準じた。

2. 免疫組織化学

KIT 蛋白発現は KIT 蛋白に対するポリクローナル抗体（No 566, MBL, Japan）を，p53 蛋白過剰発現は p53 蛋白に対するモノクローナル抗体（PAb1801, Oncogene Science, USA）を用いた免疫染色により検索した。それぞれを一次抗体とし，4 µm パラフィン切片をマイクロウェーブ抗原賦活後，streptavidin-biotin immunoperoxidase (SAB) 法（Histofine SAB-PO kit; Nichirei, Japan）にて染色を行った。

KIT 染色の評価は，GIST の免疫染色評価法²⁵⁾に準じ，negative: 陽性細胞が 10 %以下，focal: 陽性細胞が 10～50 %，diffuse: 陽性細胞が 50 %以上，の 3 段階に分けた。更に染色強度を弱陽性（weak）と強陽性（strong）とに大別した。弱陽性は細胞質が淡く陽性になるもの，強陽性は細胞質と細胞膜に明瞭な陽性所見がみられるものとした。p53 染色の評価は，陽性細胞がびまん性または限局集簇性にみられるものを，陽性（過剰発現）とした²⁶⁾。

統計検定には χ^2 乗検定または Fisher の直接確率計算を用い， $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

1. 胃内分泌細胞腫瘍の臨床病理学的事項

対象病変の臨床病理学的事項を表 1 に示す。カルチノイドは大きさが 20mm 未満で，平均最大径は 6.9mm であり，全例粘膜内（pM）か粘膜下層（pSM）までに留まっていた。リンパ管侵襲（ly），

表1 対象病変の臨床病理学的事項

組織分類	n	最大径 mm	深達度				ly (+)	v (+)	n (+) **
			pM	pSM	pMP	pSS~*			
カルチノイド*	10	6.9±4.0 (2-15)	2	8	0	0	0/10 (0%)	0/10 (0%)	-
異型カルチノイド*	4	39.0±32.4 (9-82)	0	2	1	1	4/4 (100%)	2/4 (50%)	1/4 (20%)
内分泌細胞癌	24	55.3±23.3 (20-130)	0	6	1	17	20/24 (83%)	22/24 (92%)	12/19 (63%)
通常型腺癌分化型	27	51.6±28.3 (12-146)	0	7	5	15	17/27 (63%)	9/27 (33%)	12/27 (50%)
通常型腺癌低分化充実型	23	68.1±37.5 (13-150)	0	4	3	16	17/23 (74%)	8/23 (35%)	15/22 (68%)

pSS~*: pSS, pSE, pSI, n(+)**: リンパ節非郭清例は除く

ly: リンパ管侵襲、v: 静脈侵襲、n: リンパ節転移

表2 胃内分泌細胞腫瘍のKIT発現

組織分類	陽性率	KIT発現パターン別陽性率		
		Focal (weak)	Diffuse	
			weak	strong
カルチノイド*	0% (0/10) ***	—	—	—
異型カルチノイド*	0% (0/4) **	—	—	—
内分泌細胞癌	79.2% (19/24) *	4.2% (1/24)	45.8% (11/24)	29.2% (7/24)
通常型腺癌分化型	18.5% (5/27) #	18.5% (5/27)		0/5
通常型腺癌低分化充実型	4.4% (1/23) #	4.4% (1/23)		0/1

* vs **; p=0.062, * vs ***; p<0.0001, * vs #; p<0.0001

Focal: KIT陽性細胞頻度が10-50%、Diffuse: KIT陽性細胞頻度が50%以上

静脈侵襲 (v) を示したものはなかった。異型カルチノイドは平均最大径が 39mm で、3/4 例は 20mm 以上の大きさであり、2/4 例は固有筋層以深に浸潤していた。リンパ管侵襲、静脈侵襲、リンパ節転移 (n) がそれぞれ 100%, 50%, 20% にみられた。内分泌細胞癌は平均最大径が 55.3mm で全例が 20mm 以上の大きさであり、18/24 例が進行癌であった。リンパ管侵襲、静脈侵襲、リンパ節転移陽性率はそれぞれ 83%, 92%, 63% であった。なお、内分泌細胞癌の 17/

24 例 (70.8%) では、充実結節状胞巣やシート状胞巣を形成する内分泌細胞癌巢の一部に通常型分化型腺癌の随伴がみられたが、カルチノイド、異型カルチノイドには腺癌の随伴はなかった。

2. 胃内分泌細胞腫瘍のKIT蛋白発現

内分泌細胞癌の 79.2% (19/24) にKIT蛋白発現がみられたが (図2-A, B, C), カルチノイド、異型カルチノイドにKIT染色陽性病変はなかった (図2-D, E)。対照とした通常型腺癌でのKIT

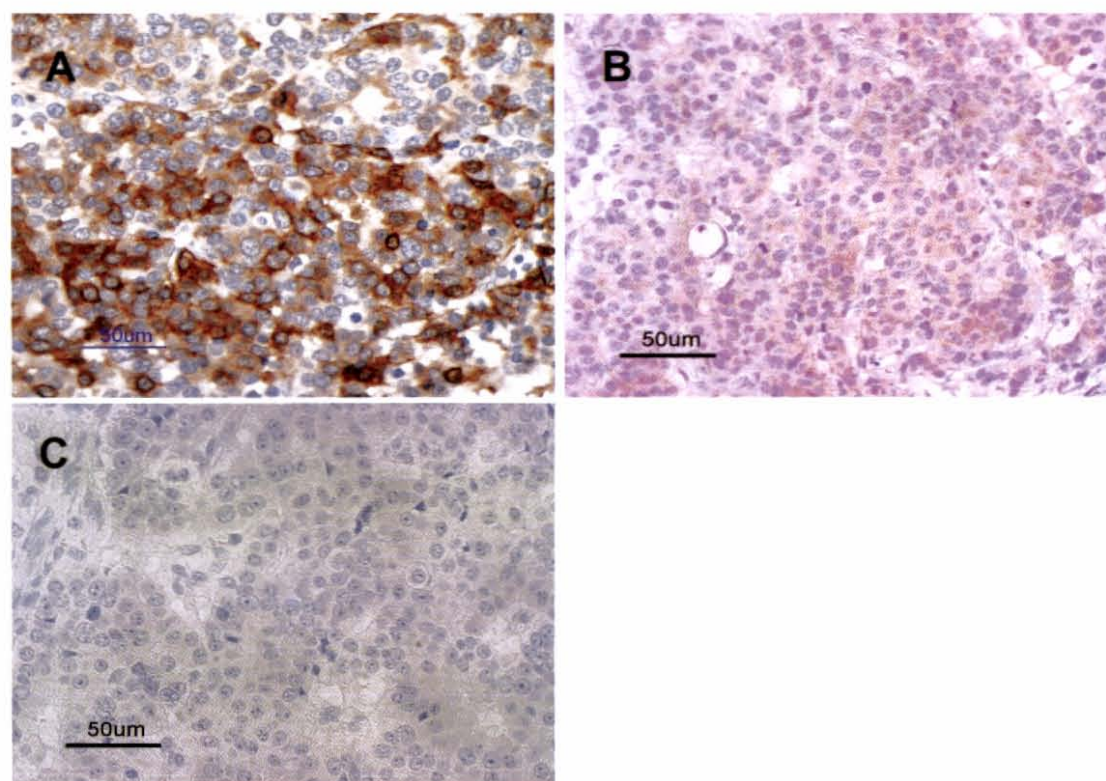


図 2 胃内分泌細胞腫瘍の KIT 蛋白発現

A: 内分泌細胞癌の KIT 免疫染色. 細胞質・細胞膜が明瞭に染色されている (強陽性). B: 内分泌細胞癌の KIT 免疫染色. 細胞質が淡く染色陽性であるが, 細胞膜に明瞭な陽性所見はみられない (弱陽性). C: 異型カルチノイドの KIT 免疫染色. 陽性細胞はみられない.

蛋白発現率は, 分化型が 18.5 % (5/27), 低分化充実型が 4.4 % (1/23) であり, 内分泌細胞癌とそれ以外には有意差がみられた (表 2).

内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現パターンは, focal (KIT 染色陽性細胞頻度が 10-50 %) が 1/24 (4.2 %), diffuse (同陽性細胞頻度が 50 %以上) が 18/24 (75.0 %) であった. 染色陽性強度は, focal と diffuse の 11/18 が弱陽性 (weak) で, 陽性所見は細胞質に淡く認められるのみであったが (図 2-C), diffuse の 7/11 は強陽性 (strong) で, 細胞質と細胞膜が明瞭に染色されていた (図 2-B). なお, 内分泌細胞腫瘍症例, 通常型腺癌症例のいずれも, 同一切片内にみられた非腫瘍性上皮は KIT 染色陰性であった.

3. 腺癌随伴の有無別にみた内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現

内分泌細胞癌を腺癌随伴の有無で分け, それぞれの KIT 蛋白発現率と, 随伴腺癌部と内分泌細胞癌部の KIT 蛋白発現の相関を検討した. 通常型腺癌 (分化型) を随伴する内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現率は 88.3 % (15/17) であり, 純粋内分泌細胞癌 (腺癌非随伴) の 43.0 % (3/7) に比べ有意に高値であった. 腺癌随伴例では, 腺癌部の 70.6 % (12/17) に KIT 蛋白発現がみられた (表 3). 腺癌随伴内分泌細胞癌の腺癌部と内分泌細胞癌部 (充実結節状胞巣やシート状胞巣を形成する癌巣部) の KIT 蛋白発現の有無の一致率は 82.4 % (14/17) であり, 両者の間には相関傾向

がみられた ($p=0.0735$) (表4, 図3).

4. 胃内分泌細胞腫瘍の p53 蛋白過剰発現および KIT 蛋白発現との相関

内分泌細胞癌の 75.0 % (18/24) に p53 蛋白の過剰発現がみられたが, カルチノイド, 異型カルチノイドで同蛋白過剰発現がみられた病変はなく, 内分泌細胞癌との間には有意差があった. 対照とした通常型腺癌での p53 蛋白過剰発現率は, 分化型が 66.7 % (18/27), 低分化充実型が 47.8 % (11/23) であり, 内分泌細胞癌の過剰発現頻度とは有意差はなかった (表5). 内分泌細胞

癌の p53 蛋白過剰発現と KIT 蛋白発現の間には有意な相関はなかった (表6).

考 察

近年, 種々の臓器の内分泌細胞からなる腫瘍で, KIT 蛋白発現が報告されている^{20) - 24)}. 内分泌細胞からなる癌腫は内分泌細胞癌の他, 小細胞癌, 神経内分泌細胞癌等と呼称されるが, 肺小細胞癌の 46 %²⁰⁾ と 33 %²¹⁾, 肺大細胞神経内分泌細胞癌の 56 %²⁰⁾, 大腸神経内分泌細胞癌の 23 %²²⁾ と 25 %²³⁾, 膀胱・前立腺・卵巣などの泌尿生殖器系小細胞癌の 50 - 75 %²⁴⁾ で KIT 蛋白発現が報告されている. 胃内分泌細胞腫瘍については

表3 腺癌随伴の有無別にみた内分泌細胞癌の KIT 発現率

	n	KIT発現率
腺癌随伴内分泌細胞癌*	17	88.3% (15/17)
内分泌細胞癌部		88.3% (15/17)
随伴腺癌部		70.6% (12/17)
純粋内分泌細胞癌**	7	43.0% (3/7)
	24	

* vs **: $p=0.038$

表4 腺癌随伴内分泌細胞癌の腺癌部と内分泌細胞癌部の KIT 発現の相関

随伴腺癌部	内分泌細胞癌部	
	陽性	陰性
陽性	12/17 (70.6%)	0
陰性	3/17 (17.6%)	2/17 (11.8%)

$p=0.0735$

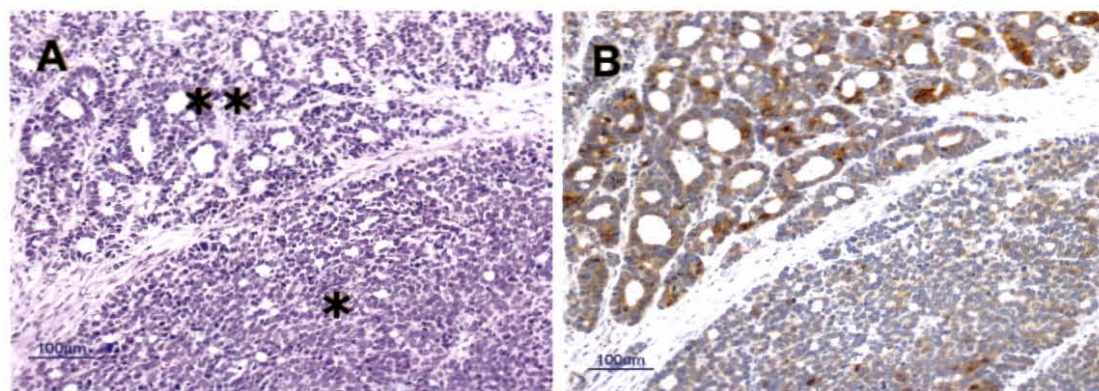


図3 腺癌随伴内分泌細胞癌

A: HE 染色組織像. 充実結節状胞巣を形成する内分泌細胞癌部 (*) に近接して, 管腔形成が明瞭な分化型 (中分化) 腺癌が随伴している (**). B: A と同部位の KIT 免疫染色. 内分泌細胞癌部, 随伴分化型腺癌部ともに強陽性.

表 5 胃内分泌細胞腫瘍の p53 過剰発現

組織分類	陽性率
カルチノイド [*]	0% (0/10) ***
異型カルチノイド [*]	0% (0/4) **
内分泌細胞癌	75.0% (18/24) *
通常型腺癌分化型	66.7%(18/27)
通常型腺癌低分化型	47.8%(11/23)

* vs **; p=0.010, * vs ***; p<0.0001

Ishikubo ら²³⁾ の報告があり、神経内分泌細胞癌の 25 % (4/16) で KIT 蛋白発現が認められたとしているが、Ishikubo らの神経内分泌細胞癌は本研究の内分泌細胞癌に相当し、これまでカルチノイドや異型カルチノイドを含めた胃内分泌細胞腫瘍の KIT 蛋白発現に関する網羅的検討はなされていない。本研究結果では、胃内分泌細胞癌は高頻度 (79.2 %, 19/24) に KIT 蛋白を発現していたのに対し、カルチノイドや異型カルチノイドでは同蛋白発現は認められなかった。また、内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現は対照とした通常型腺癌のそれに比べ有意に高く、同蛋白発現は胃内分泌細胞腫瘍の中でも高異型度・高悪性度である内分泌細胞癌に特異的なものであると考えられた (表 2)。

本研究における内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現頻度 (79.2 %) は Ishikubo ら²³⁾ の報告 (25 %) に比べ極めて高頻度であった。発現頻度乖離の理由としては、第一に免疫染色に用いた抗体の違いが挙げられる。Ishikubo らは Dako 社のポリクローナル抗体を、本研究では MBL 社のポリクローナル抗体を用いたが、現在 KIT 蛋白の免疫染色に用いられる抗体は 10 種類程度が市販されている。それぞれの抗体により染色態度が異なる可能性があり、一概にいずれの抗体が KIT 蛋白発現の同定に至適であるかを決定することはできないが、本研究で施行した免疫染色では、同一切片内の非腫瘍性胃粘膜上皮やカルチノイド、異型カルチノイドでは KIT 染色は陰性であり、内分泌細胞癌の高

表 6 胃内分泌細胞癌の KIT 発現と p53 蛋白過剰発現の相関

KIT 発現	p53 蛋白過剰発現	
	陽性	陰性
陽性	13/24 (54.2%)	6/24 (25.0%)
陰性	2/24 (8.3%)	3/24 (12.5%)

p=0.3256

い KIT 蛋白発現が抗体の違いによる偽陰性を含んでいるとは考えにくい。第二の理由としては、どの程度の染色強度を陽性としたかの違いが考えられる。本研究では、KIT 染色の陽性所見を弱陽性 (細胞質が淡く陽性) と強陽性 (細胞質と細胞膜に明瞭が明瞭に陽性) に大別したが、強陽性症例のみの頻度は内分泌細胞癌全体の 29.2 % (7/24) と Ishikubo らの報告にほぼ一致し、Ishikubo らは本研究の強陽性所見のみを染色陽性とした可能性がある。上述したように、本研究の KIT 染色陽性所見は偽陽性とは考えにくく、本研究の弱陽性所見も KIT 蛋白発現を捉えているものと考えられるが、染色強度の違いが何に起因しているかは不明である。本研究では KIT 蛋白をコードする *c-kit* 遺伝子異常の有無については検索しなかったが、KIT 蛋白が高発現する GIST では約 80 % に *c-kit* 遺伝子に突然変異が認められている²⁷⁾。また、GIST 以外で KIT 蛋白発現が認められた腫瘍では *c-kit* の突然変異はなく、その増幅がみられたとの報告もある²¹⁾。KIT 染色の陽性態度の違いが *c-kit* 遺伝子異常の有無や種類と関連している可能性もあり、このことは今後の研究課題である。

胃内分泌細胞腫瘍の組織発生は、カルチノイドと内分泌細胞癌とは明らかに異なる経路・機序が想定されている。カルチノイドは胃上皮の幹細胞由来で内分泌細胞への分化能を獲得した幼若内分泌細胞から発生すると考えられているが⁴⁾⁸⁾、その具体的経路の一つとして、A 型胃炎における

カルチノイドの発生が挙げられる。A型胃炎による胃底腺萎縮・胃酸分泌低下に対するフィードバック機構を介した高ガストリン血症の trophic action が、既存の内分泌細胞の過形成を惹起し、それが内分泌細胞微小胞巣を経てカルチノイドが発生することが明らかにされている⁸⁾。一方、内分泌細胞癌は腺癌を先行病変とし、腺癌の異分化で出現した増殖能の高い腫瘍性内分泌細胞の増生により形成されると考えられており⁴⁾、その過程には p53 遺伝子異常が関与していると推定されている⁶⁾⁹⁾。p53 蛋白過剰発現や遺伝子異常はカルチノイドでは認められないことから、カルチノイドの悪性転化で内分泌細胞癌が発生することは極めて希と考えられている⁶⁾⁹⁾。

KIT 蛋白発現を検討した本研究結果も、カルチノイドと内分泌細胞癌では組織発生が異なるとする従来の考え方を支持するものであった。KIT 蛋白発現は内分泌細胞癌のみにみられ、カルチノイド・異型カルチノイドでは同蛋白発現はなく、腺癌随伴内分泌細胞癌では腺癌部にも内分泌細胞癌部と同様に高率に KIT 蛋白発現があり(表3)、更に両者 KIT 蛋白発現の有無は 82.4 % で一致していた(有意の傾向あり)(表4, 図3)。内分泌細胞癌では先行する腺癌が内分泌細胞癌に進展する過程で、p53 遺伝子変異や蛋白過剰発現と同様に、KIT 蛋白発現が関与しており、カルチノイドや異型カルチノイドの発生・進展には KIT 蛋白発現は関与していないことが推定された。しかし本研究結果では、腺癌を随伴しない純粋内分泌細胞癌の KIT 蛋白発現は腺癌随伴例に比べ有意に低値であり、KIT 蛋白発現陰性のカルチノイドまたは異型カルチノイドを経て同蛋白発現陰性の内分泌細胞癌に至る経路も存在しうることが想定される。p53 蛋白過剰発現については、カルチノイド・異型カルチノイドに発現陽性例はなく、内分泌細胞癌では 75 % に過剰発現がみられたが(表5)、これらの結果はこれまでの報告⁶⁾⁹⁾と同一であった。他方、KIT 蛋白発現と p53 蛋白過剰との間には有意の相関はなく(表6)、両者は独立した機序として内分泌細胞癌の発生と進展に関与しているものと考えられた。

KIT 蛋白発現の有無は、生物学的悪性度の高い内分泌細胞癌と悪性度の低いカルチノイドの鑑別に有用なマーカーになりうると考えられた。両者の病理組織学的鑑別は、通常はその細胞像、発育様式、細胞増殖活性・p53 蛋白過剰発現の有無⁴⁾⁶⁾などにより可能であるが、腫瘍のごく一部のみが採取される臨床内視鏡生検組織では、腫瘍内に heterogeneity が存在する場合、的確な病理組織診断が困難になる場合もある。本研究結果では、カルチノイドには KIT 蛋白発現はみられなかったことから、KIT 染色が陽性であれば、カルチノイドは否定的と考えることができる。肺内分泌細胞腫瘍の KIT 蛋白発現を検討した Araki ら²⁰⁾も、小細胞癌と大細胞神経内分泌細胞癌の 46 % と 56 % に KIT 蛋白発現がみられたのに対し、カルチノイドでは同蛋白発現はみられなかったとしている。

他方、生物学的悪性度では内分泌細胞癌とカルチノイドの中間に位置する異型カルチノイドの診断には、KIT 染色の有用性は低い。異型カルチノイドは組織学的にはカルチノイドに近似するが、脈管侵襲やリンパ節・他臓器転移を来すことがあり⁶⁾、カルチノイドとは区別して扱う必要がある。本研究の異型カルチノイドでもリンパ管侵襲、静脈侵襲、リンパ節転移がそれぞれ 100 %, 50 %, 20 % に認められたが、異型カルチノイドはカルチノイドと同様に KIT 蛋白発現はみられなかった。両者の鑑別に有用なマーカーについては、更なる検索が必要である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野・畠山勝義教授、同分子・診断病理学分野・味岡洋一教授、同分子・病態病理学分野・西倉 健准教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Watanabe H, Jass JR and Sobin LH: Histological typing of oesophageal and gastric tumors. WHO International Histological Classification of

- Tumors, 2 nd ed, Springer - Verlag, Berlin, pp24 - 27, 1990.
- 2) 日本胃癌学会編：胃癌取扱い規約, 第 13 版, 金原出版, 東京, 1999.
- 3) Solcia E, Kloppel G and Sobin LH: Histological typing of endocrine tumors. WHO International Histological Classification of Tumors, 2 nd ed, Springer - Verlag, Berlin, pp61 - 64, 2000.
- 4) 岩瀬三哉, 渡辺英伸, 石原法子, 野田 裕, 味岡洋一：消化管カルチノイドの病理. 臨消化器内科 5: 1669 - 1681, 1990.
- 5) Nishikura K, Watanabe H and Iwafuchi M: PCNA index and nuclear morphometry for diagnosing higher malignancies of endocrine cell tumors in the large intestine. Acta Med et Biol 45: 143 - 151, 1997.
- 6) 西倉 健, 味岡洋一, 渡辺 玄：胃内分泌細胞癌の病態・診断・治療. 臨床消化器内科 21: 1399 - 1408, 2006.
- 7) Rindi G, Azzoni C, Rosa S, Klersy C, Paolotti D, Stolte M, Capella C, Bordi C and Solcia E: ECL cell tumor and poorly differentiated endocrine carcinoma of the stomach: prognostic evaluation by pathological analysis. Gastroenterology 116: 532 - 542, 1999.
- 8) Itsuno M, Watanabe H, Iwafuchi M, Ito S, Yanaihara N, Sato K, Kikuchi M and Akiyama N: Multiple carcinoids and endocrine cell micronests in type A gastritis. Their morphology, histogenesis, and natural history. Cancer 63: 881 - 890, 1989.
- 9) Debelenko LV, Emmert-Buck MR, Zhuang Z, Epshteyn E, Moskaluk CA, Jensen RT, Liotta LA and Lubensky IA: The multiple endocrine neoplasia type I gene locus is involved in the pathogenesis of type II gastric carcinoids. Gastroenterology 113: 773 - 781, 1997.
- 10) D'Adda T, Keller G, Bordi C and Höfler H: Loss of heterozygosity in 11q13-14 regions in gastric neuroendocrine tumors not associated with multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome. Lab Invest 79: 671 - 677, 1999.
- 11) Kidd M, Miu K, Tang LH, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sandor A and Modlin IM: Helicobacter pylori lipopolysaccharide stimulates histamine release and DNA synthesis in rat enterochromaffin-like cells. Gastroenterology 113: 1110 - 1117, 1997.
- 12) Nishikura K, Watanabe H, Iwafuchi M, Fujiwara T, Kojima K and Ajioka Y: Carcinogenesis of gastric endocrine cell carcinoma: analysis of histopathology and p53 gene alteration. Gastric Cancer 6: 203 - 209, 2003.
- 13) Chabot B, Stephenson DA, Chapman VM, Besmer P and Bernstein A: The proto-oncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. Nature 335: 88 - 89, 1988.
- 14) Tsai M, Takeishi T, Thompson H, Langley KE, Zsebo KM, Metcalfe DD, Geissler EN and Galli SJ: Induction of mast cell proliferation, maturation, and heparin synthesis by the rat c-kit ligand, stem cell factor. Proc Natl Acad Sci USA 88: 6382 - 6386, 1991.
- 15) Simmons PJ, Aylett GW, Niutta S, To LB, Juttner CA and Ashman LK: c-kit is expressed by primitive human hematopoietic cells that give rise to colony-forming cells in stroma-dependent or cytokine-supplemented cultures. Exp Hematol 22: 157 - 165, 1994.
- 16) Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M, Malysz J, Mikkelsen HB and Bernstein A: W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. Nature 373: 347 - 349, 1995.
- 17) Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Tunio GM, Matsuzawa Y, Kanakura Y, Shinomura Y and Kitamura Y: Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. Science 279: 577 - 580, 1998.
- 18) Yamaguchi U, Hasegawa T, Masuda T, Sekine S, Kawai A, Chuman H and Shimoda T: Differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumor and other spindle cell tumors in the gastrointestinal tract based on immunohistochemical analysis. Virchows Arch 445: 142 - 150, 2004.
- 19) Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, Mirlacher M,

- Schraml P, Mangialaio S, Dimitrijevic S, Kononen J, Lugli A, Simon R and Sauter G: Prevalence of KIT expression in human tumors. *J Clin Oncol* 22: 4514 - 4522, 2004.
- 20) Araki K, Ishii G, Yokose T, Nagai K, Funai K, Kodama K, Nishiwaki Y and Ochiai A: Frequent overexpression of the c-kit protein in large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. *Lung Cancer* 40: 173 - 180, 2003.
- 21) Sihto H, Sarlomo-Rikala M, Tynnenen O, Tanner M, Andersson LC, Franssila K, Nupponen NN and Joensuu H: KIT and platelet-derived growth factor receptor alpha tyrosine kinase gene mutations and KIT amplifications in human solid tumors. *J Clin Oncol* 23: 49 - 57, 2005.
- 22) Akintola-Ogunremi O, Pfeifer JD, Tan BR, Yan Y, Zhu X, Hart J, Goldblum JR, Burgart L, Lauwers GY, Montgomery E, Lewin D, Washington K, Bronner M, Xiao SY, Greenson JK, Lamps L, Lazenby A and Wang HL: Analysis of protein expression and gene mutation of c-kit in colorectal neuroendocrine carcinomas. *Am J Surg Pathol*, 27: 1551 - 1558, 2003.
- 23) Ishikubo T, Akagi K, Kurosumi M, Yamaguchi K, Fujimoto T, Sakamoto H, Tanaka Y and Ochiai A: Immunohistochemical and mutational analysis of c-kit in gastrointestinal neuroendocrine cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 36: 494 - 498, 2006.
- 24) Kurt E, Sezgin C, Evrensel T, Yalcinkaya U, Kanat O, Veral A, Demiray M, Arslan M, Karabulut B, Ercan I, Goker E and Manavoglu O: Therapy, outcome and analysis of c-kit expression in patients with extrapulmonary small cell carcinoma. *Int J Clin Pract*, 59: 537 - 543, 2005.
- 25) Tazawa K, Tsukada K, Makuuchi H and Tsutsumi Y: An immunohistochemical and clinicopathological study of gastrointestinal tumors. *Pathol Int* 49: 786 - 798, 1999.
- 26) Ohashi Y, Watanabe H, Ajioka Y and Hatakeyama K: p53 immunostaining distinguishes malignant from benign lesions of the gallbladder. *Pathol Int* 45: 58 - 65, 1995.
- 27) Hirota S, Nishida T, Isozaki K, Taniguchi M, Nakamura J, Okazaki T and Kitamura Y: Gain-of-function mutation at the extracellular domain of KIT in gastrointestinal stromal tumours. *J Pathol* 193: 505 - 510, 2001.

(平成20年12月18日受付)