

---

---

原 著

---

---

## 新しい胃癌株，胃内分泌細胞癌培養株， の樹立とその特性

新潟大学医学部第一病理学教室（主任：渡辺英伸教授）

石 原 法 子

Establishment and Characterization of New Gastric Carcinoma Cell  
Lines Derived from Endocrine Cell Carcinoma

Noriko ISHIHARA

*First Department of Pathology,  
Niigata University School of Medicine  
(Director: Prof. Hidenobu WATANABE)*

New cell lines (ECC10 and ECC12) derived from endocrine cell carcinoma (ECC) or small cell carcinoma (SCC) of the stomach were established and characterized.

Primary tumor of ECC10 was an early carcinoma composed of ECC with squamous cell carcinoma (SQCC) and of well differentiated tubular adenocarcinoma, while that of ECC12 was an advanced carcinoma solely composed of ECC. Inoculation tumor of ECC10 was hepatic metastatic tumor with ECC and SQCC and that of ECC12 was skin metastatic tumor with ECC.

ECC10 grew as both of adherent and floating aggregates and ECC12 grew as adherent aggregates. Both cell lines showed aneuploidy, about 46 hours of population doubling time, and successful xenotransplantation into athymic nude mice.

ECC10 and ECC12 were composed of argyrophil cells with constant neurosecretory granules. Immunohistochemically ECC10 was negative for serotonin, peptide hormones, and chromogranin A. But, ECC12 contained some cells positive for serotonin, peptide YY, neuropeptide Y, and chromogranin A. Neuron specific enolase was positive in both cell lines, but carcinoembryonic antigen was negative.

ECC10 and ECC12 still retain the characteristics of ECC components of their parent tumors and share many properties with classic type of pulmonary SCC cell lines.

---

Reprint requests to: Noriko ISHIHARA,  
First Department of Pathology, Niigata  
University School of Medicine, Asahimachi-  
dori 1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町  
新潟大学医学部第一病理学教室

石 原 法 子

They are the first gastric ECC cell lines and can provide unique tools for elucidating the biological properties of gastric ECC.

Key words: endocrine cell carcinoma, cell line, gastric cancer, small cell carcinoma, immunohistochemistry  
内分泌細胞癌, 培養細胞株, 胃癌, 小細胞癌, 免疫組織化学

## はじめに

消化管の内分泌細胞腫瘍は増殖・転移が遅く患者の予後が良好なカルチノイド腫瘍と、増殖も早く早期に遠隔転移をきたし患者の予後不良な内分泌細胞癌 endocrine cell carcinoma (ECC) とに大別される<sup>1)</sup>。カルチノイド腫瘍はその特徴的組織所見と生物学的態度から、消化管でも独立した組織型として取り扱われてきた。しかし、ECC は最近まで独立した組織型としてではなく、単に低分化充実型腺癌や未分化癌の中に分類されることが多く、あまり注目されてこなかった。1990年ようやく WHO の食道・胃の腫瘍組織分類で小細胞癌 small cell carcinoma (同義語として ECC, neuroendocrine cell carcinoma, oat cell carcinoma 等があるが、以下消化管に限り ECC の用語を用いる) として別に分類されるようになった<sup>2)</sup>。しかし、ECC はその発生頻度が低く(胃では0.6%)<sup>2)</sup>、まとまった報告が少ない<sup>1)3)4)5)6)</sup>。

また、細胞生物学的研究に有用である消化管 ECC 細胞株は、世界で大腸癌由来 COLO320, COLO321 (同一腫瘍から由来、以下 COLO) の一種類二株が報告されているのみである<sup>7)</sup>。肺以外的小細胞癌培養株として、上述の他に子宮の小細胞癌株3株 (NCI-H1048, NCI-H1348, TC-YIK), 皮膚メルケル細胞癌株1株 (MKL-1), 前立腺小細胞癌株1株 (NCI-H660), 脳原発株1株 (NCI-H510) の計6株が現在まで世界で報告されているにすぎない<sup>8)-10)</sup>。

一方、肺小細胞癌は肺癌全体の約25%と頻度も高く、

種々の点から研究されている。培養株は既に50種類以上樹立され、これらは培養下で二種類の生物学的特性に大別されることも明らかにされている<sup>11)12)</sup>。

今回筆者は、世界で初めて胃 ECC 2症例より各々培養株 (ECC10, ECC12) を樹立し、その培養特性を明らかにした。又、これらを、in vitro および in vivo 環境下 (異種移植腫瘍) で、組織・免疫組織化学・電顕の面から、原腫瘍と比較検討した。更にこれらの成績を基に発生臓器別からみた小細胞癌の差異を考察した。

## 材料と方法

### 1. ECC10 株および ECC12 株の由来症例

表1に概要をまとめた。両症例共カルチノイド症候群は示さなかった。血清 serotonin 値は ECC10 株由来症例<sup>13)</sup> では正常、ECC12 株由来症例では死亡1カ月前に 312 ng/ml と軽度高値を示した。ECC12 株由来症例の血清ヒスタミン値および両症例の血清 carcinoembryonic antigen (CEA) 値は正常範囲であった。

### 2. 初代培養材料と培養方法

培養材料は表2に示す。培養液は RPMI1640 (日本製薬、東京) に20%牛胎児血清 (M.A. Bioproducts, USA) と 200 µg/ml の kanamycin (明治製薬、東京) を加えたものを用いた。腫瘍を細切後、細胞浮遊液を作り、約  $2 \times 10^6$  個の割合で 35 mm のガラスシャーレに植え込み、37℃の5%炭酸ガス加湿孵卵器で静置培養し、週2回の培地交換を行った。培養形態の観察と写真撮影には Nikon 倒立位相差顕微鏡を用いた。

表1 ECC10 株と ECC12 株の由来症例

細胞株	症例	胃原発腫瘍								治療	予後	病理解剖時転移
		組織型	肉眼型	深達度	局在	径 (cm)	ly	v	n			
ECC10	73/男	ECC+SQCC+tub1	Ila+Ilc	粘膜下	体部	5.5×5.0 (1.2×1.2)*	1*	2*	+	胃全摘+C	術後5カ月腫瘍死	肝 N
ECC12	63/男	ECC	限局潰瘍	漿膜下	噴門	8.5×8.0	1	3	-	胃全摘+脾脾切除+C+R	術後11カ月腫瘍死	全身

ECC: 内分泌細胞癌, SQCC: 扁平上皮癌, tub1: 高分化型腺管腺癌, ly: リンパ管侵襲, v: 静脈侵襲, n: リンパ節転移, N: リンパ節, C: 術後化学療法, R: 術後放射線治療, \*: ECC+SQCC のみ

表 2 ECC10 株と ECC12 株の植え込み腫瘍と培養特性

細胞株	植え込み腫瘍		培養開始	増殖形態		倍加時間	染色体モード	異種移植	上清	
	部位	組織成分		早期*	後期				CEA	Ser
ECC10	肝転移 (剖検)	ECC+SQCC	1986 3/21	浮游	浮游+壁付着	45.6 <sup>1)</sup>	83 <sup>2)</sup>	可 <sup>3)</sup>	— <sup>4)</sup>	— <sup>4)</sup>
ECC12	皮下転移 (生検)	ECC	1986 5/14	壁付着	壁付着	46.0 <sup>5)</sup>	54 <sup>6)</sup>	可 <sup>7)</sup>	— <sup>8)</sup>	— <sup>8)</sup>

ECC：胃内分泌細胞癌，SQCC：扁平上皮癌，\*：培養20カ月目まで，

1)：15カ月，2)：19カ月，3)：18カ月，4)：11カ月

5)：16カ月，6)：14カ月，7)：26カ月，8)：9カ月

表 3 List of Antisera

Antisera against	Source	Method	Dilution
neuron specific enolase (NSE)	1	PAP	20
chromogranin A (CgA)	2	PAP	1000
serotonin (Ser)	8	PAP	2400
pancreatic polypeptide (PP)	9	PAP	8000
PeptideYY (PYY)	9	ID	100
Neuro peptideY (NPY)	9	PAP	300
glucagon/glucacon (Gli/Glu)	3	PAP	300
glucagon (Glu)	4	BSA	80
somatostatin28 (SS)	9	PAP	200
$\beta$ -endorphin (C325) ( $\beta$ -endor)	1	PAP	300
ACTH-13 (ACTH)	9	PAP	90
gastrin (Gas)	10	PAP	800
motilin (MT)	10	PAP	2000
gastrin releasing peptide (GRP)	10	PAP	2000
neurotensin (NT)	1	PAP	1000
insulin (Ins)	9	PAP	1000
calcitonin (CT)	9	PAP	900
calcitonin gene-related peptide (cGRP)	5	PAP	1000
vasoactive polypeptide (R502) (VIP)	11	PAP	800
carcinoembrionic antigenM0-010* (CEA)	6	BSA	160
keratin Z622	3	PAP	500
keratin A575	3	PAP	100
cytokeratin PKK1*	4	BSA	100
keratin KL1*	2	BSA	100

PAP ; Peroxydase-antiperoxydase method by Strnberger

BSA ; Biotine streptoavidin method

ID ; Immunoperoxidase indirect method

1 ; Immunobiological Lab. 5 ; Amersham 9 ; Dr Ito

2 ; ImmunoTech 6 ; Mochida 10 ; Dr Yanaihara

3 ; Dako 7 ; Bio-science 11 ; Dr Suzuki

4 ; Labssystem 8 ; Dr Uwo \* ; monoclonal antibody

### 3. 増殖態度

ECC10株とECC12株の $2 \times 10^5$ 個細胞を各々3.5 cm, 6 cmのプラスチックシャーレ (Corning) に植え込み, 48時間毎に培地 (10%牛胎児血清添加 RPMI1640) を全量 (2 ml) 交換した。2個のシャーレ内の生細胞数平均値から増殖曲線を作成し, 倍加時間 population doubling time (PDT) を求めた。

### 4. 染色体分析

コルヒチン (Sigma) を  $1.0 \mu\text{g/ml}$  最終濃度の割合で添加し2時間培養した後, 型どおり染色体標本を作成しギムザ染色を行った。分裂中期細胞を写真撮影し, 写真上で約30個から40個の細胞の染色体数を算定した。

### 5. 異種移植

約  $1 \times 10^7$  個の培養細胞を Balb c 系ヌードマウス (CLEA, 東京) の背部皮下に移植した。

### 6. serotonin と CEA の測定

定常期培養細胞の上清中の serotonin と CEA の測定を, それぞれ蛍光法および RIA2 抗体法で行った (北里バイオケミカル)。コントロールとして無細胞培養液を用いた。

### 7. 光顕的検索

腫瘍組織, 培養細胞 cell pellet はブアン液もしくは10%ホルマリンで固定・パラフィン包埋後  $3 \mu$  切片とし, Hematoxylin-eosin (HE) 染色, ジアスターゼ消化 alcian blue-PAS 二重染色, Grimelius 染色, Masson-Fontana 染色を行った。Grimelius 染色については1,000個当りの陽性細胞を数え, 陽性細胞率 (%) を算定した。変性細胞は算定から除いた。

### 8. 核の形態計測

Rise 社製の画像解析装置を用いて, HE 標本上で最低60個以上の腫瘍細胞の核について面積, 長径, 短径を求めた。同時に, 原発腫瘍や植え込み腫瘍については同一切片中の小リンパ球50個の核面積を測定した。平均値の差の検定には Student's T test を用いた。

### 9. 免疫組織化学

光顕観察と同様の切片を用いた。一次抗血清や免疫染色の種類については表3に示す。脱パラフィン後, 0.3%の内因性 peroxidase の除去を行った。酵素抗体間接法には peroxidase 標識抗モルモット IgG ウサギ血清 (Dako) を用いた。PAP 法は, 一次抗血清の種類に従い, 抗ウサギ IgG ヤギ血清 (Jimro) と PAP (Dako, ウサギ) または, 抗マウス IgG ブタ血清 (Dako) と PAP (Dako, マウス) で行った。発色は過酸化水素を加えた diaminobenzidine (Sigma) で行った。BSA

法の場合はヒストファイブ SAB-PO キット (Bio-science) を用いた。

最低1,000個の細胞を調べ, 陽性細胞率0, 25%未満, 25%以上50%未満, 50%以上をそれぞれ-, +, ++, +++とした。

### 10. 電顕的検索

2.5%グルタルアルデヒドと1%オスミウム酸で二重固定し, アルコール系列で脱水し Epon812 に包埋した。LKB 自動ミクロトームで超薄後, 酢酸ウランとクエン酸鉛で重染色, 日立 H800 透過型電顕で観察した。なお, 植え込み腫瘍, 培養株細胞, およびヌードマウス移植腫瘍について電顕検索を行った。

腫瘍細胞の内分泌顆粒 neurosecretory granule (NSG) の保有率 (%), 細胞 (断面) 当りの平均顆粒数, および円形顆粒のみを含有する細胞 (nonEC 型細胞) と多形顆粒を含む細胞 (EC 型細胞) との割合 (%) を, 電顕観察時もしくは写真上で, 核のみえている25個以上の細胞について調べた。また, 電顕写真上で, 細胞もしくは胞体突起 (断面) 毎の全 NSG (長径) を測定し, その顆粒平均径を求めた。均一な電子密度の NSG を有する nonEC 型細胞を, NSG の大きさに応じて, P 型 (140 nm 未満), D1 型 (140 nm 以上 190 nm 未満), X 型 (190 nm 以上) に分類した。電顕的な EC 型細胞については顆粒径 200 nm 未満, 200 nm 以上 350 nm 未満, 350 nm 以上をそれぞれ ECn, EC1, EC2 とした<sup>1)</sup>。

## 結 果

### 1. ECC10 株と ECC12 株の培養特性

培養特性は表2に, 培養形態は図1に示した。ECC 両株は安定増殖をするまで約1年以上を要した。

### 2. ECC10 株とその原腫瘍の性状

#### 1) 腫瘍の組織型と細胞形態・組織像

原発腫瘍は表1のごとく高分化管状腺癌, ECC, および高分化扁平上皮癌 (SQCC) の三成分から構成されていた。腺癌は粘膜内に主座があり, ECC は粘膜下層以深で限局性腫瘤を形成していた。腺癌は粘膜下に微少浸潤し, この部で ECC と連続していた。ECC は時にロゼット様構造を伴う充実構造を示し, 腫瘍細胞形態は中間細胞型肺小細胞癌のそれに類似し, 多数の核分裂像と高度の脈管侵襲を示した。SQCC は ECC の充実胞巣中心部に少量存在し, ECC 細胞と滑らかな移行を示し, しかも核分裂像を欠いていた (図2-a)。従って, 同成分は衝突癌ではなく, ECC 細胞の扁平上皮化生と

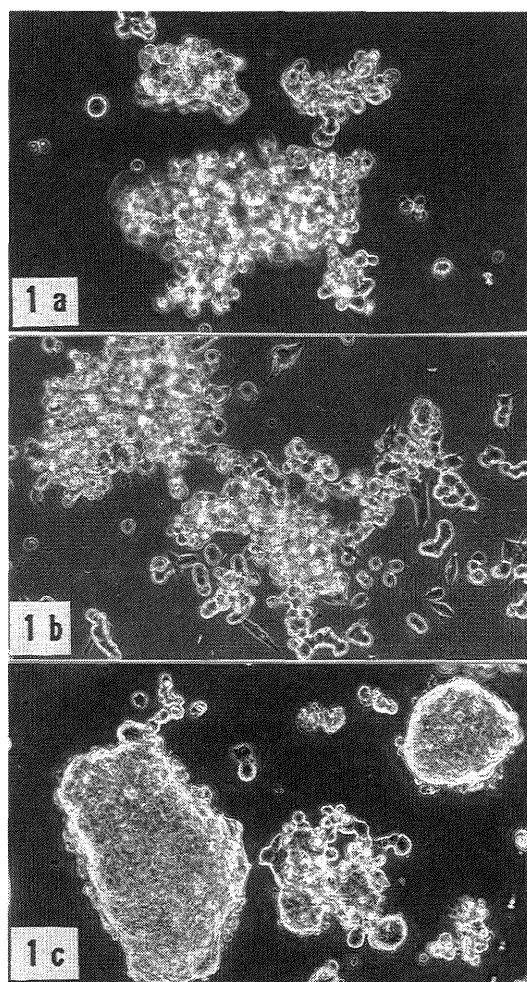


図 1 ECC 10株と ECC 12株の培養形態

- 1a. ECC 10株培養初期 (19代, 17カ月)  
不規則な集塊を形成し浮遊性増殖を示す。
- 1b. ECC 10株培養中期 (34代, 24カ月)  
浮遊細胞に加えて、壁付着性細胞が増加。
- 1c. ECC 12株 (23代, 15カ月)  
集塊を作り壁付着性増殖を示す。敷石状にはならず、pile-up 傾向が強い。

考えられた。ECC および SQCC では細胞内粘液は陰性であった。並存腺癌は腸型吸収上皮に類似し、脈管侵襲陰性であった。植え込み腫瘍には ECC と SQCC 成分のみを認め、同部の組織像は原発腫瘍の当該部と同様であった。

培養株細胞とそのヌードマウス移植腫瘍は ECC のみから構成され、植え込み腫瘍に存在した SQCC 成分

は認められなかった。株細胞の細胞形態 (図 3-a) やヌードマウス移植腫瘍の組織像 (図 4-a) は原腫瘍 ECC 部によく類似していた。

#### 2) 核の形態計測 (表 4)

ECC 部の核面積値は各腫瘍間で有意差を示さなかった。しかし、原発腫瘍 ECC 部の核長径値 ( $9.3 \mu\text{m}$ ) と株細胞の核短径値 ( $5.5 \mu\text{m}$ ) は、他の腫瘍に比し有意に大きかった (それぞれ危険率 1% と 5%)。これは原発腫瘍では紡錘形核が多く、培養株細胞では類円形核が多い事に起因していた。

一方、胃原発腫瘍や植え込み腫瘍の ECC 部と SQCC 部を比較すると、核面積、核長径、核短径のいずれも後者で有意に大きかった (危険率 1%)。

#### 3) 銀反応および免疫組織化学 (表 5)

原発腫瘍の ECC 部と SQCC 部では各々 100%, 64% の細胞が Grimelius 反応陽性・Masson-Fontana 染色陰性好銀顆粒を有し (図 2-b), また一部の細胞は neuron specific enolase (NSE) に陽性であった。クロモグラニン A (CgA) やアミン・ペプチド免疫染色で陽性細胞はみられなかった。一方、腺癌部は銀反応陰性で、内分泌マーカーも免疫組織学的に陰性であった。ECC, SQCC, および腺癌のいずれも, KL1 陽性の 55~57 KD のケラチンを有していた。一方、腺癌には PKK1 陽性の単純上皮特異的サイトケラチンを, SQCC には A575 陽性の重層扁平上皮特異的ケラチンを認めた。CEA はどの組織型にも陰性であった。

植え込み腫瘍の ECC と SQCC は好銀反応や免疫組織化学の面で原発腫瘍のそれらと同様であった。

株細胞とそのヌードマウス移植腫瘍では、少数の serotonin (Ser) 陽性細胞が認められたが、培養16カ月以降は消失した。その他の所見は原腫瘍の ECC 部分と同様であった (図 3-b, 3-c, 4-b)。

#### 4) 電顕所見 (表 6)

植え込み腫瘍の大部分は NSG を有する ECC 細胞であった<sup>13)</sup>。NSG は ECC 細胞の突起先端に集簇傾向を示した。一方、ケラトヒアリン顆粒・張原線維・発達したデスモゾームを示す SQCC 細胞が少数みられ<sup>13)</sup>、これらの一部は NSG を有していた。又、ECC と SQCC の移行細胞もあり、これらは NSG と発達した接合装置を持つが、張原線維束を欠いていた。

植え込み腫瘍では92%の細胞が、平均9個の NSG を有していた。nonEC 型細胞は91%を占め、NSG を測定した75個の nonEC 型細胞の内訳は、P 型が26個 (35%), D1 型が39個 (52%), X 型が10個 (13%) で

表4 ECC10株とECC12株細胞の核形態計測からみた特徴  
—その異種移植腫瘍および原腫瘍との比較

	ECC 部分			SQCC 部分			リンパ球 <sup>3)</sup>
	面積 ( $\mu\text{m}^2$ )	長径 ( $\mu\text{m}$ )	短径 ( $\mu\text{m}$ )	面積 ( $\mu\text{m}^2$ )	長径 ( $\mu\text{m}$ )	短径 ( $\mu\text{m}$ )	面積 ( $\mu\text{m}^2$ )
ECC10							
株細胞 <sup>1)</sup>	32.2±10.0	7.8±1.2	5.5±1.2				
異種移植腫瘍	32.2±11.0	8.2±1.8	5.1±0.9				
植え込み腫瘍	30.3± 9.4	8.2±1.0	5.1±1.3	51.5±25.3	10.9±3.4	6.4±1.9	12.2±1.9
胃原発腫瘍	32.6±10.5	9.3±2.4	5.1±1.2	48.3±22.4	10.2±7.7	6.5±1.6	12.4±2.5
ECC12							
株細胞 <sup>2)</sup>	30.9± 9.7	7.8±1.4	5.2±1.1				
異種移植腫瘍	30.1± 7.7	8.0±1.5	5.0±0.9				
植え込み腫瘍	31.8±13.0	8.2±1.8	5.2±1.3				13.1±1.8
胃原発腫瘍	35.0±10.9	8.6±1.6	5.4±1.1				15.2±2.7

ECC：内分泌細胞癌，SQCC：扁平上皮癌，1)：24カ月，2)：15カ月，3)：同一切片中の小リンパ球

表5 ECC10株細胞の銀反応および免疫組織化学  
—その異種移植腫瘍および原腫瘍との比較

	GM (%)	NSE	CgA	Ser	Peptides	CEA	Keratin		
							KL1	PKK1	A575
株細胞	+++ ( 97)	+	—	+ <sup>1)</sup> →- <sup>2)</sup>	—	—	+++	—	—
異種移植腫瘍	+++ ( 98)	+	—	+ <sup>1)</sup> →ND <sup>2)</sup>	—	—	+++	—	—
植え込み腫瘍									
ECC	+++ ( 82)	+	—	—	—	—	+++	—	—
SQCC	+++ ( 61)	+	—	—	—	—	+++	—	+++
胃原発腫瘍									
ECC	+++ (100)	+	—	—	—	—	+++	—	—
SQCC	+++ ( 64)	+	—	—	—	—	+++	—	+++
tub1	— ( 0)	—	—	—	—	—	+++	+	—

+：&lt;25%，++：≥25%，&lt;50%，+++：≥50%

ECC：内分泌細胞癌，SQCC：扁平上皮癌，tub1：腺癌

GM：Grimelius 反応，NSE，CgA，Ser，CEA，KL1，PKK1，A575：表3参照

1)：～16カ月，2)：24カ月，ND：Not examined

あり，全体としての平均径は158nmであった。EC型細胞は9%を占め，顆粒径を測定した3個は全てECnであった。

ECC10株とそのヌードマウス移植腫瘍はECC細胞のみから成り，植え込み腫瘍と比べ，平均顆粒数の減少とnonEC型細胞の増加傾向を認めた。培養株細胞ではnonEC型細胞が100%を占めた。NSGを測定した14個は，5個(36%)のD1型と9個(64%)のX型から成り，全体としての平均径は212nmであった。

また，ヌードマウス移植腫瘍ではnonEC型細胞は95

%を占め，NSGを測定した23個のうちD1型が5個(22%)，X型が18個(78%)で全体としての顆粒平均径は273nmであった。すなわち，培養株細胞とそのヌードマウス移植腫瘍ではP型細胞がみられず，D1型やX型細胞のみとなった。ヌードマウス移植腫瘍ではEC型細胞は5%で，NSGを測定した4個はECnとEC2がそれぞれ2個であった。図5にECC10株細胞の電顕像を示す。

### 3. ECC12株とその原腫瘍の性状

#### 1) 組織型と細胞形態・組織像(表7)

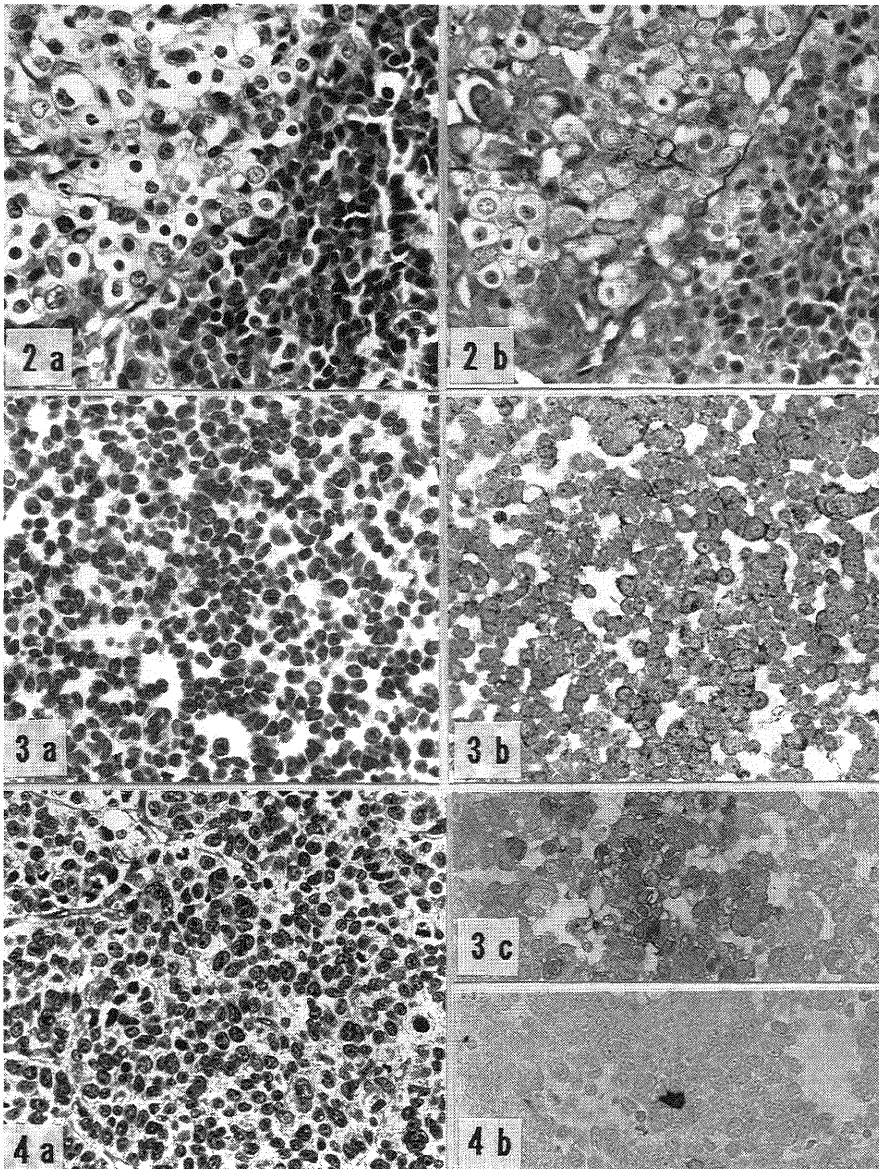


図 2 ECC 10 株胃原発腫瘍

- 2a. 内分泌細胞癌 (ECC) と扁平上皮癌 (SQCC) は移行を示す. HE 染色, 100倍  
 2b. ECC と SQCC 部は共に好銀顆粒を有する. Grimelius 反応, 100倍

図 3 ECC 10 株 (cell pellet: 32代, 24カ月)

- 3a. 原腫瘍の ECC 部分に良く似た小型細胞からなる. HE 染色, 100倍  
 3b. 大部分の細胞に好銀顆粒がみられる. Grimelius 反応, 100倍  
 3c. NSE 陽性細胞が集簇性にみられる. 免疫染色, 100倍

図 4 ECC 10 株細胞のヌードマウス移植腫瘍

- 4a. 原腫瘍 ECC 部分と同様の組織像を示す. HE 染色, 100倍  
 4b. Ser 陽性細胞 免疫染色, 100倍

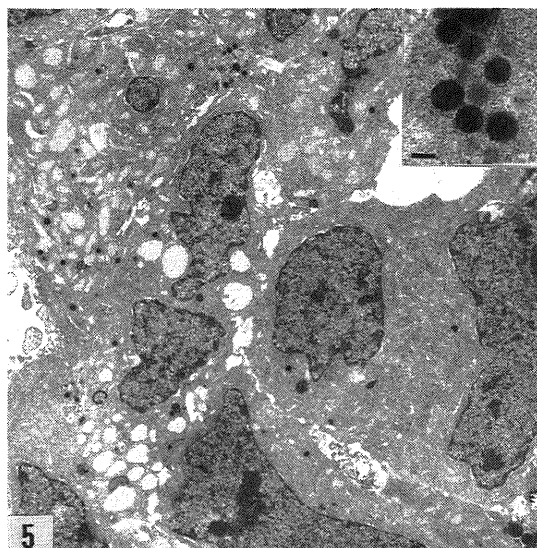


図5 ECC10株の電顕所見(16代, 19カ月)

ECC細胞のみからなり、大部分の細胞は円形内分泌顆粒を含有する。2,000倍  
右上は顆粒強拡大像。スケールは200nm。

原発腫瘍は表1のごとく、ECCのみから構成されていた。大部分は肺小細胞癌中間細胞型類似の充実性構造をとり、偽ロゼットや多数の核分裂像、高度脈管侵襲を伴っていた。細胞内粘液は陰性であった。

植え込み腫瘍の組織像は原発腫瘍部とほぼ同様であった(図6-a)。

株細胞の細胞形態(図7-a)やそのヌードマウス移植

腫瘍の組織像(図8)は植え込み腫瘍と同様であった。

## 2) 核の形態計測(表4)

原発腫瘍構成細胞は、核の面積、長径、短径のいずれも植え込み腫瘍とは5%の危険率で、またヌードマウス移植腫瘍とは1%の危険率で、有意に大きく、また、株細胞とは核の面積と長径は1%の危険率で、核短径は5%の危険率で有意に大きかった。原発腫瘍以外の腫瘍間では3項目とも有意差はなかった。しかし、原発腫瘍切片内の小リンパ球の核面積は植え込み腫瘍切片のそれより1.16倍と有意に大きく、原発腫瘍の標本作成過程での収縮率が低く、核形態計測値が大きいた事が予測された。リンパ球の値を基に補正すると原発腫瘍の核の面積、長径、短径はいずれも他の群との間に有意差を認めなかった。

## 3) 好銀反応および免疫組織化学(表7)

原発腫瘍の大部分では91%の細胞に Grimelius 反応陽性で Masson-Fontana 染色陰性の好銀顆粒がみられた。NSE, CgA, Ser, peptide YY (PYY), neuropeptide Y (PYY) および glicentin (Gli) 陽性細胞を認めた。もっとも多い CgA 細胞は3~4%, 次に多い PYY 細胞は1~2%にすぎず、その他の陽性頻度は非常に低かった。KL1 および PKK1 陽性ケラチンが大部分の細胞で陽性で、Z622 や A575 陽性ケラチンも多数の細胞で陽性であった。CEA は陰性であった。

植え込み腫瘍の好銀顆粒陽性率は68%で、原発部に比し軽度低下していた(図6-b)。原発部と同様に Ser 細胞, PYY 細胞, NPY 細胞を含み、更に原発部にはなかった glucagon (Glu) 細胞をごく少数含んでいた。

表6 ECC10株細胞の電顕所見  
—その異種移植腫瘍および原発腫瘍との比較

	顆粒保有細胞率(%)	細胞当りの平均顆粒数	細胞の割合(%)		nonEC				EC		
			nonEC	EC	細胞の個数(%)			顆粒径(nm) (範囲)	細胞型		
					P型	D1型	X型		ECn	EC1	EC2
株細胞 (16カ月)	88	5.0±3.1	100	0	0(0)	5(36)	9(64)	212±35 (156-257)	—	—	—
異種移植腫瘍	90	4.1±4.2	95	5	0(0)	5(22)	18(78)	273±77 (156-400)	+	—	+
植え込み腫瘍*	92	9.2±7.4	91	9	26(35)	39(52)	10(13)	158±38 (100-324)	+	—	—

EC: 多形(非円形)顆粒含有細胞, nonEC: 非多形(円形)顆粒含有細胞

ECn: 顆粒径<200 nm, EC1: 200 nm≤顆粒径<350 nm, EC2: 顆粒径≥350 nm

P: 顆粒径<140 nm, D1: 140 nm≤顆粒径<190 nm, X: 顆粒径≥190 nm

\*: ECC部



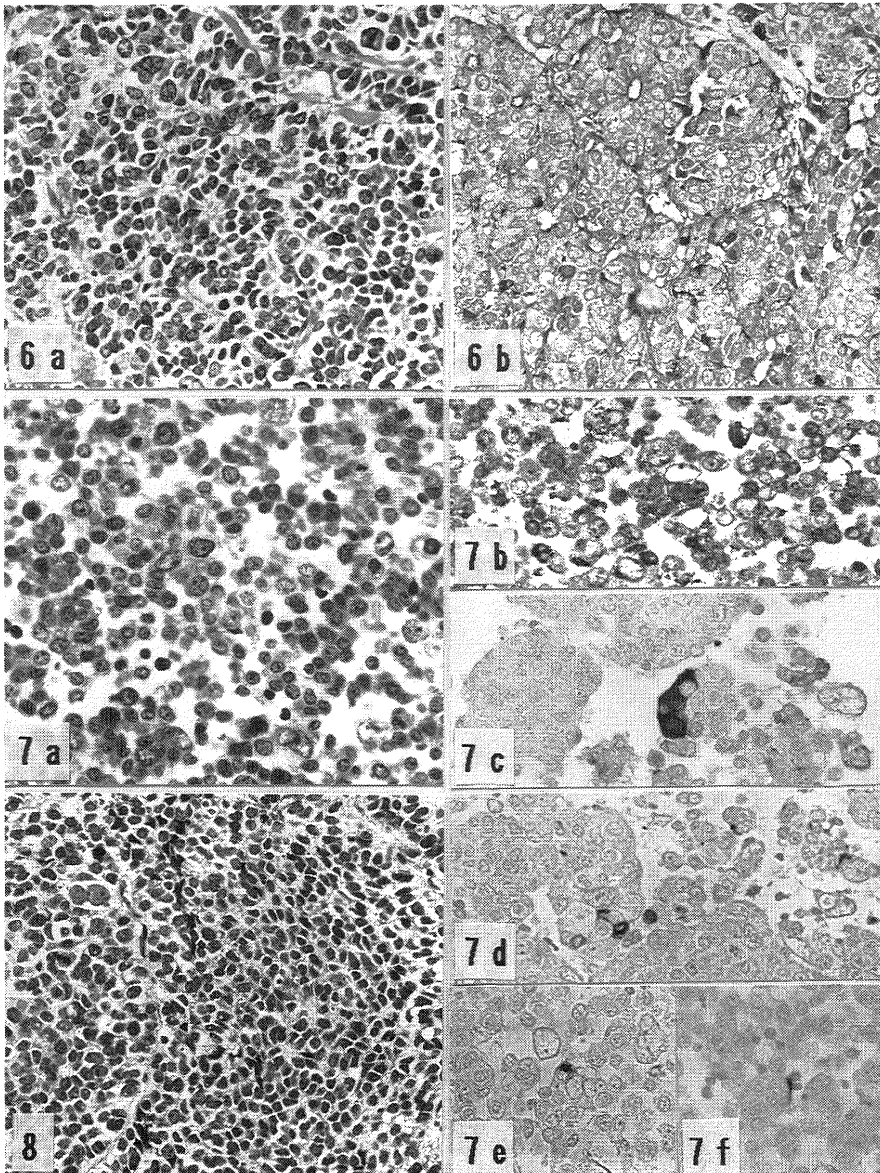


図 6 ECC 12株植え込み腫瘍

- 6a. 小型の細胞が充実性発育を示す。偽ロゼットを認める。 HE 染色，100倍  
 6b. 大部分の細胞に好銀顆粒がみられる。 Grimelius 反応，100倍

図 7 ECC 12株 (cell pellet, a, b: 23代，15カ月，c-f: 31代25カ月)

- 7a. 原腫瘍類似の細胞からなる。 HE 染色，100倍  
 7b. 大部分の細胞に好銀顆粒がみられる。 Grimelius 反応，100倍  
 7c. クロモグラニン陽性細胞， 7d. PYY 陽性細胞， 7e. NPY 陽性細胞，  
 7f. Ser 陽性細胞。 c-f: 免疫染色，100倍

図 8 ECC 12株細胞のヌードマウス移植腫瘍

- 原腫瘍類似の組織像を示す。 HE 染色，100倍

表7 ECC12株細胞の銀反応および免疫組織化学  
—その異種移植腫瘍および原腫瘍との比較

	GM (%)	NSE	CgA	Ser	PYY	NPY	Gli	Glu	CEA	Keratin		
										KL1	PKK1	A575
株細胞 (15ヵ月)	+++ (69)	+	+	+	+	+	-	-	-	+++	+++	++
異種移植腫瘍	+++ (70)	+	++	+	+	+	-	-	-	+++	+++	++
植え込み腫瘍	+++ (68)	+	+	+	+	+	+	+	-	+++	+++	+
胃原発腫瘍	+++ (91)	+	+	+	+	+	+	-	-	+++	+++	++

GM: Grimelius 反応,

NSE, CgA, Ser, PYY, NPY, Gli, Glu, CEA, KL1, PKK1, A575: 表3参照

表8 ECC12株細胞の電顕所見  
—その異種移植腫瘍および原腫瘍との比較

	顆粒保有 細胞率 (%)	細胞当りの 平均顆粒数	細胞型の割合 (%)		nonEC				EC		
					細胞の個数 (%)			顆粒径 (nm) (範囲)	細胞型		
			nonEC	EC	P型	D1型	X型		ECn	EC1	EC2
株細胞 (15ヵ月)	88	10.0±8.3	80	20	2(15)	10(77)	1(8)	161±25 (130-227)	+	+	-
異種移植腫瘍	73	7.3±9.1	91	9	6(32)	13(68)	0(0)	152±16 (126-171)	+	+	-
植え込み腫瘍	87	10.1±14.4	95	5	5(36)	6(43)	3(21)	164±51 (113-294)	+	+	-

EC: 多形(非円形)顆粒含有細胞, nonEC: 非多形(円形)顆粒含有細胞

ECn: 顆粒径&lt;200 nm, EC1: 200 nm≤顆粒径&lt;350 nm, EC2: 顆粒径≥350 nm

P: 顆粒径&lt;140 nm, D1: 140 nm≤顆粒径&lt;190 nm, X: 顆粒径≥190 nm

ケラチンや CEA の態度は原腫瘍と同様であった。

株細胞とヌードマウス移植腫瘍においては好銀反応陽性率は、植え込み腫瘍のそれにほぼ同一であった(図7-b)。免疫組織化学的には、Gli や Glu 細胞がみられない点を除くと植え込み腫瘍と同様であった(図7-c-f)。ECC12株細胞では細胞質封入体様の特異なケラチン陽性像が約20%の細胞にみられた。

### 3) 電顕所見(表8)

植え込み腫瘍は少数のデスモゾーム様接着装置と少量の細胞質内細線維をもつ細胞からなり、その87%に平均10個のNSGを認めた。

NSGは細胞突起に集簇傾向を示した。nonEC型細胞は95%を占め、顆粒径を測定した14個のうちP型は5個(36%), D1型は6個(43%), X型は3個(21%)で、全体としての顆粒平均径は164 nmであった。EC

型細胞は5%で、顆粒径を測定した3個はECnが2個でEC1が1個であった。

株細胞では88%の細胞が平均10個のNSGを有していた。nonEC型細胞は80%で、NSGを測定した13個のnonEC型細胞のうち、P型は2個(15%), D1型は10個(77%), X型は1個(8%)であり、全体としての顆粒平均径は161 nmであった。

EC型細胞は20%を占め、顆粒径を測定した約6個のうちECnが4個でEC1が2個であった。一方、ヌードマウス移植腫瘍では顆粒保有細胞の割合や平均顆粒数が僅かに減少した。nonEC型細胞は91%を占め、NSGを測定した19個のうちP型は6個(32%), D1型は13個(68%)で全体としての顆粒平均径は152 nmであった。EC型細胞は9%を占め、顆粒径を測定した12個のうち、ECnは2個でEC1が10個であった。株細胞と

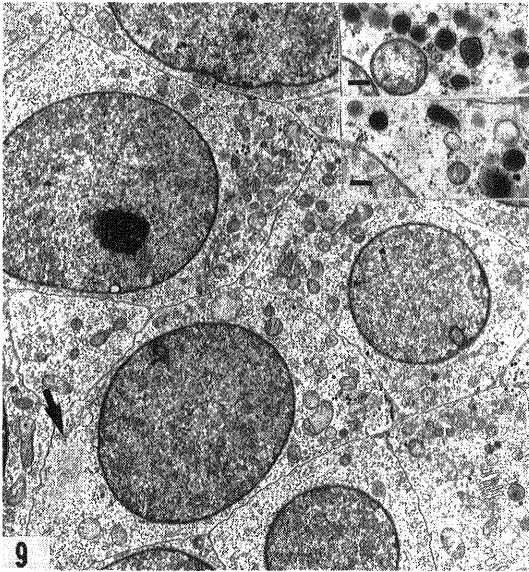


図 9 ECC 12 株の電顕所見 (23代, 15カ月)

大部分の細胞に内分泌顆粒を認める。矢印は細線維集合像を示す。2,000倍。

右上の upper 段は円形顆粒強拡大像。右上の lower 段は非円形顆粒強拡大像。スケールは 200nm。

そのヌードマウス移植腫瘍においては nonEC 型細胞のうち、P 型と D1 型細胞が主体を占めていた。

なお、株細胞の約 20% で核近傍に細線維集合体が見られ、免疫染色における封入体様ケラチン陽性像に対応していた。図 9 に ECC12 株の電顕所見を示した。

## 考 察

### 1. 胃 ECC10 株と ECC12 株の特性

#### 1) 形態学的・機能的特性

胃 ECC 両株構成細胞は、顕像ばかりでなく核形態計測値でも肺小細胞癌に類似し、比較的小型核を有する細胞から構成されていた。胃 ECC の核の大きさに関する文献は、核短径  $7\mu\text{m}$  以上とする岩渕らの報告があるにすぎない<sup>1)</sup>。この値は胃 ECC 両株細胞のそれより大きかったが、400 倍の視野で顕微鏡のマイクロメーターによる測定のために、核短径が過大評価されている可能性がある。

ECC 両株の機能特性を比較すると、ECC10 株では免疫組織学的に産生アミン・ペプチドは不明であるが、ECC12 株では Ser, PYY, NPY, CgA 等が証明される点で異なっていた。しかし、ECC12 株でもこれらの

陽性細胞の合計は Grimelius 法での顆粒保有細胞の 6% 以下と少なかった。外科切除材料の胃 ECC でも構成細胞の 60~90% に NSG が証明されるが、既知のアミンやペプチドは 11 例中 2 例 (18%) にしか証明されない<sup>4)</sup>。胃カルチノイド腫瘍でも同様であり、その原因として、顆粒内物質が全く未知の物質である可能性、今回検索対照外の既知のアミン・ペプチドの可能性、更には今回検索した既知物質であるが、その含有量が非常に少ないか、不完全な processing による前駆体や前駆体、あるいは異常なペプチドとして存在し、免疫組織化学的に陰性である可能性が考えられている<sup>14)</sup>。

#### 2) 培養特性

両株は倍加時間がほぼ同じで、染色体は異倍体であり、異種移植により造腫瘍性を有し、CEA 非産生株であるという共通性格を示した。培養形態も基本的には胃癌細胞株のなかで低分化充実型腺癌由来株の培養形態<sup>15)</sup> に最も類似し、ECC の生体内での充実性発育様式をよく反映していた。

#### 3) 原腫瘍との比較

培養細胞株を種々の研究に用いるためには、その細胞が生体内で保持していた形態や機能特性が in vitro で保持されているかどうかを確認する事が重要である。

ECC 両株は形態や機能特性の点で、それぞれの原腫瘍の ECC 部分と基本的には類似していた。少数の相違点は、ECC10 株で植え込み腫瘍に存在した SQCC 成分が消失し、電顕的には P 型細胞がなくなり、D1 型や X 型細胞のみとなったこと、ECC12 株では植え込み腫瘍にみられた Gli や Glu 陽性細胞が消失し、電顕的に X 型細胞が減少し、P 型や D1 型細胞の割合が増加したことであった。これらの変化は、植え込み腫瘍の構成成分 (組織型、内分泌細胞、および電顕的細胞型) そのものの一部消失または増減で、新たな成分の出現ではない。

上述相違点の原因として二つの可能性が考えられる。第一に植え込み腫瘍が複数の細胞クローンからなり、培養に移す時点からもしくは培養中にそれらの一部が失われる場合である。典型的な小細胞癌に少数の“大細胞”を混在する肺小細胞癌の培養では、培養早期に小細胞成分が脱落し大細胞成分のみが株化される<sup>12)</sup>。これは、第一の場合に相当する。第二は、株細胞は植え込み腫瘍と同一の細胞クローンから構成されているが、培養下における遺伝子発現調節が生体内と異なるために形質発現も異なる場合である。これに相当するものとして、クローン化した成長ホルモン産生ラット下垂体腫瘍細胞株が、イ

ンスリンや IGF-I 等によりプロラクチン産生細胞に転換する事が報告されている<sup>16)</sup>。胃 ECC 両株は異なる環境下（すなわちヌードマウス移植腫瘍）で形質変化を殆ど示さないことから、第一の機序の関与が示唆されるが、厳密には株細胞をクローン化した上で、更に検討する必要がある。

## 2. 胃 ECC 株とその原腫瘍の特徴からみた胃 ECC の発生母地

胃 ECC は通常型腺癌（特に分化型腺癌）中の腫瘍性内分泌細胞クローンから発生するといわれている<sup>1)5)</sup>。ECC10 株原発腫瘍ではこの経路が考えられた。他方、腺癌を共存しない ECC の発生経路としては、通常型腺癌由来（腺癌部分は ECC に置換されたり脱落した）、非腫瘍性多分化能幹細胞由来、非腫瘍性幼若内分泌細胞由来、典型的カルチノイド腫瘍由来が考えられている<sup>1)</sup>。ECC のみから成る ECC12 株原発腫瘍では、これらの発生経路のうち、前三者のどれかが考えられた。

消化管のカルチノイド腫瘍を構成する内分泌細胞や消化管癌に含まれる内分泌細胞の種類と密度は、その背景粘膜の内分泌細胞のそれらに類似する<sup>6)17)</sup>。

ECC12 株の原発腫瘍や植え込み腫瘍に含まれる PYY 細胞と Gli 細胞はヒト成人消化管では主として腸に分布するペプチドである<sup>18)19)</sup>。いずれも胎児期胃粘膜

には存在するが、成人胃粘膜では、PYY 細胞は萎縮胃底腺・偽幽門腺・幽門腺・腸上皮化生腺管に、Gli 細胞は腸上皮化生腺管にしか認められない<sup>18)19)</sup>。また、植え込み腫瘍にみられた Glu は PYY との共存が知られている<sup>20)</sup>。従って、これらのペプチドの発現は腫瘍細胞の fetalism ないしは腸上皮化生との関連を示唆すると考えられる。特に、後者との関連性は ECC12 株細胞、ヌードマウス移植腫瘍および植え込み腫瘍で ECn 型細胞の他に、腸上皮化生粘膜に分布する EC1 や EC2 型細胞のうち EC2 型細胞が出現する<sup>21)</sup>点からも窺えた。

一方、ECC10 株の培養初期やそのヌードマウス移植腫瘍にはごく少数の Ser 細胞を認めるが、ヌードマウス移植腫瘍では電顕的に ECn 型細胞の他に、EC2 型細胞も認める。従って、ECC10 株の場合にも、発生母地として腸上皮化生粘膜との関連が示唆された。

## 3. 胃 ECC 株と肺小細胞癌株および他の部位の小細胞癌株との比較（表 9 参照）

### 1) 形態特性の比較

肺小細胞癌株は L-dopa decarboxylase (DDC) と gastrin releasing peptide (GRP) が高値である classic type と、低値である variant type に大別され、後者は種々の点でより悪性度が高い<sup>11)12)</sup>。肺小細胞癌株 clas-

表 9 胃 ECC 株と他の部位の小細胞癌株との比較

細胞株	細胞の 大きさ	内分泌顆粒					産生アミン・ ペプチド	内分泌・その他の マーカー				培養特性		染色体		C-myc 増殖
		好銀反応 陽性細胞 頻度(%)	電顕観察					NSE	CgA	CEA	PKKI	増殖 形態 (一部)	倍加 時間 (Range)	モード	欠失 (3p)	
			顆粒 頻度	平均個数・ 密度	主たる 細胞型	直径 (nm)										
胃 ECC10	小	97	88%	5	非 EC	212	Ser *	+	-	-	-	浮遊→半付着	46	83	ND	ND
ECC12	小	70	88%	10	非 EC	161	Ser,PYY,NPY	+	+	-	+	付着	46	54	ND	ND
肺 <sup>1)</sup>																
SCLC-C	小	ND	ND	集簇-単個	ND	ND	bombesin/GRP,CT	+	+/-	+	+	浮遊(付着)	79(45-149)	ND	+	-
SCLC-BV	小	ND	ND	単個-集簇	ND	ND	bombesin/GRP,CT*	+	+/-	-	-	浮遊(付着)	97(80-125)	ND	+	-
SCLC-MV	大	ND	ND	なし-単個	ND	ND	bombesin/GRP,CT*	+	+/-	-	-	半付着, 付着	32(26-36)	ND	+	+
肺 <sup>2)</sup>	小	ND	ND	稀-多数	ND	ND	CT,ACTH, $\beta$ -endor, SS,LP,HCG,GH, PTH,prol,lipo,NF, ED,VP,Glu	ND	ND	ND	ND	半付着, 付着 (浮遊)	90-5W **	40-80	ND	ND
大腸 COLO <sup>3)</sup>	大	0	稀	ND	ND (EC?)	ND	Ser,NE,E,PTH, ACTH	ND	ND	-	ND	半付着	ND	ND	ND	+
皮膚 MKL-1 <sup>4)</sup>	大	ND	大部分	2-3	ND	80 -150	bombesin,ACTH,VIP, Leu-EK,SSP	+	ND	-	+	浮遊	120	47	-	-
子宮 TC-YIK <sup>5)</sup>	小	一部分	一部分	5-6	ND	ND	Ser,Gas	+	+	-	ND	付着	22	51	-	+

1) 肺小細胞癌株（文献11, 12, 28, 29, 38), 2) 肺小細胞癌株（文献25, 26, 37), 3) 大腸癌株（文献7), 4) 皮膚メルケル細胞癌株（文献9), 5) 子宮頸部小細胞癌株（文献10), LP: lipotrophin, HCG: human chorionic gonadotropin, GH: growth hormone, PTH: parathyroid hormone, prol: prolactin, NF: neurophysin, ED: estradiol, VP: vasopressin, NE: norepinephrin, E: epinephrin, leu-EK: leu-enkephalin, SSP: substance P, Other abbreviations: 表3参照, \*: 培養初期のみ, \*\*: weeks, #: low titer, ND: not examined

sis type (表 9, SCLC-C) は小細胞癌形態 (中間細胞型) を示し，一方，variant type には二種類あり，biochemical variant (表 9, SCLC-BV) は classic type 同様の小細胞癌形態を示すが，morphological variant (表 9, SCLC-MV) は“大細胞”類似形態を示す<sup>12)</sup>。

肺小細胞癌の核面積は，Nomori らの外科切除例の検討では，燕麦細胞型と中間細胞型でそれぞれ  $37.8 \mu\text{m}^2$ ， $42.2 \mu\text{m}^2$  であり，一方，大細胞癌では  $70.6 \mu\text{m}^2$  である<sup>22)</sup>。また肺小細胞癌の核長径は，Lee らの生検例の検討によると，燕麦細胞型と中間細胞型で  $7.3 \mu\text{m}$ ， $9.5 \mu\text{m}$  である<sup>23)</sup>。胃 ECC10 株と ECC12 株の核面積はそれぞれ， $32.2 \mu\text{m}^2$ ， $30.9 \mu\text{m}^2$  であり，両株の核長径は共に  $7.8 \mu\text{m}$  である。従って，胃 ECC 株は核面積，核長径のいずれの点でも肺小細胞癌燕麦細胞型に類似し，肺小細胞癌株の classic type または biological variant に相当すると考えられる。

肺小細胞癌株 classic type では電顕的に NSG が多いが，variant type では NSG は少ないか，全くみられない<sup>11)12)</sup>。ECC10 株と ECC12 株はいずれも電顕的に88%の細胞に NSG を認めるので，肺小細胞癌株 classic type に類似し，肺小細胞癌株 variant type とは異なっている。特に NSG を全く欠く肺小細胞癌株 variant type は，内分泌細胞分化度は低く，むしろ未分化癌株と考えるべきで，内分泌細胞分化の良好な胃 ECC 株とは区別して扱う必要がある。

ECC は構成細胞の大部分が NSG を有する<sup>1)</sup> が，肺小細胞癌は小細胞から構成され，必ずしも NSG は有せずともよい<sup>24)</sup>。従って，肺小細胞癌には，内分泌細胞分化の良好な例から，未分化癌に近いものまで含まれていることが予測され，ECC と比較する際には注意すべきであろう。

大腸癌由来株 COLO<sup>7)</sup> は消化管原発の神経内分泌腫瘍細胞株として種々の研究に用いられている。しかし，形態的には核小体の明瞭な大型細胞からなり，Grimelius 反応は陰性で，電顕的にも NSG は稀である<sup>7)</sup>。従って，COLO 株は胃 ECC 株とは異なり，肺小細胞癌株 morphological variant に類似する内分泌細胞分化の不良な細胞株である可能性が高い。

皮膚メルケル細胞癌株 MKL-1 は“大型細胞” ( $25 \sim 40 \mu\text{m}$ ) によりなるが，大部分の細胞が電顕的に NSG を保有する<sup>9)</sup>。MKL-1 株は胃 ECC 株同様内分泌細胞分化の良好な株と考えられる。

子宮頸部小細胞癌株 TC-YIK 株は形態的に“燕麦細胞”からなり，一部の細胞のみが電顕的に NSG を保

有する<sup>10)</sup>。胃 ECC 株に比べ，内分泌細胞分化はやや低い，近縁細胞株と推定される。

## 2) 産生アミン，ペプチドおよび内分泌マーカーの比較

初期に報告された肺小細胞癌株 (表 9, 肺<sup>2)</sup>) では，異所性のアミンやホルモン産生が示されているが，正所性物質については検討されていない<sup>25)26)</sup>。一方，最近報告された細胞癌株 (表 9, 肺<sup>1)</sup>)<sup>11)12)</sup> や，外科切除例<sup>27)</sup> の成績から，肺小細胞癌は bombesin/GRP 等の正所性のアミンやペプチドを主として産生すると考えられる。胃 ECC 株や胃 ECC 外科切除例<sup>4)</sup> でも同様である。

COLO 株は合計 8 種類，MKL-1 株は 5 種類，TC-YIK 株は 2 種類のアミンやペプチドを産生している<sup>7)9)10)</sup>。COLO 株では Ser 以外は異所性産生であるが，正所性物質については検討されていない。また MKL-1 株や TC-YIK 株ではこれらの由来臓器に分布する内分泌細胞の知見そのものが少ない。従って，これら 3 株では主たる産生物質が正所性かどうかは不明である。

しかし，少なくとも，肺小細胞癌と胃 ECC に関しては，それぞれの発生臓器特有のアミンやペプチドを産生するものと考えられる。

一方，アミンやペプチド陽性細胞の全構成細胞に占める頻度は，胃 ECC 株や胃 ECC 切除例<sup>4)</sup> のみならず，肺小細胞癌切除例<sup>27)</sup> でも低い。このような特徴は，胃 ECC と肺小細胞癌に共通である事が唆され，その原因として前述した種々の可能性が考えられる。

NSE は胃 ECC 両株，肺小細胞癌株<sup>28)</sup>，MKL-1 株および TC-YIK 株<sup>9)10)</sup> で陽性で，また CgA は ECC 12 株，肺小細胞癌株<sup>29)</sup>，TC-YIK 株<sup>10)</sup> で陽性である。これらも発生部位に左右されない内分泌細胞腫瘍マーカーと考えられる。

## 3) 培養特性の比較

肺小細胞癌培養形態は classic type では細胞間結合の強固な浮遊型が，variant type では細胞間結合の弱い半付着型および壁付着型が主体である<sup>11)12)</sup>。また NSG を有する細胞に壁付着型培養形態を示すものはない<sup>11)</sup>。NSG を有する肺以外の細胞株のうち，MKL-1 株は浮遊型<sup>9)</sup> であるが，TC-YIK 株<sup>10)</sup> や ECC12 株は壁付着性であり，肺小細胞癌株での知見と異なっている。

近年，細胞基質間や細胞間の接着に働く細胞膜表面の接着レセプターが分子レベルで明らかにされた。すなわち，細胞外基質構成成分 (ファイブロネクチン・ラミニン・コラーゲン等) との接着には，インテグリンファミ

りに属する各種レセプター<sup>30)~32)</sup>が関与し、一方、細胞同志の接着には、カドヘリン<sup>33)</sup>および N-CAM (神経細胞接着分子) 等<sup>34)</sup>の免疫グロブリンスーパーファミリーに属するレセプターが関与する。肺小細胞癌に特異性の高い cluster 1 抗原<sup>35)</sup>が細胞接着分子そのもの (N-CAM) である可能性も指摘されている<sup>36)</sup>。従って、胃 ECC 株や肺小細胞癌株の培養形態は接着分子の面からも再検討する必要がある。

肺小細胞癌株の倍加時間 (PDT) は classic type では長く、variant type では短い<sup>11)12)</sup>。また、PDT の短い株では c-myc 癌遺伝子増幅がみられる<sup>12)39)</sup>。PDT の点からみると、胃 ECC 株や MKL-1 株は、肺小細胞癌株 classic type に相当し、一方、TC-YIK 株は、morphological variant に相当する。

#### 5) 原腫瘍との比較

肺小細胞癌株 classic type や biological variant は原腫瘍と同様の小細胞癌形態を示すが、morphological variant は原腫瘍と異なり、“大細胞”類似形態を示す<sup>12)</sup>。原腫瘍の一部に“大細胞”を含む morphological variant は、“大細胞”クローン由来と推定されているが、原腫瘍が純粋小細胞癌である morphological variant もあり、この場合の由来細胞は明確にはされていない<sup>12)</sup>。

一方、COLO 株は、植え込みに用いた原発腫瘍に中分化腺癌とカルチノイド様成分が共存し、細胞株は後者の成分のみに由来する<sup>7)</sup>。MKL-1 株や TC-YIK 株は、基本的に原腫瘍と同様の細胞からなる<sup>9)10)</sup>。

しかし、MKL-1 株を除くこれらの細胞株では、含有内分泌細胞や NSG についての原腫瘍との比較は十分ではなく、筆者の胃 ECC 株と同程度に原腫瘍の特性を保持しているかどうかは明らかではない。

## ま と め

二種類の胃 ECC 株を樹立し、その培養特性、細胞(核)形態、アミンやペプチド陽性細胞の種類や頻度、および内分泌顆粒の保有頻度と電顕的特徴を明らかにし、胃以外の小細胞癌株との比較検討を行った。これらの胃 ECC 株は原腫瘍 ECC の性格を良く保持しており、NSG の含有物質の発現調節機構、ECC の生物学的特性および消化管以外的小細胞癌との比較等の研究に、有用な in vitro のモデルと考えられる。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、御校閲を賜りました渡辺英伸教授に深謝いたします。また、標本や写

真作成に御協力いただいた第一病理技官の皆様に御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) 岩淵三哉, 渡辺英伸, 石原法子, 野田 裕, 味岡洋一: I 消化管カルチノイドの病理 (2) 消化管のカルチノイドと内分泌細胞癌の病理—その特徴と組織発生—. 臨床消化器内科, 5: 1669~1681, 1990.
- 2) Watanabe, H., Jass, J.R. and Sobin, L.H. (eds.): Histological typing of oesophageal and gastric tumours. Springer-Verlag, Berlin, 1990.
- 3) Matsusaka, T., Watanabe, H. and Enjoji, M.: Oat-cell carcinoma of the stomach, Fukuoka Acta Medica, 67: 65~73, 1976.
- 4) 岩淵三哉, 石原法子, 渡辺英伸, 伊藤正毅, 矢内原昇: 胃内分泌細胞癌の構成細胞. 癌の臨床, 29: 92~93, 1983.
- 5) 岩淵三哉, 石原法子, 渡辺英伸: 胃内分泌細胞癌の組織発生. 癌の臨床, 30: 435~437, 1984.
- 6) 岩淵三哉, 渡辺英伸, 野田 裕, 味岡洋一, 遠城寺宗知, 伊藤正毅: 腸カルチノイドの病理. 胃と腸, 24: 869~882, 1989.
- 7) Quinn, L.A., Moore, G.E., Morgan, R.T. and Woods, L.K.: Cell lines from colon carcinoma with unusual cell products, double minutes, and homogeneously staining regions, Cancer Res, 39: 4914~4924, 1979.
- 8) Johnson, B.E., Whang-Peng, J., Naylor, S.L., Zbar, B., Brauch, H., Lee, E., Simmons, A., Russel, E., Nam, M.H. and Gazder, A.F.: Retention of chromosome 3 in extrapulmonary small cell cancer shown by molecular and cytogenetic studies, J Natl Cancer Inst, 81: 1223~1228, 1989.
- 9) Rosen, S.T., Gould, V.E., Salwen, H.R., Herst, C.V., Le Beau, M.M., Lee, I., Bauer, K., Marder, R.J., Andersen, R., Kies, M.S., Moll, R., Franke, W.W. and Radosevich, J.A.: Establishment and characterization of a neuroendocrine skin carcinoma cell line, Lab Inv, 56: 302~312, 1987.
- 10) Ichimura, H., Yamasaki, M., Tamura, I., Katsumoto, T., Sawada, M., Kurimura, O., Furuyama, J. and Kurimura, T.: Establishment

- and characterization of a new cell line TC-YIK originating from argyrophil small cell carcinoma of the uterine cervix integrating HPV 16 DNA, *Cancer*, **67**: 2327~2332, 1991.
- 11) **Carney, D.N., Gazder, A.F., Bepler, G., Guccion, J.G., Marangos, P.J., Moody, T.W., Zweig, M.H. and Minna, J.D.**: Establishment and identification of small cell lung cancer cell lines having classic and variant features, *Cancer Res*, **45**: 2913~2923, 1985.
  - 12) **Gazder, A.F., Carney, D.N., Nau, M.M. and Minna, J.D.**: Characterization of variant subclasses of cell lines derived from small cell lung cancer having distinctive biochemical, morphological, and growth properties, *Cancer Res*, **45**: 2924~2930, 1985.
  - 13) **Fukuda, T., Ohnishi, Y., Nishimaki, T., Ohtani, H. and Tachikawa, S.**: Early gastric cancer of the small cell type, *Am J Gastroenterol*, **83**: 1176~1179, 1988.
  - 14) **Iwafuchi, M., Watanabe, H., Yanaihara, N. and Ito, S.**: Immunohistochemical and ultrastructural characterization of gastric carcinoids, *Biomedical Res* **4**, Supplement, 307~314, 1983.
  - 15) **Motoyama, T., Hojo, H. and Watanabe, H.**: Comparison of seven cell lines derived from human gastric carcinomas, *Acta Pathol Jpn*, **36**: 65~83, 1986.
  - 16) **Inoue, K. and Sakai, T.**: Conversion of growth hormone-secreting cells into prolactin-secreting cells and its promotion by insulin-like growth factor-1 in vitro, *Exp Cell Res*, **195**: 1~6, 1991.
  - 17) **Iwafuchi, M., Watanabe, H., Ishihara, N., Enjoji, M., Iwashita, A., Yanaihara, N., Ito, S.**: Neoplastic endocrine cells in carcinomas of the small intestine, *Hum Pathol*, **18**: 185~194, 1987.
  - 18) **Iwafuchi, M., Watanabe, H., Ishihara, N., Shimoda, T., Iwashita, A. and Ito, S.**: Peptide YY immunoreactive cells in gastrointestinal carcinoids: immunohistochemical and ultrastructural studies of 60 tumors, *Hum Pathol*, **17**: 291~296, 1986.
  - 19) **Tsutsumi, Y.**: Immunohistochemical studies on glucagon, glicentin and pancreatic polypeptide in human stomach: normal and pathological conditions, *Histochem J*, **16**: 869~883, 1984.
  - 20) **Ali-Rachedi, A., Varndell, I.M., Adrian, T.E., Gapp, D.A., Van Noorden, S., Bloom, S.R. and Polak, J.M.**: Peptide YY (PYY) immunoreactivity is co-stored with glucagon-related immunoreactants in endocrine cells of the gut and pancreas., *Histochemistry*, **80**: 487~491, 1984.
  - 21) 岩淵三哉, 人見次郎, 佐々木 亮, 石原法子, 渡辺英伸: 消化管粘膜別にみた免疫活性セロトニン細胞の内分泌顆粒の特性—免疫組織化学と電顕による同一細胞の観察—, 第6回腫瘍マーカー研究会抄録集: 330~332, 1986.
  - 22) **Nomori, H., Shimosato, Y., Kodama, T., Morinaga, S., Nakajima, T. and Watanabe, S.**: Subtypes of small cell carcinoma of the lung: Morphometric, ultrastructural, and immunohistochemical analyses, *Hum Pathol*, **17**: 604~613, 1986.
  - 23) **Lee, T-K, Horner, R.D., Silverman, J.F., Jackson, D.V., Anderson-Goetz, D. and Scantino, C.W.**: Implications of nuclear diameter in small cell lung carcinoma. *Analyt Quant Cytol*, **12**: 78~84, 1990.
  - 24) **Sobin, L.H.**: Histological typing of lung tumors, 2., World Health Organization, Geneva, 1981.
  - 25) **Pettengill, O.S., Faulkner, C.S., Wurster-Hill, D.H., Maurer, L.H., Sorenson, G.D., Robinson, A.G. and Zimmerman, E.A.**: Isolation and characterization of a hormone-producing cell line from human small cell anaplastic carcinoma of the lung, *J Natl Cancer Inst*, **58**: 511~518, 1977.
  - 26) **Sorenson, G.D., Pettengill, O.S., Brinck-Johnsen, T., Cate, C.C. and Maurer, L.H.**: Hormone production by cultures of small-cell carcinoma of the lung, *Cancer*, **47**: 1289~1296, 1981.
  - 27) **Tsutsumi, Y.**: Immunohistochemical analysis of neuroendocrine substances in nonneoplastic lung and in neuroendocrine lung tumors, *Endocrine pathology update*, volume 1: 189~213, Field and Wood Medical Publishers, Inc, 1990, USA.
  - 28) **Batandier, C., Brambilla, E., Jacrot, M., Morel,**

- F., Beriel, H., Paramelle, B. and Brambilla, C.: Isozyme pattern of enolase in the diagnosis of neuroendocrine bronchopulmonary tumors, *Cancer*, **60**: 838~843, 1987.
- 29) Deftos, L.J., Linnoila, R.I., Carney, D.N., Burton, D.W., Leong, S.S., O'Connor, D.T., Murray, S.S. and Gazder, A.F.: Demonstration of chromogranin A in human neuroendocrine cell lines by immunohistology and immunoassay, *Cancer*, **62**: 92~97, 1988.
- 30) Pytela, R., Pierschbacher, M.D. and Ruoslahti, E.: Identification and isolation of a 140 kd cell surface glycoprotein with properties expected of a fibronectin receptor, *Cell*, **40**: 191~198, 1985.
- 31) Buck, C.A. and Horwitz, A.F.: Cell surface receptors for extracellular matrix molecules, *Ann Rev Cell Biol*, **3**: 179~205, 1987.
- 32) Hynes, R.O.: Integrins: A family of cell surface receptors, *Cell*, **48**: 549~554, 1987.
- 33) Yoshida, C., Suzuki, N. and Takeichi, M.: Molecular nature of the calcium-dependent cell-cell adhesion system in mouse teratocarcinoma and embryonic cell studied with a monoclonal antibody, *Dev Biol*, **101**: 19~27, 1984.
- 34) McClain, D.A. and Edelman, G.M.: A neural cell adhesion molecule from human brain. *Proc Natl Acad Sci. USA*, **79**: 6380~6384, 1982.
- 35) Hirano, T., Hirohashi, S., Kunii, T., Noguchi, M., Shimosato, Y. and Hayata, Y.: Quantative distribution of cluster 1 small cell lung cancer antigen in cancerous and non-cancerous tissues, cultured cells and sera, *Jpn J Cancer Res*, **80**: 348~355, 1989.
- 36) Patel, K., Moore, S.E., Dickson, G., Rossell, R.J., Beverley, P.C., Kemshead, J.T. and Walsh, F.S.: Neural cell adhesion molecule (NCAM) is the antigen recognized by monoclonal antibodies of similar specificity in small-cell lung carcinoma and neuroblastoma, *Int J Cancer*, **44**: 573~578, 1989.
- 37) Pettengill, O., Sorenson, G.D., Wurster-Hill, D.H., Curphey, T.J., Noll, W.W., Cate, C.C. and Maurer, L.H.: Isolation and growth characteristics of continuous cell lines from small-cell carcinoma of the lung, *Cancer*, **45**: 906~918, 1980.
- 38) Broers, J.L.V., Carney, D.N., Kleinrot, M., Schaart, G., Lane, E.B., Vooijs, G.P. and Ramaekers, C.S.: Intermediate filament proteins in classic and variant types of small cell lung carcinoma cell lines: A biochemical and immunochemical analysis using a panel of monoclonal and polyclonal antibodies, *J Cell Sci*, **83**: 37~60, 1986.
- 39) Matsumoto, T., Teraski, T., Mukai, K., Wada, M., Okamoto, A., Yokota, J., Yamaguchi, K., Kato, K., Nagatsu, T. and Shimosato, Y.: Relationship between nucleolar size and growth characteristics in small cell lung cancer cell lines, *Jpn J Cancer Res*, **82**: 820~828, 1991.

(平成3年8月30日受付)