

非腫瘍性大腸粘膜，大腸腺腫および大腸癌に出現 する内分泌細胞に関する免疫組織学的研究

新潟大学医学部外科学教室第一講座 須田 武保

Immunohistochemical Study on Endocrine Cells in Non-neoplastic
Mucosa, Adenoma and Carcinoma of the Colon and Rectum

Takeyasu SUDA

Department of Surgery, Niigata University, School of Medicine

Endocrine cells in 84 cases of non-neoplastic mucosa, 122 adenomas and 211 carcinomas of the colon and rectum were histochemically and immunohistochemically studied on their incidence, distribution and types. Moreover, histogenesis of endocrine cells in adenomas and carcinomas is discussed.

Argyrophil-positive cells were found in 100 of 122 adenomas (82.0%), and 107 of 211 carcinomas (50.7%), both showing a higher incidence than ever reported. Most of the cells were made up of serotonin cells. Glicentin/glucagon cells and neurotensin cells were small in population. Somatostatin cells and pancreatic polypeptide cells were rare in population. Endocrine cells in adenomas and carcinomas were similar, in both the type and relative population of cells, to those of the non-neoplastic mucosa, although the population of endocrine cells in adenomas and carcinomas was influenced by differentiation of neoplastic cells and structures.

These findings may suggest that endocrine cells in adenomas and carcinomas of the colon and rectum show similarity in cell types and population to those of the non-neoplastic mucosa, and that such endocrine cells are derived from primitive neoplastic cells with capability of multidirectional differentiation.

Key word: Immunohistochemistry, Neoplastic endocrine cell, PAP method, Colon and rectum, Adenoma and carcinoma.

腫瘍性内分泌細胞，酵素抗体法，大腸癌，大腸腺腫

はじめに

大腸癌および大腸腺腫の組織内に腫瘍性内分泌細胞が出現することは以前からよく知られている。この腫瘍性内分泌細胞の出現状況は、これまで光顕的に、Grimelius

法を用いた好銀性反応，Fontana-Masson 法を用いた銀親和性反応などの銀反応性を中心にして検討されてきた¹⁾²⁾。一方，近年免疫組織化学，特に酵素抗体法の進歩により，内分泌細胞の産生するアミンやペプチドの同定が可能となったため，これを利用して正常大腸粘膜³⁾，

Reprint requests to: Takeyasu Suda, 1st
Department of Surgery, Niigata University
School of Medicine, Asahimachi 1, Niigata
City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部外科学教室第一講座
須田 武保

大腸腺腫⁴⁾および大腸癌⁵⁾での内分泌細胞の出現状況が既に報告されている。しかしこれらは正常粘膜、腺腫、癌という各々の立場からの検討であり、大腸上皮性腫瘍全体を通して系統的に検討した研究はない。

本研究では、内分泌細胞の機能的側面を把握するために、正常大腸粘膜、大腸腺腫および大腸癌中の内分泌細胞がどのような種類のアミンおよびペプチドを産生するかを検索した。更に腫瘍化および腫瘍細胞悪性度の増加に伴い、腫瘍性内分泌細胞への分化程度や同細胞の産生アミン・ペプチドの種類がどのように変化するかも検索した。併せて、腫瘍性内分泌細胞の発生源地についても検討した。

材料と方法

研究対象は、新潟大学医学部第一病理学教室および第一外科学教室で検索された大腸の外科的切除材料と内視鏡的ポリペクトミー材料である。対象病巣の個数は、大腸癌211個(168症例)、大腸腺腫122個(94症例)、非腫瘍性大腸粘膜84個(72症例)である。いずれも家族性大腸腺腫症例は除外した。その病巣別内訳を Table 1 に示す。

切除材料は、10%ホルマリン溶液にて固定し、原則として腫瘍の中心を通る全割組織片を切り出し、パラフィン包埋後、4μmの連続切片を作成した。各切片には、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色、Grimelius 法による好銀性反応および酵素抗体法・Peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法⁶⁾によるアミン、ペプチドに対する免疫組織化学を施行した。

用いたアミン・ペプチドは、Serotonin (Ser) (抗血清清製：宇尾、×2,400希釈)、Neurotensin (Neu) (同：矢内原、×1,000希釈)、Pancreatic Polypeptide (PP) (同：伊藤、×8,000希釈)、Somatostatin (So) (同：伊藤、×200希釈)、Glicentin/Glucagon (Gli/Glu) (同：DAKO、×200希釈)である。一次抗血清は、い

ずれもウサギを免疫して得られたものである。これに二次抗体として、抗ウサギ IgG ヤギ血清(日本抗体研究所)と PAP (ウサギ, DAKO)を用いた酵素抗体法を施行した。一次抗血清の特異性は、当該抗原による前吸収血清ないし免疫動物の正常血清を用いた反応で確認した。内因性ペルオキシダーゼを除去するために、0.3%過酸化水素を含むメタノール組織切片を20分間浸した。PAP 法施行後の核染色には Methyl-Green 染色を用いた。

粘液産生の程度を確認するために一部の癌では High iron diamine-Alcian blue, pH 2.5 (HID-AB) 染色⁷⁾を施行した。

なお、Grimelius 法による好銀性反応および PAP 法による免疫化学反応の良否は、同一切片の非腫瘍性粘膜上皮内又は同時に染色した既知の検体中の陽性対照細胞が認められるか否かにより判定した。各染色での陽性細胞の判定並びに同細胞の出現程度の表現法は以下の基準によった。

1) 陽性細胞の判定法

腫瘍性陽性細胞(癌、腺腫)は、いずれの反応でも明らかに腫瘍性の腺管上皮内又は胞果内に存在し、かつ細胞学的に腫瘍細胞と診断するに十分な異型性を示す細胞に限定した。非腫瘍性陽性細胞は、腫瘍病巣から 1cm 以上離れて、腫瘍による影響が少ないと考えられる、しかも炎症、変性、萎縮のない粘膜の細胞を用いた。

Grimelius 反応の切片では、細胞質内に褐色から黒色の顆粒が見られる細胞を陽性細胞と判定し、明らかな変性細胞や壊死、出血巣近傍にみられる細胞辺縁に銀粒子を付着しただけの細胞は陽性の判定から除外した。免疫組織化学反応の切片では、細胞質内に褐色の非空胞状顆粒を認める細胞のみを陽性細胞とした。

2) 陽性細胞の出現頻度

陽性内分泌細胞が認められた症例を陽性細胞の量に関係なく陽性症例とし、これを対象症例全体に対する割合で表現したものを出現頻度とした。

3) 陽性細胞の出現程度の表現法

Iwafuchi ら⁸⁾が小腸腫瘍で用いた内分泌細胞の出現程度の表現法を一部変更して以下のようにした。

陽性細胞の出現様式の表現法として、100倍(接眼レンズ10倍、対物レンズ10倍)拡大視野を単位区画として病巣全体を観察し、陽性内分泌細胞を認める区画数が病巣全体区画数の半数以上の場合をび慢性出現、それ以下の場合を限局性出現とした。その出現程度(密度)の表現法として、陽性内分泌細胞が最も多く出現している部

Table 1 Number of Lesions of the Colon and Rectum

1. Carcinoma	211
limited to the mucosa (m)	66
invading to the	
submucosa (sm)	46
muscular layer (pm)	19
subserosa and further (ss~)	80
2. Adenoma	122
3. Non-neoplastic mucosa	84

Table 2 Grading of Occurrence of Endocrine Cells

Grade	Number of endocrine cells per unit-area*	
	Diffuse type	Focal type
Null : (-)	0	0
Low : (+)	1 - 5	1 - 10
Medium : (++)	6 - 20	11 - 40
High : (++++)	21 -	41 -

*unit-area : 0.5mm×0.5mm at a magnification of ×200.
(From Iwafuchi, et al⁸⁾, partly modified)

において, 200倍(接眼レンズ10倍, 対物レンズ20倍)拡大で0.5mm×0.5mmの面積内に存在する陽性細胞を数え, 無~高度までの4段階に分類し表現した(Table 2).

非腫瘍性大腸粘膜の内分泌細胞の出現程度も, 腫瘍中の内分泌細胞の出現程度との比較を容易にするために, 200倍拡大で粘膜深部の0.5mm×0.5mm区画内に存在する内分泌細胞を数え, 腫瘍の場合と同一の判定基準で4段階に分類した.

大腸癌の占拠部位および組織分類は, 大腸癌取扱規規約⁹⁾に従って行われた. 組織分類の項で髄様型低分化腺癌は低分化腺癌に含めた.

大腸腺腫の異型度は大きく2つに分類した. すなわち高度異型を示す high grade atypia 群と中等度~軽度異型を示す low grade atypia 群とに2大別した.

有意差検定には χ^2 検定を用いた.

成 績

1) 非腫瘍性大腸粘膜

好銀反応陽性細胞は大多数が陰窩底部に存在し, 陰窩表層になるにつれて, その数は減少し, 陰窩表層部では極く少数, しかも稀に存在する程度であった. 同細胞の出現程度は, 横行結腸を含む右側結腸で全例中等度であったが, 左側結腸から直腸では中等度~高度であり, 特に直腸に出現程度の高度例が多かった.

酵素抗体法でみると Ser 細胞が98.8%と最も高頻度に出現し, Gli/Glu 細胞, Neu 細胞, PP 細胞および So 細胞は, それぞれ50.0%, 42.9%, 27.4%および22.6%であった.

出現程度をみても Ser 細胞は84例中75例で中等度~高度に出現するのに対して, Gli/Glu 細胞, Neu 細胞, PP 細胞および So 細胞は一般に少数しか出現してい

Table 3 Incidence and Occurrence of Endocrine Cells in Non-neoplastic Mucosa of the Colon and Rectum

Cell type	Grading of occurrence of endocrine cell				Total (%)
	(-)	+	++	+++	
Argyr	0	0	57	27	84/84 (100.0)
Ser	1	8	62	13	83/84 (98.8)
Gli/Glu	42	38	4	0	42/84 (50.0)
Neu	48	30	6	0	36/84 (42.9)
PP	61	23	0	0	23/84 (27.4)
So	65	19	0	0	19/84 (22.6)

Argyr ; Grimelius-positive argyrophil cells, Ser ; Serotonin, Gli/Glu ; Glicentin/Glucagon, Neu ; Neurotensin, PP ; Pancreatic polypeptide, So ; Somatostatin

なかった. 連続切片で比較すると好銀反応陽性細胞の30~99%は Ser 細胞であった. 同一細胞に2種類以上のアミン・ペプチドが認められた例は1例もなかった. 大腸部位別にみると, Ser 細胞と Gli/Glu 細胞は, S 状結腸, 直腸で出現頻度, 出現程度共に高い傾向を示したが, Neu 細胞, PP 細胞および So 細胞では, 大腸の部位に関係なく出現頻度, 出現程度共に低かった(Table 3).

2) 大腸腺腫

大腸腺腫122個のうち好銀反応陽性細胞は100個(82.0%)に認められた.

同細胞は腺腫組織の下1/2~1/3の部分に出現しており, 正常腺管での好銀反応陽性細胞の分布に近似していた. 酵素抗体法で Ser 細胞は, 122個の腺腫のうち84個(68.8%)と最も高頻度に認められ, 次いで Gli/Glu 細胞が23個(18.9%), PP 細胞が11個(9.0%), Neu 細胞が10個(8.2%)および So 細胞が3個(2.5%)に認められた. 出現程度をみると好銀反応陽性細胞は36%の症例で中等度~高度に出現していた. Ser 細胞は, 同細胞陽性例84個うち22個(26%)で中等度~高度に出現していた. 他のペプチド含有細胞は大部分の例で散在性に極く小數出現しているのみで, 高度に出現したものは1例もなかった(Table 4, Fig. 1).

連続切片および mirror-image 切片の観察では1症例だけではあるが, 同一細胞に Ser と Neu の2種類の物質を含む腺腫細胞が少数個認められた. この腺腫で

Table 4 Incidence and Occurrence of Endocrine Cells in Adenoma of the Colon and Rectum

Cell type	Grading of occurrence of endocrine cell				Total (%)
	(-)	+	++	+++	
Argyr	22	64	23	13	100/122(82.0)
Ser	38	62	17	5	84/122(68.8)
Gli/Glu	99	23	0	0	23/122(18.9)
Neu	112	8	2	0	10/122(8.2)
PP	111	10	1	0	11/122(9.0)
So	119	3	0	0	3/122(2.5)

も Ser 細胞と Neu 細胞の出現数は大きく異なり Ser 細胞の方が圧倒的に多数出現していた (Fig. 2)。

腺腫を組織型別、すなわち腺管腺腫 (110個) と腺管絨毛腺腫および絨毛腺腫 (合計12個) の2群に分けて内分泌細胞の出現状況を比較した。好銀反応陽性細胞はそれぞれ75個 (68.2%), 9個 (75.0%) に認められ、出現頻度の点でこの両者間に有意差はなく、同細胞の分布状態にも差は認めなかった。アミン・ペプチド細胞もその出現頻度や出現程度共に二組織型間に差はなかった (Fig. 3)。

組織異型度別、すなわち高度異型群 (36個) と軽度～中等度異型群 (86個) で内分泌細胞の出現状況に差があるかどうかを比較検討した。好銀反応陽性細胞およびアミンペプチド細胞の出現頻度や出現程度共に二群間で差はなかった。

腺腫の発生部位別によって腺腫内の内分泌細胞の出現状況が変化するかどうかを観察した。発性部位別による腺腫内の好銀反応陽性細胞の出現率は、それぞれ盲腸 6/6個 (100%), 上行結腸 13/21個 (61.9%), 横行結腸 7/10個 (70.0%), 下行結腸 6/7個 (85.7%), S 状結腸 32/37個 (86.5%), 直腸 36/41個 (87.8%) であった。盲腸および左側結腸、直腸の腺腫に同細胞が多く出現する傾向を認めたが、発生部位別で好銀反応陽性細胞の出現率に有意差はなかった。出現程度も部位別で差は認められなかった。産生物質の面からみると Gli/Glu 細胞は左側結腸、直腸の腺腫に高頻度に出現する傾向を認めたが、他の種類の細胞は、腺腫の発生部位に関係なく、出現頻度や出現程度の点で差を示さなかった。

3) 大腸癌

大腸癌 211個のうち好銀反応陽性細胞は107個 (50.7%)

Table 5 Incidence and Occurrence of Endocrine Cells in Carcinoma of the Colon and Rectum

Cell type	Grading of occurrence of endocrine cell				Total (%)
	(-)	+	++	+++	
Argyr	103	74	17	16	107/211(50.7)
Ser	164	35	7	5	47/211(22.3)
Gli/Glu	201	10	0	0	10/211(4.7)
Neu	195	16	0	0	16/211(7.6)
PP	205	6	0	0	6/211(2.8)
So	209	2	0	0	2/211(0.9)

に出現していた (Table 5)。

同細胞の出現程度が中等度～高度のものは33個で、これは癌全体の15.6%を占めていた。アミン・ペプチド細胞の出現状況をみると、Ser 細胞は47個 (22.3%) に出現しており、同細胞の出現程度が中等度～高度の例が12個認められた。Neu 細胞は16個 (7.6%), Gli/Glu 細胞は10個 (4.7%), PP 細胞は6個 (2.8%) および So 細胞は2個 (0.9%) に出現していたが、これら細胞の出現程度が中等度～高度のものは1個もなく、全例で陽性細胞が散在性に少数認められたのみであった。

好銀反応陽性細胞が高度に出現した16個の癌で産生アミン・ペプチドの種類をみると Ser 細胞が11個に出現しており、その出現程度は高度5個、中等度5個および軽度1個であった。これに対しては、Neu 細胞は4個、PP 細胞は1個、Gli/Glu 細胞は1個に出現しており、その出現程度はいずれも軽度 (限局性) であった (Fig. 4, 5)。また同一癌組織内に2種類以上の産生物質が認められたものは14個で (2種類……12個, 3種類……2個)、そのうち9個で Ser 細胞が出現していた。癌に出現する好銀反応陽性細胞はその多くが Ser 細胞から構成されていた。

大腸癌の組織型別からみた内分泌細胞の出現状況を検討した (Table 6)。高分化腺癌144個のうち74個 (51.3%) に好銀反応陽性細胞が出現していた。Ser 細胞が上述74個のうち36個 (25.0%) と最も高頻度に認められ、出現程度も他の組織型に比べて高密度であった。4種類のペプチド細胞も低い出現頻度と出現程度ながらも認められた。高分化腺癌の1例に腺腫でみられたと同様に Ser と Neu を同時に含む細胞が少数個出現していた。

中分化腺癌37個のうち19個 (51.4%) に好銀反応陽性

Table 6 Incidence of Endocrine Cells in Carcinoma of the
Colon and Rectum by Histological Type

Hist. type	No. of carcinomas examined	Cell type					
		Argyr	Ser	Gli/Glu	Neu	PP	So
Well.	144	74(51.3)	36(25.0)	6(3.5)	7(4.9)	6(4.2)	1(0.7)
Mod.	37	19(51.4)	8(21.6)	0	4(10.8)	0	1(2.7)
Por.	18	9(50.0)	3(15.8)	3(15.8)	3(15.8)	0	0
Muc. Sig.	12	5(41.7)	0	2(18.2)	2(18.2)	0	0

Well : Well differentiated adenocarcinoma (%)
 Mod. : Moderately " "
 Por. : Poorly " "
 Muc. : Mucinous carcinoma
 Sig. : Signet-ring cell carcinoma

細胞が認められた. このうち8個(21.6%)に Ser 細胞が認められた. Ser 細胞の出現程度が中等度~高度例も2個存在し, 中分化腺癌でも Ser 細胞が高頻度, 高密度に出現していた. Neu 細胞と So 細胞も少数例に出現していたが, その出現細胞数は極く少数であった. PP 細胞および Gli/Glu 細胞は認められなかった.

低分化腺癌19個と粘液癌および印環細胞癌11個では, 好銀性反応陽性細胞がそれぞれ10個(52.6%), 4個(36.4%)に出現していた. また髄様型低分化腺癌7個のうち1個に好銀反応陽性細胞が散在性かつ高密度に出現していた(Fig. 6). 分化型癌(高分化腺癌と中分化腺癌)で高頻度・高密度に出現していた Ser 細胞は低分化腺癌で3個にのみ認められただけで, 粘液癌および印環細胞癌には認められなかった(Fig. 7). Neu 細胞および Gli/Glu 細胞は少数例で極く少量出現していたが, PP

細胞および So 細胞は全く出現していなかった. 低分化型癌では出現するアミン・ペプチド細胞の種類は少なく, 出現してもその頻度および程度ともに低かった. これに対して分化型癌では, 出現するアミン・ペプチド細胞の種類は多く, 出現程度も腺管形成の強い, より分化した癌の方が又細胞異型の弱い癌の方が高い傾向を示した.

次に低分化腺癌, 粘液癌および印環細胞癌の粘液産生状況と好銀反応陽性細胞の出現頻度との相関を検討した. HE 染色と HID-AB 染色からみて粘液部分が約20%以上占める群とそれ以下の群と比較すると, 好銀反応陽性細胞は前者の癌16個中9個(56.3%)に, 後者の癌14個中5個(35.7%)に出現していた. 粘液産生能の高い癌に好銀反応陽性細胞の出現頻度が高い傾向を認めたが, 両者間に有意の差はなかった.

Table 7 Incidence of Endocrine Cells in Carcinoma
of the Colon and Rectum by Location

Location	No. of carcinomas examined	Cell type					
		Argyr	Ser	Gli/Glu	Neu	PP	So
Cecum	16	11(68.8)	5(31.2)	1(6.2)	2(12.5)	1(6.3)	0
Ascending colon	23	9(39.1)	4(17.4)	0	2(8.6)	0	1(4.3)
Transverse colon	24	12(50.0)	6(25.0)	2(8.6)	4(16.7)	0	0
Descending colon	14	6(42.9)	2(14.3)	0	0	0	0
Sigmoid colon	50	22(44.0)	7(14.0)	2(4.0)	3(6.0)	2(4.0)	1(2.0)
Rectum	84	47(60.0)	23(27.4)	5(6.0)	5(6.0)	3(3.6)	0

(%)

Table 8 Incidence of Endocrine Cells in Carcinoma of the Colon and Rectum by Depth of Invasion

Depth of invasion	No. of carcinomas examined	Cell type					
		Argyr	Ser	Gli/Glu	Neu	PP	So
m	66	37(56.1)	18(27.3)	4(6.1)	1(1.5)	3(4.5)	0
sm	46	24(52.2)	15(32.6)	0	1(2.1)	1(2.1)	1(2.1)
pm	19	11(57.9)	4(21.0)	1(5.3)	1(5.3)	0	0
ss ~	80	35(43.8)	10(12.5)	5(6.3)	13(16.3)	2(2.5)	1(1.3)

m : mucosa, sm : submucosa, pm : proper muscle, ss~ : subserosa ~ (%)

大腸癌の発生部位別での内分泌細胞の出現状況 Table 7 に示しているが、好銀反応陽性細胞の出現頻度は癌の発生部位には無関係であった。Ser 細胞が何れの部位の癌でも頻度的にも量的にも出現している陽性細胞の主体であった。直腸癌、S 状結腸癌および盲腸癌で多種類の陽性細胞が認められたのに対して、上行結腸癌、横行結腸癌及び下行結腸癌では出現している陽性細胞の種類が少なく、特に下行結腸癌においては Ser 細胞が2個に認められたのみであった。しかし、これらアミン・ペプチド細胞の出現状況と癌の発生部位別との間にも有意差はなかった。

大腸癌の壁深達度と好銀反応陽性細胞およびアミン・ペプチド細胞の出現頻度、種類および密度について検討した (Table 8)。好銀反応陽性細胞の出現頻度は粘膜内に限局した癌 (m)~固有筋層に達した癌 (pm) まで 52.2~57.9% とほとんど同じであったが、漿膜下層以深にまで浸潤した癌 (ss~) で 43.8% とやや低下していた。出現程度はいずれの深達度の癌でも著明な差はなかった。m 癌と sm 癌では好銀反応陽性細胞が癌の粘膜内部分、特に粘膜深部に、より多く出現していた (Fig. 8)。アミン・ペプチド細胞のうち Ser 細胞が、m 癌、sm 癌、pm 癌でそれぞれ 27%、33%、21% に比較的高密度に出現し、アミン・ペプチド細胞の主体を成していた。しかし漿膜下層以深に浸潤した癌 (ss~) では Ser 細胞の出現頻度、密度共に減少していた。ペプチド細胞は ss~ 癌で Neu 細胞が 16% と比較的高く出現した以外は、癌の深達度別にみても出現状況に著明な差はなかった。

考 察

多種類の内分泌細胞が正常消化管粘膜の上皮内に存在することが知られている¹⁰⁾。酵素抗体法を用いた検索で Sjölund ら³⁾は結腸、直腸で 5-HT (Ser) 細胞、

Gli 細胞、So 細胞および pro- γ -MSH 細胞がみられ、前二者が量的に多い内分泌細胞であるとしている。同様に堤¹¹⁾、Iwafuchi ら¹²⁾も大腸では、Ser 細胞、Gli 細胞および Peptide YY 細胞が多く認められると述べている。今回の研究では、アミン・ペプチドのうち正常大腸粘膜の上皮内に多いとされる Ser、Gli/Glu、So、PP および Neu の5種類を用いて、非腫瘍性大腸粘膜の内分泌細胞および大腸腺腫、大腸癌組織中の腫瘍性内分泌細胞の出現状況を検索した。その結果、非腫瘍性大腸粘膜では Ser 細胞が結腸、直腸の部位を問わず最も高頻度、高密度に出現し、好銀反応陽性細胞の主体を成していた。次に Gli/Glu 細胞、Neu 細胞が多く出現し、PP 細胞および So 細胞はその出現頻度および密度共に低かった。この成績は Sjölund ら³⁾、堤¹¹⁾、Iwafuchi ら¹²⁾および Fiocca ら¹³⁾の酵素抗体法による成績と、また大腸の生検材料を用いた Osaka ら¹⁴⁾、Cristina ら¹⁵⁾の電顕による成績ともほぼ一致するものであった。

腫瘍における好銀反応陽性細胞の出現頻度は大腸腺腫 100/122個 (82.0%)、大腸癌 107/211個 (50.7%) であった。これはこれまで報告されている Ingh ら⁴⁾による大腸腺腫 129/218個 (59%)、岩下²⁾による大腸癌 111/251個 (44.1%)、Smith ら¹⁶⁾による大腸癌 19/94個 (20%) に比して高い頻度を示していた。しかし、これらの大腸癌での好銀反応陽性細胞出現頻度は、Iwafuchi ら⁸⁾による小腸癌 18/24 (75.0%) のそれに比して何れもかなり低い値となっていた。これは未分化癌細胞の内分泌細胞への分化が小腸癌でより強いためと推測されている⁸⁾。大腸と小腸の正常粘膜を比較しても内分泌細胞の種類、密度共に小腸の方が大腸よりも高い³⁾。小腸癌もまた正常粘膜に似た性質を保持しているであろう。

アミン・ペプチド細胞の出現頻度は大腸腺腫および大腸癌でそれぞれ Ser 細胞 68.8%、22.3%、Gli/Glu 細

胞18.9%, 4.7%, Neu 細胞8.2%, 7.6%, PP 細胞 9.0%, 2.8%, および So 細胞 2.5%, 0.9%であった。大腸腺腫や大腸癌に関して、同様の成績が少数報告されている⁴⁾⁵⁾。大腸の腫瘍性病変ではアミン・ペプチド細胞の種類とその出現率・出現程度の順位は非腫瘍性大腸粘膜のそれらに類似するものであった。

前述の大腸腫瘍ばかりでなく、胃の低分化腺癌および印環細胞癌でも Gastrin (Gas), So, Glu¹⁷⁾ および Calcitonin¹⁸⁾, Gli¹⁹⁾, 分化型腺癌でも Ser²⁰⁾ を産生し、胃の腺腫でも Ser, Glu, So, Motilin, Gas²¹⁾, Gas や Gli²²⁾ を産生し、小腸癌も Ser を初めとする11種類のアミン・ペプチド⁸⁾を産生する。これら胃癌、胃腺腫および小腸癌の報告例でも腫瘍内のアミン・ペプチド細胞の種類とその出現率・出現程度の順位はその背景粘膜のそれらをよく模倣していることがわかる。

大腸腫瘍内の好銀反応陽性細胞やアミン・ペプチド細胞の出現状況は正常粘膜のそれを模倣してはいるが、腫瘍組織そのものの状況に影響されていることも明らかである。即ち、これら細胞の出現頻度や出現程度が癌より腺腫で高いこと、癌の中でも分化型癌に高いこと、分化型の中でも異型度の弱いものに高いこと、低分化腺癌の中でも粘液産生という機能分化の亢進したものに高いことなどがそれを物語っている。

岩下²⁾は大腸癌組織内の好銀細胞数と銀還元細胞数との比を大腸正常粘膜内のそれと比較し、圧倒的に癌組織の方に好銀細胞が多いことを指摘した。そしてこの現象を未熟癌細胞が銀還元細胞より好銀細胞へより分化しやすいためと推論している。しかし、癌細胞が各種アミン・ペプチドの前駆体を産生分泌している可能性も考えられる。このために見かけ上、銀還元細胞が少なくなっている可能性もあろう。また一方では、癌細胞が作る内分泌顆粒が不均一かつ不完全なため、その顆粒が本来の高度な機能を保持できないことも考えられる。このことに対して Human chorionic gonadotropin (HCG)でも培養腫瘍細胞で、HCG subunit の不均一な合成があることが報告されている²³⁾。

この腫瘍性内分泌細胞は内胚葉由来⁵⁾²⁴⁾²⁵⁾と推測されている。腺腫や癌では内分泌細胞だけでなく、杯細胞、Paneth 細胞あるいは扁平上皮化生を伴うものもあり¹⁾²⁶⁾²⁷⁾、同一腫瘍細胞内に内分泌顆粒と粘液を同時に有する細胞もあることが報告されている²⁾。従って、腺腫や癌では多潜能腫瘍細胞が母細胞となって内分泌細胞を含む種々の細胞へ分化すると推測される²⁾²⁸⁾。

次に(古典的)カルチノイドの組織発生との違いにつ

いて考えてみたい。直腸に発生するカルチノイドは純粹に一種類の細胞いわゆる内分泌細胞から構成され、PP細胞を高頻度に、しかも多量に有し²⁹⁾、Ser細胞を主体とするものの発生頻度は10%程度である³⁰⁾。また直腸カルチノイドは腺癌を伴うことはなく、細胞内で粘液を産生することもない。即ち、直腸カルチノイドと大腸腺腫や大腸癌とでは内分泌細胞の種類、その他の構成細胞、組織構築ばかりでなく、生物学的態度も大いに異なっている。以上より、癌は多潜能細胞(前期原基細胞)から発生し、カルチノイドは内分泌細胞への分化が運命づけられた幼若細胞(後期原基細胞)から発生すると考えられる³¹⁾。

ヒト大腸における PP ないし peptide YY と Gli³²⁾、ヒト下垂体前葉における ACTH と β -endorphin³³⁾、などの異なった前駆体物質を持つペプチドの co-strage, およびヒト気管支における Ser と GRP³⁴⁾のようにアミン類とペプチドの co-strage 等、同一細胞に2種類のアミン・ペプチドがみられることが報告されている。今回の検討例の中にも、多数の Ser 細胞と少数の Neu 細胞を有する腫瘍内で、ごく少数の細胞が核下部に Neu 顆粒を、細胞全体に Ser 顆粒を有し、Neu は吸収試験で陰性となった例を認めた。即ちこの腫瘍中にみられた Ser 細胞の一部は、Ser と Neu の両者を含んでいると考えられた。このような現象は一般に稀で、大部分の細胞は検索したアミン・ペプチドの一種類のみを有していた。従って、大部分の細胞では内分泌細胞への分化はアミン・ペプチドのうち一種類の物質産生を運命づけられた幼若細胞から起こると推定されよう。

総 括

非腫瘍性大腸粘膜、大腸腺腫および大腸癌に出現する内分泌細胞の種類と出現状況を組織形態学ならびに免疫組織化学で検索し、以下の結果を得た。

- 1) 好銀反応陽性細胞は、大腸癌107/211個(50.7%)、大腸腺腫100/122個(82.0%)に出現していた。
- 2) 大腸癌および大腸腺腫に出現する好銀反応陽性細胞は、多くが Ser 細胞で占められ、Gli/Glu, Neu, PP および So の各細胞は少数であった。
- 3) 大腸癌のうち、分化型癌は量的に多くの内分泌細胞を含み、しかも多種類の同細胞を有するが、その中でも Ser 細胞が主体であった。低分化型癌では出現する内分泌細胞の種類および量共に少なかった。
- 4) 大腸癌、大腸腺腫および非腫瘍性大腸粘膜で内分

泌細胞の出現状況を比較すると、出現している細胞の種類は同じであったが、量的には腫瘍による異型が強くなるにつれて減少していた。

5) 大腸癌、大腸腺腫での内分泌細胞の出現状況は、背景粘膜のそれを模倣するものであり、内分泌細胞の発生母地としては大腸上皮と同じ内胚葉由来で、その母細胞は未分化な多潜能腫瘍細胞であると推定された。

6) 古典的カルチノイドと内分泌細胞を有する腺癌では、その発生母細胞が異なると考えられた。

稿を終るにあたり、ご指導とご校閲を賜った渡辺英伸教授、武藤輝一教授に深謝いたします。さらに適切なご指導をいただいた岩淵三哉助手ならびにご援助いただいた第一病理学教室標本制作室および写真室の方々に深謝いたします。

本論文の要旨は、第73回日本病理学会総会、第45回日本癌学会総会において発表した。

参 考 文 献

- 1) Gibbs, N.M.: Incidence and significance of argentaffin and Paneth cells in some tumours of the large intestine. *J. Clin. Pathol.*, **20**: 826~831, 1967.
- 2) 岩下明德: 大腸癌組織内の銀反応陽性細胞. *福岡医誌*, **70**: 370~390, 1979.
- 3) Sjölund, K., et al.: Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology*, **85**: 1120~1130, 1983.
- 4) Van Den Ingh, H.F., et al.: Neuroendocrine cells in colorectal adenomas. *J. Pathol.*, **148**: 231~237, 1986.
- 5) Ulich, R.T., et al.: A colonic adenocarcinoma with argentaffin cells, An immunoperoxidase study demonstrating the presence of numerous neuroendocrine products. *Cancer*, **51**: 1483~1489, 1983.
- 6) Sternberger, L.A.: The unlabeled antibody peroxidase-antiperoxidase (PAP) method. In: *Immunocytochemistry* (ed. 2) New York, John Wiley and Sons, pl., 1979.
- 7) Spicer, S.S.: Diamine methods for differentiating mucopolysaccharides histochemistry. *J. Histochem Cytochem.*, **13**: 211~234, 1969.
- 8) Iwafuchi, M., Watanabe, H., Ishihara, N., et al.: Neoplastic Endocrine Cells in Carcinomas of the Small Intestine. *Histochemical and Immunohistochemical Studies of 24 Tumors*. *Human Pathol.*, **18**: 185~194, 1987.
- 9) 大腸癌取扱い規約, 改訂第4版, 大腸癌研究会編, 金原出版社, 1985.
- 10) Solcia, E., et al.: Update on Lausanne classification of endocrine cells. In: *Gut hormones* (ed. 2), London, Churchill Livingstone., 96~100, 1981.
- 11) 寛 堤: ホルモン(4) 神経内分泌関連物質. *病理と臨床*, **2**: 1610~1623, 1984.
- 12) Iwafuchi, M., Watanabe, H., Ishihara, N., et al.: Peptide YY immunoreactive cells in gastrointestinal carcinoids; Immunohistochemical and ultrastructural studies of 60 tumors. *Human Pathol.*, **18**: 291~296, 1986.
- 13) Fiocca, R., et al.: Glucagon-, glicentin-, and pancreatic polypeptide-like immunoreactivities in rectal carcinoids and related colorectal cells. *Am. J. Pathol.*, **100**: 81~92, 1980.
- 14) Osaka, M., Sasagawa, T., Kobayashi, S. and Fujita, T.: The endocrine cells in the human colon and rectum, An electron microscope study of biopsy materials. *Arch Histol Jap.*, **33**: 247~260, 1971.
- 15) Cristina, M.L., et al.: Fine structural classification and comparative distribution of endocrine cells in normal human large intestine. *Gastroentology*, **75**: 20~28, 1978.
- 16) Smith, D.M.Jr., Haggitt, R.C.: The prevalence and prognostic significance of argyrophil cells in colorectal carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, **8**: 123~128, 1984.
- 17) Tahara, E., Ito, H., Nakagami, K., et al.: Scirrhus argyrophil cell carcinoma of the stomach with multiple production of polypeptide hormones, amine, CEA, lysozyme, and HCG. *Cancer*, **49**: 1904~1915, 1982.
- 18) Ito, H., et al.: Calcitonin in human gastric mucosa and carcinoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **112**: 50~56, 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) 堤 寛, 長村義之, 渡辺慶一: ヒト "APUD" 細胞および "APUDoma" における dopamine- β -hydroxylase の免疫組織化学的研究. 消化管ホルモン (消化管ホルモン研究会編), 医学図書出版, 東京, 564~579, 1984.
- 21) Ito, H., Hata, J., Yokozaki, H., et al.: Tubular adenoma of the human stomach; An immunohistochemical analysis of gut hormones, serotonin, carcinoembryonic antigen, secretory component, and lysozyme. *Cancer*, **58**: 2264~2272, 1986.
- 22) 原 雅文, 堤 寛, 渡辺慶一, 他: 胃の隆起型異型上皮層における内分泌細胞の免疫組織学的検討. 消化器と免疫 (11), 医歯薬出版, 東京, 63~69, 1983.
- 23) Stanbridge, E.J., Rosen, S.W. and Sussman, H.H.: Expression of the α subunit of human chorionic gonadotropin is specifically correlated with tumorigenic expression in human cell hybrids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **79**: 6242~6245, 1982.
- 24) Cox, W.F.Jr. and Pierce, G.B.: The endodermal origin of the endocrine cells of an adenocarcinoma of the colon of the rat. *Cancer*, **50**: 1530~1538, 1982.
- 25) Sidhu, G.S.: The endodermal origin of digestive and respiratory tract APUD cells; Histopathologic evidence and a review of the literature. *Am. J. Pathol.*, **96**: 5~20, 1979.
- 26) Gould, V.E., Memoli, V.A. and Dardi, L.E.: Multidirectional differentiation in human epithelial cancers. *J. Submicrosc Cytol.*, **13**: 97~115, 1981.
- 27) M. Petrelli, M.B., et al.: Carcinoma of the colon with undifferentiated, carcinoid, and squamous cell features. *Am. J. Clin. Pathol.*, **75**: 581~584, 1981.
- 28) Watanabe, H.: Argentaffin cells in adenoma of the stomach. *Cancer*, **30**: 1267~1274, 1972.
- 29) Almets, J., et al.: Immunohistochemical evidence of peptide hormones in endocrine tumors of the rectum. *Cancer*, **48**: 2409~2415, 1981.
- 30) 岩淵三哉, 伊津野稔, 渡辺英伸: 直腸カルチノイドを構成する内分泌細胞の種類について. 大腸肛門誌, **36**: 262, 1983.
- 31) Soga, J.: Histogenesis of carcinoids in relation to ordinary carcinomas. *Acta. Med. Biol.*, **30**: 17~33, 1982.
- 32) 高澤哲也, 伊藤正毅, 高木 顕, 他: ヒト臍, 消化管の PYY 免疫活性. 医学のあゆみ, **130**: 535~536, 1984.
- 33) Osamura, Y., Watanabe, K. and Nakai, Y.: Adrenocorticotrophic hormone cells and immunoreactive β -endorphin cells in the human pituitary gland; Normal and pathological conditions studied by the peroxidase-labeled antibody method. *Am. J. Pathol.*, **99**: 105~124, 1980.
- 34) Polak, J.M. and Bloom, S.R.: Regulatory peptides. New aspects. In: *Current Endocrine Concepts* (ed. Williams, E.D.), Praeger Publishers, Eastbourne, 101~147, 1982.

(昭和62年2月27日受付)

- Fig. 1** A tubular adenoma contains many argyrophil-positive cells (left), several immunoreactive serotonin cells (upper right) and a few immunoreactive pancreatic polypeptide cells (lower right). (NI-564-8, $\times 80$)
- Fig. 2** A tubular adenoma showing both of immunoreactive serotonin (left) and neurotensin (right) in the same cells. The numbers of serotonin cells are larger than those of neurotensin cells. (NI-41-7, $\times 80$)
- Fig. 3** A villous adenoma with numerous argyrophil-positive cells (left). They are composed mainly of immunoreactive serotonin cells (right). (NI-41-7, $\times 80$)
- Fig. 4** A well differentiated adenocarcinoma contains plentiful argyrophil-positive cells (left). Immunoreactive serotonin cells (right) make up the major cell population among these argyrophil-positive cells. (T-618-83, $\times 80$)
- Fig. 5** a: Immunoreactive pancreatic polypeptide cell in a well differentiated adenocarcinoma. (C-3837-19, $\times 160$)
b: Immunoreactive somatostatin cell in a well differentiated adenocarcinoma. (NI-838-4, $\times 160$)
c: Immunoreactive neurotensin cell in a poorly differentiated adenocarcinoma. (NI-1022-3, $\times 160$)
d: Immunoreactive Glicentin/Glucagon cell in a mucinous adenocarcinoma. (NI-1092-4, $\times 160$)
- Fig. 6** Argyrophil-positive cells are found in the large part of a poorly differentiated medullary adenocarcinoma (left). Most of these argyrophil-positive cells are proved to be immunoreactive serotonin cells (right). (NI-1120-5, $\times 160$)
- Fig. 7** A poorly differentiated adenocarcinoma with scattered argyrophil-positive cells (left) and immunoreactive serotonin cells (right). (NI-354-13, $\times 80$)
- Fig. 8** A well differentiated adenocarcinoma limited to the mucosa contains several argyrophil-positive cells in the deep part of the tubuli. (NI-674, $\times 40$)

須田論文付図(1)

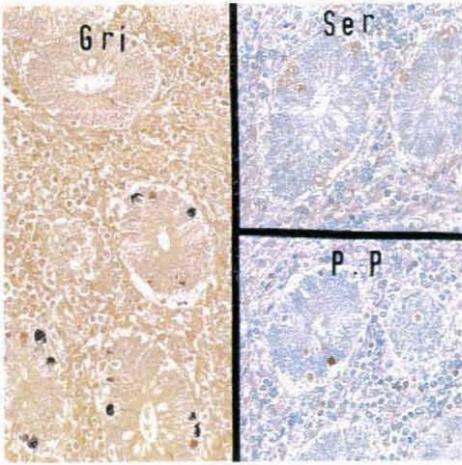


Fig. 1

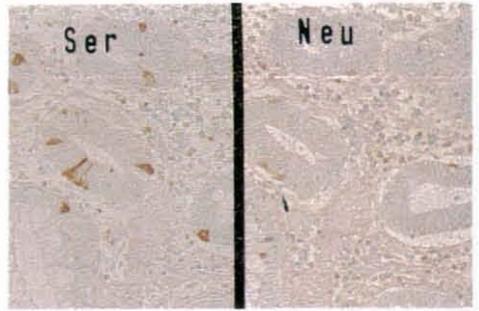


Fig. 2

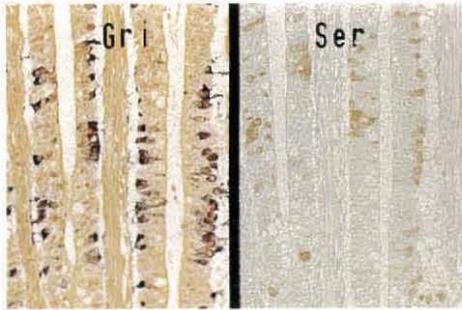


Fig. 3



Fig. 4

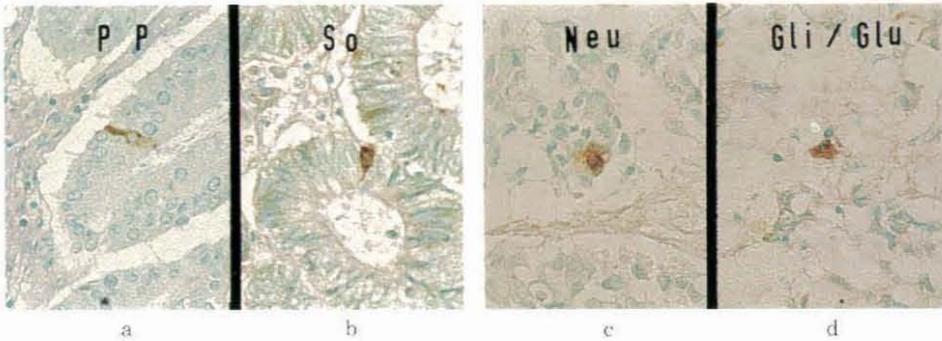


Fig. 5

須田論文付図(Ⅱ)

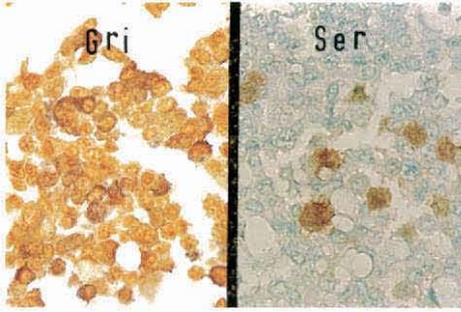


Fig. 6

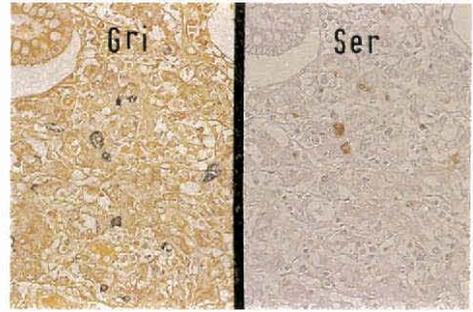


Fig. 7

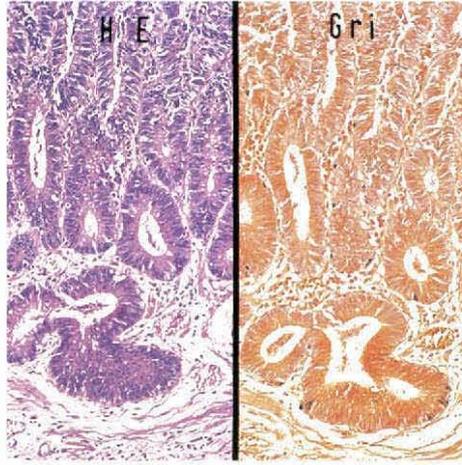


Fig. 8