

# 浸潤性膵管癌の粘液形質と腫瘍の進展に伴う 形質の変化についての検討

小 川 洋

新潟大学大学院医歯学総合研究科

消化器・一般外科分野

(主任：若井俊文教授)

## Features of Mucin Phenotype and its Changes with Progression of Invasive Ductal Adenocarcinoma of the Pancreas

Hiroshi OGAWA

*Division of Digestive and General Surgery, Niigata University*

*Graduate School of Medical and Dental Sciences*

*(Director: Prof. Toshifumi WAKAI)*

### 要 旨

【緒言】膵癌の上皮内癌から浸潤性膵管癌への進行過程において、ムチン免疫組織化学およびCD10を用いた粘液形質の解析を行った報告はほとんどない。本研究の目的は、外科切除された浸潤性膵管癌を対象として、膵癌の進行過程における粘液形質変化を解明することである。

【方法】上皮内癌部を含む浸潤性膵管癌41例を対象とし、MUC1, MUC2, HGM, MUC5AC, MUC6, M-GGMC-1, CD10, CDX2の免疫組織化学を行い、上皮内癌部と浸潤癌部における粘液形質を比較し、癌の進行過程での粘液形質変化を検討した。

【結果】膵癌症例においてMUC1および胃腺窩上皮型のHGM, MUC5ACは、各々100%, 93%, 81%と高頻度に発現しており、上皮内癌部では95%, 95%, 81%, 浸潤癌部では98%, 88%, 68%であり、どちらも高頻度に発現していた。一方、CD10やMUC2は浸潤癌部、上皮内癌部をとも低頻度であった。M-GGMC-1, MUC6は、各々18%, 17%に発現し、上皮内癌部では各々41%, 34%に発現していたのに対し、浸潤癌部では各々6%, 7%と低頻度であった。粘液形質により分類すると、上皮内癌部においては、胃腺窩上皮幽門腺型(FG型)が20例と最も多く見られ、そのうち14例は浸潤癌部で胃腺窩上皮型(F型)を示した。また、上皮内癌部において胃腺窩上皮型(F型)は15例に見られ、浸潤癌部も14例は同じ粘液形質であった。浸潤癌部では、胃腺窩上皮腸型(F-I型)、膵胃腺窩上皮型(P-F型)はそれぞれ1例ずつであった。上皮内癌部、浸潤癌部ともに純粋な膵型(P型)は認めなかった。

【考察】膵癌の進行過程における粘液形質変化の判定には上皮内癌部と浸潤癌部の正確な診断と、正しい免疫組織化学の結果判定が重要である。本研究では、上皮内癌部と浸潤癌部の区別た

Reprint requests to: Hiroshi OGAWA  
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  
新潟大学大学院医歯学総合研究科  
消化器・一般外科学分野（第一外科） 小川 洋

めに Victoria blue 染色を参考として用いた。また、粘液の糖鎖付加状態に対する免疫組織化学の反応の違いから、HGM および M-GGMC-1 に対する抗体を用いた。CD10 の発現は上皮内癌部で 5 例 (12.2%)、浸潤癌部で 1 例 (2.4%) と発育進展によって発現頻度が低くなる傾向があったが、統計学的な有意差は認めなかった。浸潤性膵癌においては純粋な膵型が存在しないことは、膵癌の進行過程において細胞分化が低下するという考えに矛盾しないと考えられた。膵癌の進行過程において、胃幽門腺型粘液の M-GGMC-1 および MUC6 の発現が上皮内癌部から浸潤癌部になるにつれ有意に低下していた。先行研究においても、このような MUC6 の発現減少は見られ、癌化過程における MUC6 発現減衰の原因に興味が持たれる。

【結語】膵癌の進行過程における粘液形質変化の解析から、膵癌における上皮内癌部の粘液形質は胃腺窩上皮幽門腺型 (FG 型) あるいは胃幽門腺型 (G 型) が主体であり、浸潤癌部では胃腺窩上皮型 (F 型) に粘液形質変化し、胃幽門腺型 (G 型) や膵型 (P 型)、腸型 (I 型) の発現頻度は低くなる。

キーワード：浸潤性膵管癌、免疫染色、粘液形質

## 緒 言

上皮性腫瘍の粘液形質については、胃癌をはじめとして以前より研究が行われている<sup>1)2)</sup>。粘液の主成分とされるムチンは、その骨格となるコア蛋白 (MUC) をとりまく厚い糖鎖をもつ。分子生物学的手法の進歩により、いくつもの MUC に対するモノクローナル抗体が開発され<sup>3)4)</sup>、系統的な粘液形質の研究が行われているが、膵癌や膵正常組織における粘液形質を検討した報告は少ない<sup>4)~8)</sup>。また、小腸の刷子縁や正常膵管上皮に発現するとされる CD10 を検討した報告は 1 つしかないため<sup>9)</sup>、膵癌の進行過程における粘液形質変化に関しては未解明である。

膜結合型ムチンである MUC1 は正常膵管上皮に発現するが、主に小腸・大腸に発現する分泌型ムチンである MUC2 は正常膵には発現しない<sup>6) 8) 9)11)</sup>。膵癌においては、正常膵と同様に MUC1 に対する免疫染色では 80 ~ 100 % が陽性となるが、MUC2 は膵癌の 0 ~ 6 % ほどしか発現を認めない<sup>4)~10)</sup>。また、胃腺窩上皮に主に発現する分泌型ムチン MUC5AC は膵癌の 32 % に発現を認めると報告される<sup>5)</sup>。一方で、82 %, 100 % とする報告もある<sup>6)7)</sup>。抗 MUC5AC 抗体 (clone CLH2) は糖鎖の付加のない MUC5AC のみに反応するので、胃固有粘膜表層の腺窩上皮の分泌する粘液に

反応する抗 Gastric mucin (HGM) 抗体とは反応性が異なることがある<sup>12)~14)</sup>。それゆえ、膵癌においては、正しく胃腺窩上皮型の発現を調べるためには、MUC5AC および HGM に対する免疫組織化学が必要である<sup>14)15)</sup>。また、胃幽門腺に発現する分泌型ムチン MUC6 に対する抗 MUC6 抗体も同様に糖鎖の付加状態にて影響を受ける<sup>15)</sup>。幽門腺型ムチンは非還元末端に  $\alpha$  1, 4-GlcNAc 残基を持ち、Concanavalin A (Ⅲ) パラドックス染色でⅢ型の反応を示すことが知られているが<sup>16)</sup>、M-GGMC-1 (HIK1083) はこの特異糖鎖を認識するモノクローナル抗体であり、幽門腺型ムチンの発現を解析するために頻用されている<sup>14)17)</sup>。我々は以前に胃癌において、MUC6 の反応性は細胞質のみに制限されるが、M-GGMC-1 は細胞質のみならず細胞管腔面に発現していることを報告した<sup>15)</sup>。それゆえ、膵癌において、胃幽門腺型の発現を調べるためには、MUC6 および M-GGMC-1 に対する抗体を用いなければならない。

胃の正常粘膜における CD10 の発現は腸上皮化生を示唆するが<sup>14)15)18)19)</sup>、膵腫瘍における CD10 の発現の意義は明らかではない。しかし、Notohara ら<sup>20)</sup> は正常膵において、介在導管と同じような小導管にも CD10 は発現すると報告している。CD10 陽性細胞が腸型上皮の分化に関与する遺伝子である CDX2<sup>21)</sup> を発現していなければ、

表 1 Staining pattern and positive cells of mucin immunostains for each antibody in non - neoplastic epithelium of the gastrointestinal tract and pancreas

	Gastric foveolar cell markers		Gastric glandular mucous cell markers		Pan-epithelial cell marker	Intestinal cell marker		Pancreatic native cell marker
Antigen of peptides and mucin	MUC5AC, synthetic peptide	HGM (human gastric mucin)	MUC6, synthetic peptide	M-GGMC-1	MUC1, synthetic peptide	MUC2, synthetic peptide	CDX2	CD10
Clone of antibody	CLH2	45M1	CLH5	HIK 1083	Ma552	Ccp 58	ATM28	56C6
Specificity	Human Muc-5AC glycoprotein	Peptide core of human gastric mucin	Human Muc-6 glycoprotein	$\alpha$ -linked N-acetylglucosamine (GlcNAc) residues	Human Muc-1 glycoprotein	Human Muc-2 glycoprotein	Human CDX2 protein	CD10 glycoprotein
Staining site	Intracytoplasmic (perinuclear)	Intracytoplasmic (supranuclear) ~ luminal cell-membranous, extracellular secreted mucin	Intracytoplasmic (perinuclear)	Intracytoplasmic (supranuclear) > luminal cell-membranous. Extracellular secreted mucin	Luminal cell membranous (membrane-bound) >> cytoplasmic. Extracellular secreted mucin	Cytoplasmic (perinuclear)	Nuclear	Striated border (membrane-bound), and rarely cytoplasmic
Positive cells in gastro-intestinal tract	Gastric surface mucous cells, mucous neck cells	Gastric surface mucous cells, mucous neck cells	Pyloric gland cells, mucous neck cells, cardiac gland cells, Brunner gland cells, pseudopyloric gland cells	Pyloric gland cells, mucous neck cells, cardiac gland cells, Brunner gland cells, pseudopyloric gland cells	Activated form of gastric surface mucous cells & pyloric gland cells. Proliferative zone cells in small & large intestine.	Goblet cells and its precursor cells (columnar epithelial cells)	Absorptive cells (small & large intestinal), goblet cells, Paneth cells	Absorptive cells (small intestine and duodenum) with CD10 & CDX2 positivity
Positive cells in non-neoplastic pancreatic epithelia	Gastric foveolar metaplastic cells in ducts	Gastric foveolar metaplastic cells in ducts. Goblet cells (hybrid cells)	Native accessory glandular cells (immature type, CD10 positive) in ducts. Gastric glandular metaplastic cells in ducts. Intercalated ductal cells & centroacinar cells (in pancreatitis)	Native accessory glandular cells (mature type) in ducts. Gastric glandular metaplastic cells in ducts. (-) / (+); Intercalated ductal cells & centroacinar cells (in pancreatitis)	Native ductal cells (Main pancreatic ~ intercalated). (+) > (-); accessory glandular cells (immature type) & centroacinar cells (in pancreatitis)	Goblet cells and its precursor cells (columnar to cuboidal epithelial cells)	Goblet cells and its precursor cell (columnar to cuboidal epithelial cells), and absorptive cells (small & large intestinal)	(+) > (-); Native ductal cells without CD10 reaction (Main pancreatic ~ intralobular). (-) ~ (+); intercalated duct cells, centroacinar cells & accessory gland cells (in pancreatitis)
Working dilution	1 : 100	1 : 50	1 : 100	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 100	1 : 200
Source	Novocastra, UK	Novocastra, UK	Novocastra, UK	Kanto Chemical, Japan	Novocastra, UK	Novocastra, UK	Novocastra, UK	Novocastra, UK

小川：浸潤性膵管癌の粘液形質と腫瘍の進展に伴う形質の変化についての検討

CD10陽性細胞は膵内の小導管由来であると診断できることから、正常膵および膵腫瘍においてCD10は膵型形質を同定するマーカーに成り得る。

本研究の目的は、外科切除された浸潤性膵管癌を対象として、上皮内癌部と浸潤癌部における粘液形質を比較し、膵癌の進行過程における粘液形質変化を解明することである。

## 材料と方法

### 1. 検討対象

新潟大学病理学教室における254例の膵癌標本から上皮内癌部を含む41例の膵癌標本を対象とした。すべての症例は膵癌取扱い規約第6版<sup>22)</sup>に準拠して、肉眼的、顕微鏡的に再評価した。

### 2. 原発巣の病理組織学的検索と免疫染色

切除標本を10%ホルマリン固定後に原発巣を4mm間隔で全割し、パラフィン包埋ブロック作製後に薄切し、HE染色標本を作製した。HE染色にて上皮内癌を含む部分を代表切片とし、当該切片のブロックから再度3 $\mu$ mの連続切片を作製した。それぞれHE染色、Victoria blue (VB)染色およびMUC1, MUC2, MUC5AC, HGM, MUC6, M-GGMC-1, CD10, CDX2免疫染色を行った(表1)。

HE染色における上皮内癌部は、癌腺管の周囲が線維性組織に囲まれている領域と定義した。また、浸潤癌部のように高度な核異型や構造異型を呈さず、核異型が軽度で乳頭状構造であることなどを上皮内癌の診断の補助とした<sup>23)</sup>。客観的評価として、VB-HE染色を行い弾性線維に囲まれている上皮内癌部を同定し、静脈侵襲とは区別した<sup>24)</sup>(図1)。すべての免疫染色標本は2人の観察者(H.OとH.W)によって独立して検鏡された。診断不一致例は見直し、検討の末に意見の一致を得た。

### 3. 粘液形質の分類基準

粘液形質を判定するために、モノクローナル抗体による免疫組織化学を行った(表1)。腸型上皮

への分化を鑑別するために、CDX2染色をCD10陽性例4例、MUC2陽性例4例に対して行った。

免疫組織化学の判定は、標本上の全腫瘍細胞におけるムチン陽性細胞の割合を半定量的に測定し、10%以上陽性<sup>6)</sup>をもって、発現陽性と判定した(図2)。MUC5AC, HGM, MUC6, M-GGMC-1は胃型のマーカーとして、MUC2, CDX2は腸型のマーカーとして、CDX2発現を伴わないCD10陽性を膵上皮マーカーとして判定した。MUC5AC陽性またはHGM陽性の腫瘍は胃腺窩上皮型 gastric foveolar phenotype (F型)と分類し、MUC6陽性またはM-GGMC-1陽性の腫瘍を胃幽門腺型 gastric glandular phenotype (G型)と分類した。また、CD10陽性の腫瘍は膵型 pancreatic phenotype (P型)、MUC2陽性の腫瘍は腸型 intestinal phenotype (I型)と分類し、最後にどの免疫組織化学においても陰性であった腫瘍を分類不能型 unclassified type (U型)とした。

### 4. 統計解析

各染色法による発現陽性頻度の比較はFisherの正確確率検定を用いて行った。統計学的検討はPASW Statistics 17 software package (SPSS Japan, Tokyo, Japan)を用いて行った。 $P < 0.05$ を統計学的に有意であると判定した。

## 結 果

### 1. 浸潤性膵管癌におけるムチンの発現

浸潤性膵管癌41例の各標本上の全腫瘍細胞におけるムチン発現陽性細胞数をカウントし陽性細胞のパーセンテージを算出し、カットオフ値別に評価した結果、発現陰性・陽性のカットオフ値を10%とした(表2)。

MUC1は全41例で発現していた。また、全く発現を認めない症例はなかった。膵癌症例中の非腫瘍部の粘液を含まない好酸性細胞質をもった主膵管、小葉間導管、小葉内導管、介在導管の上皮細胞の管腔側にMUC1は、びまん性に発現していた。MUC1とCD10は癌腺管の管腔側に発現し、細胞質に発現することはなかった。

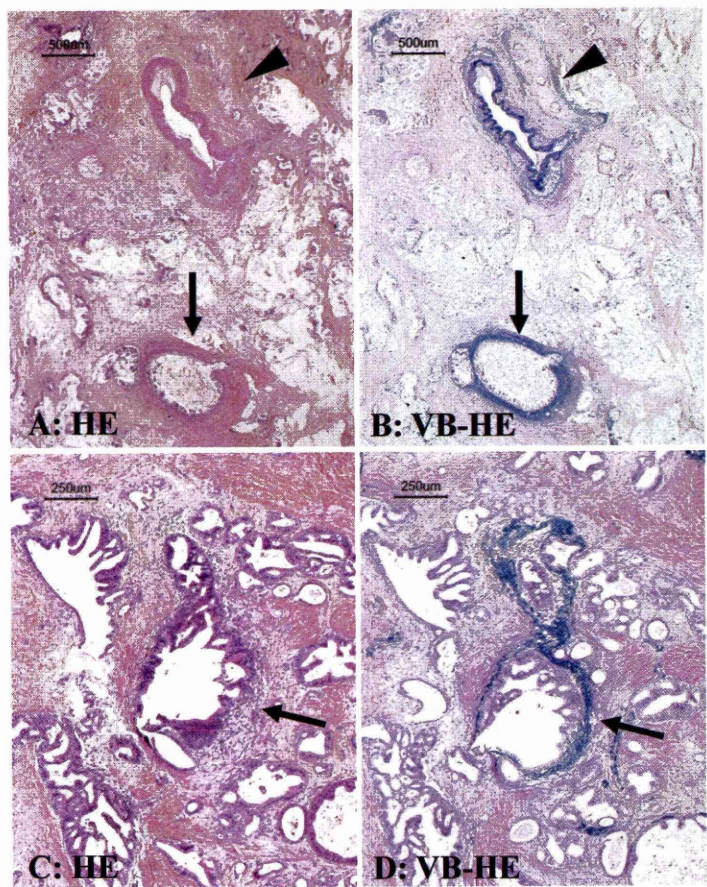


図 1 Venous invasion and intraductal cancer areas surrounded by invasive ductal carcinoma of the pancreas.

Venous invasion (A and B, arrowheads) is objectively identified using double staining with hematoxylin - eosin (HE) and Victoria blue (VB - HE) to detect elastic fibers (blue). Intraductal cancer areas (A ~ D, arrows), which are often difficult to detect using HE stain alone in invasive cancer areas, can be objectively identified in sections stained by elastic fiber staining (VB - HE staining) with preserved elastic fiber bundles in pancreatic ducts.

表 2 Incidence of immunoreactive cells in each mucin staining of invasive ductal carcinoma of the pancreas (n = 41)

Mucin phenotype	Percentage of immuoreactive cells				
	0%	0% < X < 5%	5% ≤ X < 10%	10% ≤ X < 30%	30% ≤ X
MUC1	0	0	0	2.4%	97.6%
HGM	0	7.3%	0	4.9%	87.8%
MUC5AC	2.4%	12.2%	4.9%	19.5%	61.0%
M-GGMC-1	20.6%	35.3%	26.5%	11.8%	5.9%
MUC6	31.7%	31.7%	19.5%	14.6%	2.4%
CD10	53.7%	29.3%	12.2%	2.4%	2.4%
MUC2	68.3%	22.0%	4.9%	4.9%	0



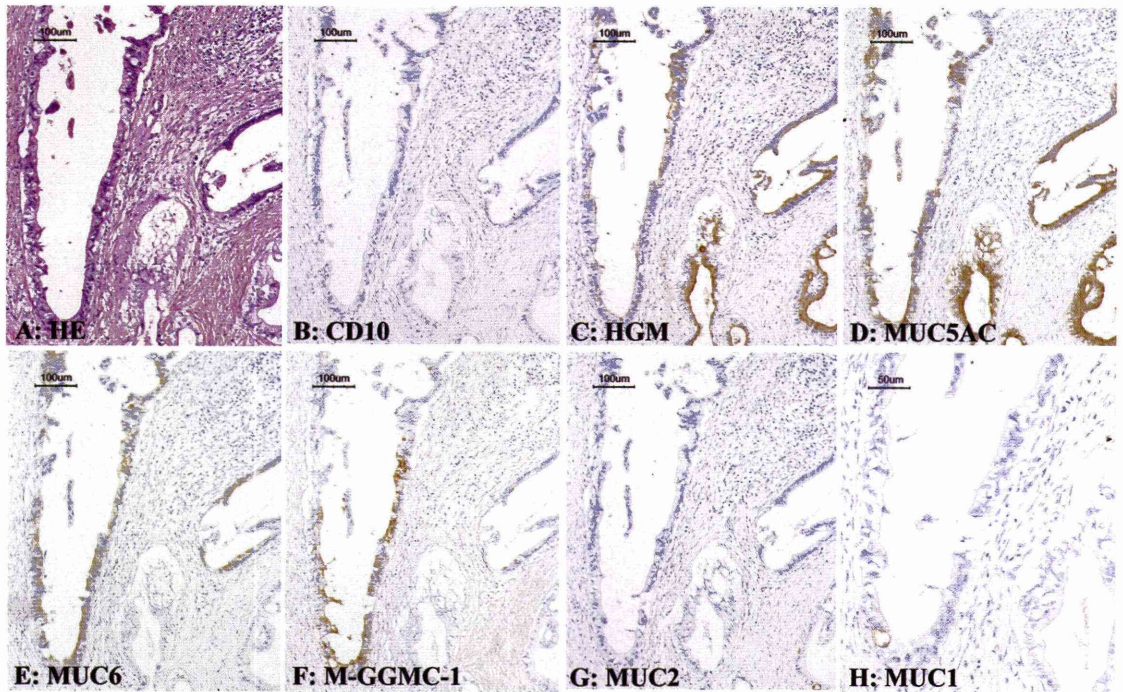


図2 Pancreatic invasive ductal carcinoma with gastric foveolaglandular (FG) type.

(A) Invasive part of well differentiated tubular adenocarcinoma. (B) Tumor cells show CD10 negative expression. Tumor cells show HGM (C) & MUC5AC (D) and MUC6 (E) & M-GGMC-1 (F) positive expression. Tumor cells show MUC2 (G) and MUC1 (H) negative expression.

CD10の発現は2例(4.9%)と非常に発現頻度が低かった。CD10は非腫瘍部の主膵管、小葉間導管、小葉内導管に発現し、さらに好酸性細胞質を持つ胃化生においても発現していた。CD10は、胃化生において胃腺窩上皮や幽門腺粘液が増えるに従いその発現頻度が減少し、杯細胞化生や高率にHGM、M-GGMC-1を発現する胃化生においては発現を認めなかった。

HGM、MUC5ACは各々38例(92.7%)、33例(80.5%)で発現していた。MUC5AC、MUC6およびMUC2は癌細胞の細胞質に発現していたが、癌腺管の管腔側では発現を認めなかった。一方、M-GGMC-1、MUC6は各々6例(17.6%)、7例(17.1%)で発現していた。胃幽門腺型ムチンは胃腺窩上皮型ムチンに比べ有意に発現頻度が少なかった( $P < 0.001$ )。HGMやM-GGMC-1

は細胞質に発現しており、またムチン分泌の少ない状態の癌細胞の管腔側にも発現を認めた。いくつかの腫瘍ではMUC5ACとMUC6/M-GGMC-1を同時に発現していた(図2)。胃腺窩上皮型粘液(MUC5AC、HGM)や胃幽門腺粘液(MUC6、M-GGMC-1)は非腫瘍部の膵管上皮では発現していなかったが、胃化生上皮からなる乳頭状粘液細胞においては発現を認めるようになった。

MUC2は2例(4.9%)と非常に発現頻度が低かった。膵癌において、円柱状のMUC2陽性細胞は、杯細胞より頻度が高かった。膵癌の非腫瘍部にはMUC2は発現を認めなかった。

## 2. 上皮内癌部および浸潤癌部での免疫染色の比較

浸潤性膵管癌41例において、上皮内癌部と浸

表3 Immunoreactivity of mucin staining between intraductal and invasive cancer areas of the pancreas based on the cut - off level of 10 % reactive cells

	Intraductal area	Invasive area	p value
MUC1	95.1% (39/41)	97.6% (40/41)	> 0.999
HGM	95.1% (39/41)	87.8% (36/41)	0.432
MUC5AC	80.5% (33/41)	68.3% (28/41)	0.312
M-GGMC-1	41.2% (14/34)	5.9% (2/34)	<b>0.001</b>
MUC6	34.1% (14/41)	7.3% (3/41)	<b>0.005</b>
CD10	12.2% (5/41)	2.4% (1/41)	0.201
MUC2	2.4% (1/41)	4.9% (2/41)	> 0.999

Parentheses indicate no. of positive case/no. of tumors examined.

表4 Mucin phenotypes between intraductal and invasive cancer components of 41 invasive ductal carcinomas of the pancreas

Incidence of mucin phenotype in			
Intraductal area		Invasive area	
Mucin phenotype	% of tumors	Mucin phenotype	% of tumors
Gastric foveologlandular type (FG)	48.8% (20/41)	F type	34.1% (14/41)
		FG type	9.8% (4/41)
		Unclassified	4.9% (2/41)
Gastric foveolar type (F)	36.6% (15/41)	F type	34.1% (14/41)
		FG type	2.4% (1/41)
Gastric foveolar & Intestinal type (F-I)	2.4% (1/41)	F-I type	2.4% (1/41)
Pancreatic & Gastric foveolar type (P-F)	7.3% (3/41)	P-F type	2.4% (1/41)
		F type	2.4% (1/41)
		Unclassified	2.4% (1/41)
Pancreatic & Gastric glandular type (P-G)	4.9% (2/41)	Unclassified	4.9% (2/41)

Parentheses indicate no. of positive case/no. of tumors examined.

潤癌部にわけ、それぞれの腫瘍細胞中におけるムチン発現陽性細胞数をカウントし陽性細胞のパーセンテージを算出し、カットオフ値を10%として評価した(表3)。発現陽性頻度を比較すると、M-GGMC-1およびMUC6の発現は上皮内癌部では41.2%、34.1%であったが、浸潤癌部では5.9%、7.3%と有意に低下していた(各々 $P <$

0.001,  $P <$  0.005)。

### 3. 膵癌における粘液形質

浸潤性膵管癌41例における上皮内癌と浸潤癌部における粘液形質を比較した(表4)。上皮内癌部においては、胃腺窩上皮型(F型)と胃幽門腺型(G型)がともに発現している胃腺窩上皮幽門腺型



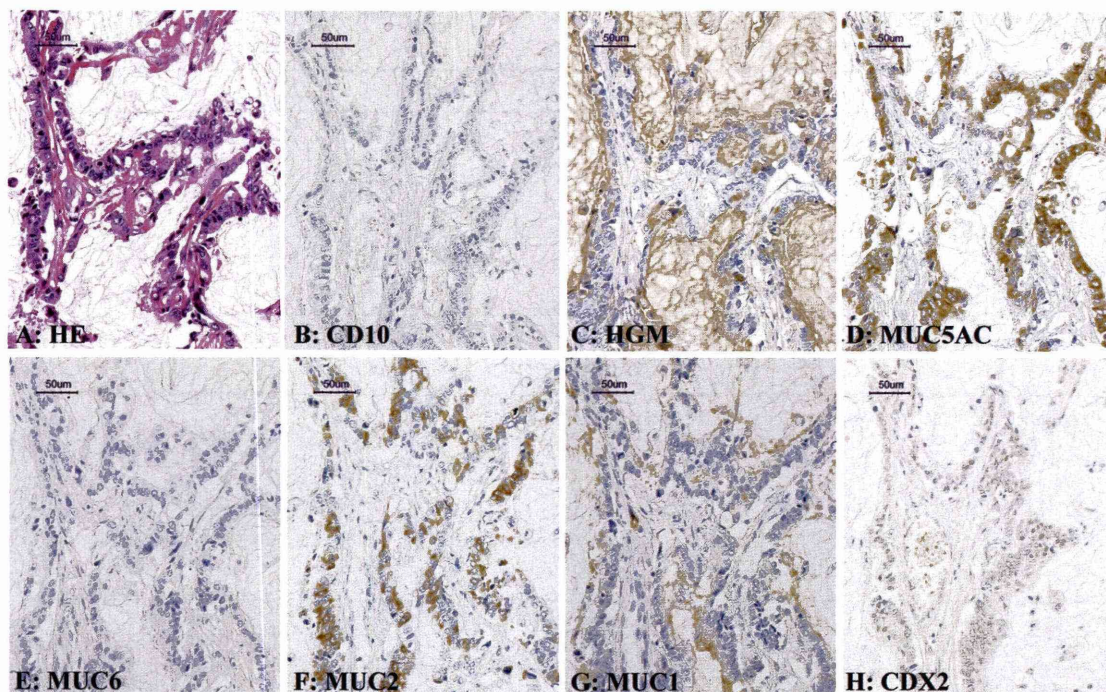


図3 Invasive ductal carcinoma of the pancreas with gastric foveolar (F) and intestinal (I) phenotype (F-I type).

(A) Invasive cancer area. (B) Tumor cells show CD10 negative expression. HGM (C) & MUC5AC (D) expression is positive. MUC6 (E) expression is negative. MUC2 (F) and MUC1 (G) expression is positive. (H) CDX2 expression is negative (< 1 % positivity; a few cells are positive).

gastric foveolo - glandular type (FG 型) が 20 例と最も多く見られ (図 2), そのうち 4 例は浸潤癌部も同じ粘液形質であったが, 14 例は胃腺窩上皮型 (F 型) を示し, 2 例は分類不能型 (U 型) を示した. また, 上皮内癌部において胃腺窩上皮型 (F 型) は 15 例に見られ, 浸潤癌部では 14 例は同じ粘液形質であったが, 1 例は胃腺窩上皮幽門腺型 (FG 型) を示した. 胃腺窩上皮型と腸型がともに発現する胃腺窩上皮腸型 gastric and intestinal type (F-I 型) を 1 例に認め, これは浸潤癌部も粘液形質は同様であった (図 3). 上皮内癌部で膵胃腺窩上皮型 pancreatic and gastric foveolar type (P-F 型) は 3 例に認めたが, 浸潤癌部では 1 例のみ同じ粘液形質を示し (図 4), 1 例は胃腺窩上皮幽門腺型 (FG 型), もう 1 例は分類不能型 (U 型) であった. 上皮内癌部での膵胃幽門腺型 pan-

creatic and gastric glandular type (P-G 型) は 2 例に見られ, その浸潤癌部は分類不能型 (U 型) であった. 純粋な膵型は 41 例において認めなかった.

## 考 察

分子生物学的手法の進歩により, いくつかのモチンに対するモノクローナル抗体が開発され, 胃癌をはじめとする上皮性腫瘍の粘液形質の報告が散見されている<sup>1)-3)</sup>. しかし, 膵癌における系統的な粘液形質の研究は少なく<sup>4)-8)</sup>, 進行過程における粘液形質の変化に関して十分に解明されたとはいえない. 本研究では, 浸潤性膵管癌での上皮内癌部と浸潤癌部における粘液形質の比較によって, 膵癌の進行過程における粘液形質変化を



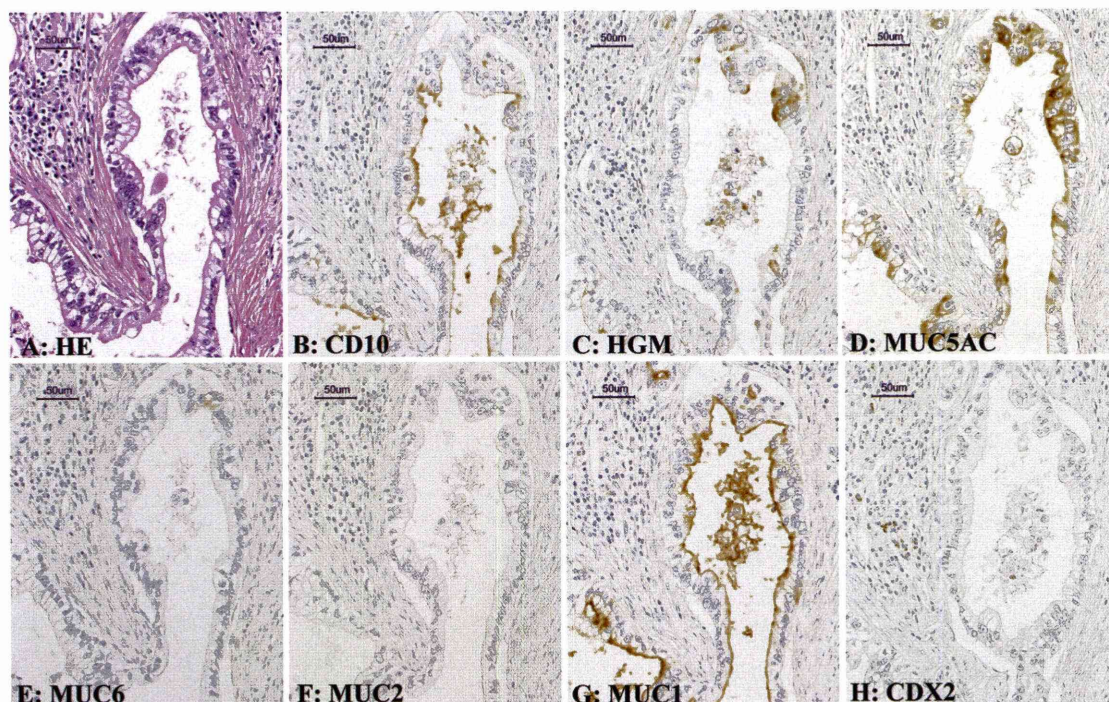


図 4 Invasive ductal carcinoma of the pancreas with pancreatic - gastric foveolar (P - F) type.

(A) Invasive cancer area. Tumor cells show CD10 (B), HGM (C), and MUC5AC (D) positive expression. MUC6 (E) and MUC2 (F) expression is negative. (G) MUC1 expression is diffusely positive. (H) CDX2 is negative.

明らかにし、また、免疫組織化学において膵固有の粘液形質（膵型；CD10 陽性かつ CDX2 陰性）を新しく分類した最初の報告である。

膵癌の進行過程における粘液形質変化を正確に判定するには上皮内癌部と浸潤癌部を病理組織学的に区別し、正しく免疫組織化学の結果を判定することが重要である。本研究では、上皮内癌部と浸潤癌部の区別ために Victoria blue 染色<sup>24)</sup>を参考として用いた。また、粘液の糖鎖付加状態に対する免疫組織化学の反応の違いから、胃腺窩上皮型粘液発現の判定に MUC5AC に加え HGM を、幽門腺型粘液発現の判定に MUC6 に加え M - GGMC - 1 を用いて検討した<sup>14) 15)</sup>。しかし、上皮内癌部および浸潤癌部において、MUC5AC と HGM の発現陽性頻度に有意な差は認めず、MUC6 と M - GGMC - 1 についても発現陽性頻度

に有意な差は認めなかった。このことから、浸潤性膵管癌においては、粘液の糖鎖付加状態に対する免疫組織化学の反応の差は考慮しなくてもよい。また、膵癌症例中の非腫瘍部では MUC5AC は発現を認めず、胃化生上皮からなる乳頭状粘液細胞においては発現を認めるようになったことから、膵癌発生の早期の段階から胃型の粘液形質が発現していると考えられた。

CD10 はプレ B 細胞や好中球、リンパ球前駆細胞、リンパ濾胞内の活性化 B 細胞に発現する II 型膜貫通蛋白で、腎尿細管や小腸粘膜（刷子縁）、気管支粘膜上皮等にも発現が見られることが知られており<sup>25) - 28)</sup>、胃癌においては腸型形質のマーカーとしてその有用性が指摘されている<sup>14) 15) 18) 19)</sup>。正常膵組織では、Notohara ら<sup>20)</sup>は CD10 の発現は介在導管と同じような小導管に CD10 は発現す

ると報告し、永田<sup>9)</sup>は正常膵導管では67%の発現陽性率であったと報告している。我々はこのCD10に着目し、CD10陽性細胞が腸型上皮の分化に関与する遺伝子であるCDX2<sup>21)</sup>を発現していなければ、CD10陽性細胞は膵内の小導管由来であると判断できることから、元来の膵型形質のマーカーに利用した。CD10は非腫瘍組織の主膵管、小葉間導管、小葉内導管に発現し、さらに好酸性細胞質を持つ胃化生においても発現しており、以前の報告<sup>9)</sup>と同様であった。CD10の発現は上皮内癌部で5例(12.2%)、浸潤癌部で1例(2.4%)と発育進展によって発現頻度が低くなる傾向があったが、統計学的な有意差は認めなかった。浸潤性膵癌においては純粋な膵型が存在しないことは、癌の進行過程において細胞分化が低下するという考えに矛盾しないと考えられた。

膵癌の進行過程において、胃幽門腺型のマーカーであるM-GGMC-1およびMUC6の発現が上皮内癌部ではそれぞれ41.2%、34.1%、浸潤癌部ではそれぞれ5.9%、7.3%と有意に低下していた(各々 $P < 0.001$ ,  $P < 0.005$ )。先行研究<sup>9)</sup>においても、このようなMUC6の発現減少は見られ、Kimら<sup>6)</sup>は上皮内癌部(PanIN-3)では56%、浸潤癌部では35%と報告している。本研究とは浸潤癌部において、発現陽性率に解離が見られるが、浸潤癌部に上皮内癌部が混在すると浸潤癌部のMUC6発現率は相対的に上昇する。つまり、本研究ではVictoria blueにて浸潤癌部腫瘍内に存在する上皮内癌部を正しく判別できたため、浸潤癌部のMUC6発現率が先行研究より低く見積もられた可能性がある。また、免疫組織化学における陽性頻度や陽性強度の判定誤差から生じた可能性も考えられる。しかし、膵癌の進行過程におけるMUC6の発現の減衰は共通した事実であり、分子生物学的手法によりMUC6発現減衰の機構を究明していくことが今後の課題である。このMUC6の発現の減衰により、膵癌の粘液形質としては、上皮内癌から浸潤癌に進展するにつれて、胃幽門腺型は減少していくことが明らかとなった。

## 結 論

膵癌の進行過程における粘液形質変化の解析から、膵癌における上皮内癌部の粘液形質は胃腺窩上皮幽門腺型あるいは胃幽門腺型が主体であり、浸潤癌部では胃腺窩上皮型に粘液形質変化し、胃幽門腺型や膵型、腸型の発現頻度は低くなる。M-GGMC-1およびMUC6で表される胃幽門腺型の粘液発現頻度が上皮内癌部に比べ、浸潤癌部では有意に減少するため、全体の粘液形質の変化として発育進展に伴い胃腺窩上皮幽門腺型FG型が減少する。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合病院研究科消化器・一般外科分野、若井俊文教授、同分子診断病理学分野、味岡洋一教授、情報科学・統計学分野、赤澤宏平教授に深謝いたします。また、本研究に関して助言・協力を頂きました技官(山口尚之、佐藤彩子、小林和恵)をはじめ教室の皆様にも深謝します。

## 文 献

- 1) 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.
- 2) Kushima R and Hattori T: Histogenesis and characteristics of gastric-type adenocarcinomas in the stomach. *J Cancer Res Clin Oncol.* 120: 103-111, 1993.
- 3) Hollingsworth MA and Swanson BJ: Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer.* 4: 45-60, 2004.
- 4) Yonezawa S, Higashi M, Yamada N and Goto M: Precursor lesions of pancreatic cancer. *Gut Liver.* 2: 137-154, 2008.
- 5) Yonezawa S, Nakamura A, Horinouchi M and Sato E: The expression of several types of mucin

- is related to the biological behavior of pancreatic neoplasms. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 9: 328 - 341, 2002.
- 6) Kim GE, Bae HI, Park HU, Kuan SF, Crawley SC, Ho JJ and Kim YS: Aberrant expression of MUC5AC and MUC6 gastric mucins and sialyl Tn antigen in intraepithelial neoplasm of pancreas. *Gastroenterology.* 123:1052 - 1060, 2002.
  - 7) Lüttges J, Zamboni G, Longnecker D and Klöppel G: The immunohistochemical mucin expression pattern distinguishes different types of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas and determines their relationship to mucinous noncystic carcinoma and ductal adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 25: 942 - 948, 2001.
  - 8) Terada T, Ohta T, Sasaki M, Nakanuma Y and Kim YS: Expression of MUC apomucins in normal pancreas and pancreatic tumours. *J Pathol.* 180: 160 - 165, 1996.
  - 9) 永田耕治：膵上皮内病変におけるムチンとCD10の発現解析。鹿児島大学医学雑誌。57: 7 - 17, 2005.
  - 10) Horinouchi M, Nagata K, Nakamura A, Goto M, Takao S, Sakamoto M, Fukushima N, Miwa A, Irimura T, Imai K, Sato E and Yonezawa S: Expression of Different Glycoforms of Membrane Mucin (MUC1) and Secretory Mucin (MUC2, MUC5AC and MUC6) in Pancreatic Neoplasms. *Acta Histochemica et Cytochemica.* 36: 443 - 453, 2003.
  - 11) Balagué C, Gambús G, Carrato C, Porchet N, Aubert JP, Kim YS and Real FX: Altered expression of MUC2, MUC4, and MUC5 mucin genes in pancreas tissues and cancer cell lines. *Gastroenterology.* 106: 1054 - 1061, 1994.
  - 12) Bara J, Chastre E, Mahiou J, Singh RL, Forgue-Lafitte ME, Hollande E and Godeau F: Gastric M1 mucin, an early oncofetal marker of colon carcinogenesis, is encoded by the MUC5AC gene. *Int J Cancer.* 75: 767 - 773, 1998.
  - 13) Reis CA, David L, Carvalho F, Mandel U, de Bolós C, Mirgorodskaya E, Clausen H and Sobrinho-Simões M: Immunohistochemical study of the expression of MUC6 mucin and co-expression of other secreted mucins (MUC5AC and MUC2) in human gastric carcinomas. *J Histochem Cytochem.* 48: 377 - 388, 2000.
  - 14) 渡辺 玄, 渡辺英伸, 味岡洋一, 白下英史, 西倉健：胃型の高分化型早期胃癌の病理学的特徴。胃と腸。38: 693 - 700, 2003.
  - 15) Shiroshta H, Watanabe H, Ajioka Y, Watanabe G, Nishikura K and Kitano S: Re-evaluation of mucin phenotypes of gastric minute well-differentiated-type adenocarcinomas using a series of HGM, MUC5AC, MUC6, M-GGMC, MUC2 and CD10 stains. *Pathol Int.* 54: 311 - 321, 2004.
  - 16) Katsuyama T and Spicer SS: Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. *J Histochem Cytochem* 26: 233 - 250, 1978.
  - 17) Ishihara K, Kurihara M, Goso Y, Urata T, Ota H, Katsuyama T and Hotta K: Peripheral-linked N-acetylglucosamine on the carbohydrate moiety of mucin derived from mammalian gastric gland mucous cells: epitope recognized by a newly characterized monoclonal antibody. *Biochem J.* 318: 409 - 416, 1996.
  - 18) Kabashima A, Yao T, Sugimachi K and Tsuneyoshi M: Relationship between biologic behavior and phenotypic expression in intramucosal gastric carcinomas. *Hum Pathol.* 33: 80 - 86, 2002.
  - 19) Ikeda Y, Nishikura K, Watanabe H, Watanabe G, Ajioka Y and Hatakeyama K: Histopathological differences in the development of small intestinal metaplasia between antrum and body of stomach. *Pathol Res Pract.* 201: 487 - 496, 2005.
  - 20) Notohara K, Hamazaki S, Tsukayama C, Nakamoto S, Kawabata K, Mozobuchi K, Sakamoto K and Okada S: Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: immunohistochemical localization of neuroendocrine markers and CD10. *Am J Surg Pathol.* 24: 1361 - 1371, 2000.
  - 21) Silberg DG, Swain GP, Suh ER and Traber PG: Cdx1 and cdx2 expression during intestinal development. *Gastroenterology.* 119: 961 - 971, 2000.

- 22) Isaji S, Kwarada Y and Uemoto S: Classification of pancreatic cancer: comparison of Japanese and UICC classifications. *Pancreas* 28: 231 - 234, 2004.
- 23) Hruban RH, Adsay NV, Albores - Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, Kern SE, Klimstra DS, Klöppel G, Longnecker DS, Lüttges J and Offerhaus GJ: Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol*. 25: 579 - 586, 2001.
- 24) Nagakawa Y, Aoki T, Kasuya K, Tsuchida A and Koyanagi Y: Histologic features of venous invasion, expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase - 2 and matrix metalloproteinase - 9, and the relation with liver metastasis in pancreatic cancer. *Pancreas*. 24: 169 - 178, 2002.
- 25) Ritz J, Pesando JM, Notis - McConarty J, Lazarus H and Schlossman SF: A monoclonal antibody to human acute lymphoblastic leukaemia antigen. *Nature*. 283: 583 - 585, 1980.
- 26) Trejdosiewicz LK, Malizia G, Oakes J, Losowsky MS and Janossy G: Expression of the common acute lymphoblastic leukaemia antigen (CALLA gp100) in the brush border of normal jejunum and jejunum of patients with coeliac disease. *J Clin Pathol*. 38: 1002 - 1006, 1985.
- 27) Ronco P, Allegri L, Melcion C, Pirotsky E, Appay MD, Bariety J, Pontillon F and Verroust P: A monoclonal antibody to brush border and passive Heymann nephritis. *Clin Exp Immunol*. 55: 319 - 332, 1984.
- 28) Metzgar RS, Borowitz MJ, Jones NH and Dowell BL: Distribution of common acute lymphoblastic leukemia antigen in nonhematopoietic tissues. *J Exp Med*. 154: 1249 - 1254, 1981.

(平成26年1月31日受付)