

# 浸潤性膵管癌における簇出と臨床病理学的因子 および予後との関連

滝 沢 一 泰

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
消化器・一般外科分野（第一外科）  
（指導：若井俊文教授）

## Association of Tumor Budding with Clinicopathological Characteristics and Prognosis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Kazuyasu TAKIZAWA

Division of Digestive and General Surgery,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
(Director: Prof. Toshifumi WAKAI)

### 要 旨

【緒言】膵癌は、罹患数と死亡数がほぼ同数であり難治性消化器癌の代表である。膵癌の予後予測因子としては組織分化度、リンパ節転移の有無、癌遺残の有無などの病理学的因子が報告されている。近年、大腸癌、食道癌、胃癌および乳頭部癌などの消化器癌において、簇出が腫瘍の浸潤性発育を反映し予後予測因子であることが報告されている。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、HE染色およびAE1/AE3免疫染色を行い簇出の評価方法を確立することである。また、簇出を臨床病理学的因子と比較検討し、高簇出群は術後の転移・再発により術後成績は不良であるという仮説を立て、簇出の予後予測因子としての臨床的意義を解明することである。

【方法】1990年から2010年に切除された浸潤性膵管癌81例を対象とした。症例の平均年齢は65.6歳（38-74歳）、性別は男性54例、女性27例であった。腫瘍の最大断面を代表切片とし、HE染色、AE1/AE3免疫染色を行った。簇出の定義は癌発育先進部の間質に認められる5個未満の細胞からなる癌巣とした。各染色別の簇出のカットオフ値は、Cox比例ハザードモデルによるカイ二乗値を基準として決定した。

【結果】簇出検出個数の平均±標準誤差はHE染色で7.8±0.5個であり、AE1/AE3免疫染色で15.3±1.0個であった。各染色別の簇出カットオフ値は、HE染色では13個以上（ $\chi^2 = 23.123$ ,  $P < 0.001$ ）を高簇出群、AE1/AE3免疫染色では15個以上（ $\chi^2 = 9.236$ ,  $P = 0.002$ ）を高簇出群とした。HE染色、AE1/AE3免疫染色ともに高簇出群はTNM分類でのG3（低分化型）と有意に関連していた（各々、 $P = 0.016$ ,  $P < 0.001$ ）。多変量解析では、TNM分類G3（ハザード比2.062,  $P = 0.011$ ）、顕微鏡的癌遺残（ハザード比2.603,  $P = 0.001$ ）およびHE染色

Reprint requests to: Kazuyasu TAKIZAWA  
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） 滝沢一泰

での高簇出（ハザード比 5.213,  $P < 0.001$ ）が独立した有意な予後不良因子であった。HE 染色で評価された高簇出群の累積 2 年生存率は 0 %, 生存期間中央値は 11.9 か月であり, 低簇出群の累積 2 年生存率 43.1 %, 生存期間中央値 21.7 か月と比較して有意に術後成績は不良であった ( $P < 0.001$ )。

【考察】浸潤性膵管癌において簇出を検討した報告は少なく, 高簇出を定義する統一基準に関する報告はない。多変量解析の結果では, HE 染色での高簇出が最も強い独立した予後不良因子であった。AE1/AE3 免疫染色では簇出の検出が容易で多数の簇出が検出されるにもかかわらず, HE 染色で診断された簇出高度陽性判定基準のほうが予後因子として有用であった。この原因としては, AE1/AE3 免疫染色はすでに生物学的活性を失っている癌細胞も簇出として計測している可能性が考えられた。

【結語】浸潤性膵管癌の簇出診断では, HE 染色（簇出カットオフ値 13 個）の方が AE1/AE3 免疫染色（簇出カットオフ値 15 個）より予後因子として有用である。

キーワード：簇出, 浸潤性膵管癌, 免疫染色, 予後因子

## 緒 言

膵癌は, 罹患数と死亡数がほぼ同数であり, 5 年生存率は約 5 % 程度の難治性消化器癌の代表である<sup>1)</sup>。長期生存が期待できない原因は, 早期発見が困難であることと, その治療抵抗性にある<sup>2)</sup>。外科的切除が唯一生存期間延長をもたらす治療法であるが, 診断時には既に遠隔転移や大血管浸潤を認め切除不能である場合が多く, 膵癌の切除率は 20 % 程度にとどまる<sup>3)</sup>。たとえ切除された場合でも, 局所再発, 肝転移及び腹膜播種により 5 年生存率は 10 % ~ 25 % である<sup>4)</sup>。膵癌の予後予測因子としては, 組織分化度, リンパ節転移の有無, 癌遺残の有無などの病理学的因子が報告されている<sup>5)6)</sup>。

近年, 大腸癌<sup>7)</sup>, 食道癌<sup>8)</sup>, 胃癌<sup>9)</sup>, 乳頭部癌<sup>10)</sup>などの消化器癌において, 簇出は腫瘍の浸潤性発育を反映し予後予測因子であることが報告されている。大腸癌において, 簇出はリンパ管侵襲と関連しリンパ節転移予測因子としての報告があり<sup>11)</sup>, また進行大腸癌では独立した予後不良因子であると報告されている<sup>12)</sup>。簇出とは, 癌発育先進部の間質に認められる 5 個未満の細胞からなる癌胞巣と定義され<sup>11)</sup>, 膵癌においては簇出を評価した報告は少ない<sup>13)14)</sup>。膵癌の発育先進部は, 線維芽細胞の増生や随伴性膵炎による炎症細胞浸潤に取

り囲まれて多彩な組織所見を呈しており<sup>15)</sup>, 簇出を正確に認識することは必ずしも容易ではない。しかし, 上皮性サイトケラチンに対する免疫染色である AE1/AE3 染色を行うことにより, 間質中に存在する上皮性組織である簇出を診断することは, 比較的容易になる。

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, HE 染色および AE1/AE3 免疫染色を行い, 簇出の評価方法を確立することである。また, 簇出を臨床病理学的因子と比較検討し, 高簇出群は術後の転移・再発により術後成績は不良であるという仮説を立て, 簇出の予後予測因子としての臨床的意義を解明することである。

## 材料と方法

### 1. 検討対象

1990 年から 2010 年に新潟大学医歯学総合病院で, リンパ節郭清を伴う膵切除術が施行された浸潤性膵管癌 81 例を対象とした。術前化学療法施行例, 遠隔転移症例, 同時性重複癌症例は除外した。症例の平均年齢は 65.6 歳 (38-74 歳), 性別は男性 54 例, 女性 27 例であった。術式は膵頭十二指腸切除 58 例, 膵体尾部切除 16 例, 膵全摘 6 例, 膵部分切除 1 例であった。腫瘍径は平均 3.8cm (0.9-12.5cm) であった。腫瘍は World

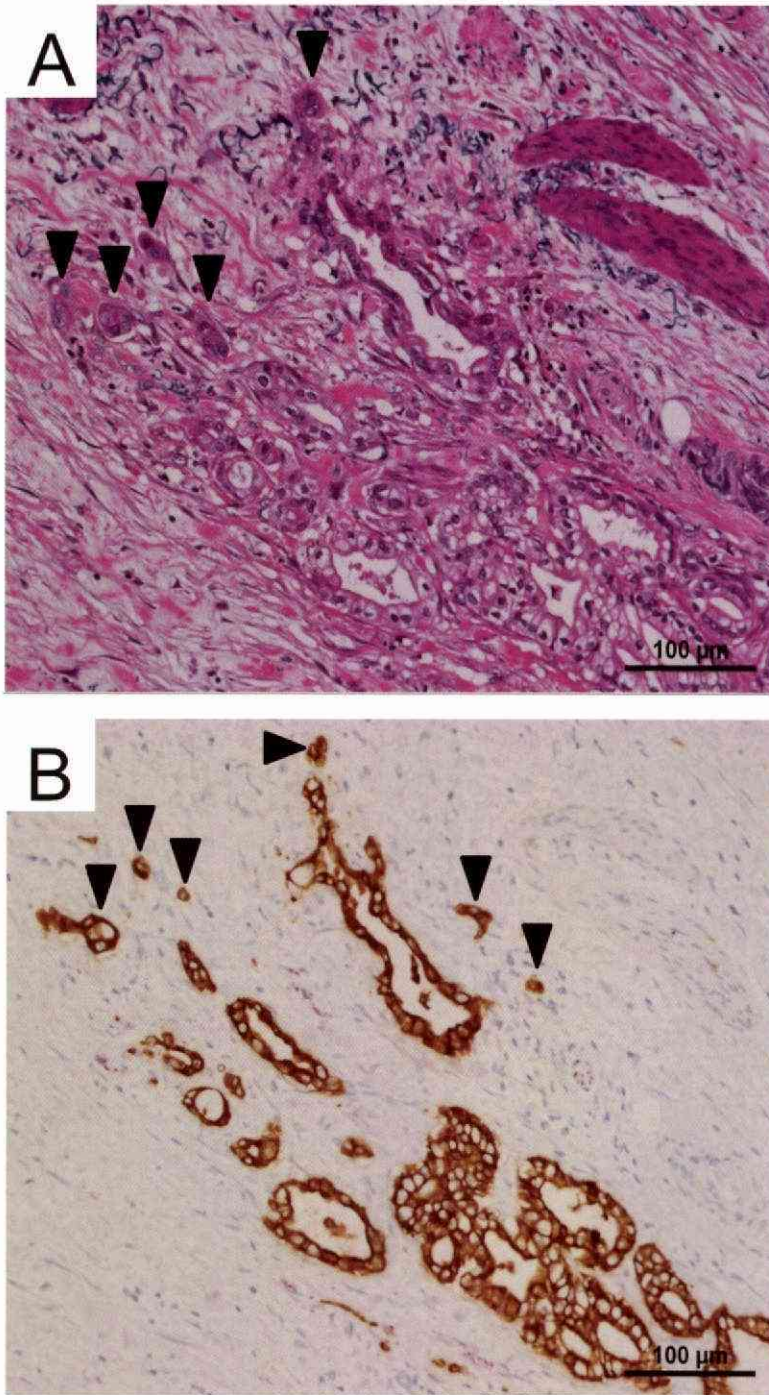


図1 腫瘍先進部間質に存在する癌の小胞巣である簇出(倍率20×10)  
 A: HE染色標本, 浸潤性膵管癌の小胞巣である簇出(矢頭)を示す。  
 B: AE1/AE3免疫染色標本, サイトケラチン陽性細胞の細胞膜が茶褐色に染まり,  
 癌細胞と間質に存在する線維芽細胞との区別が容易になる。

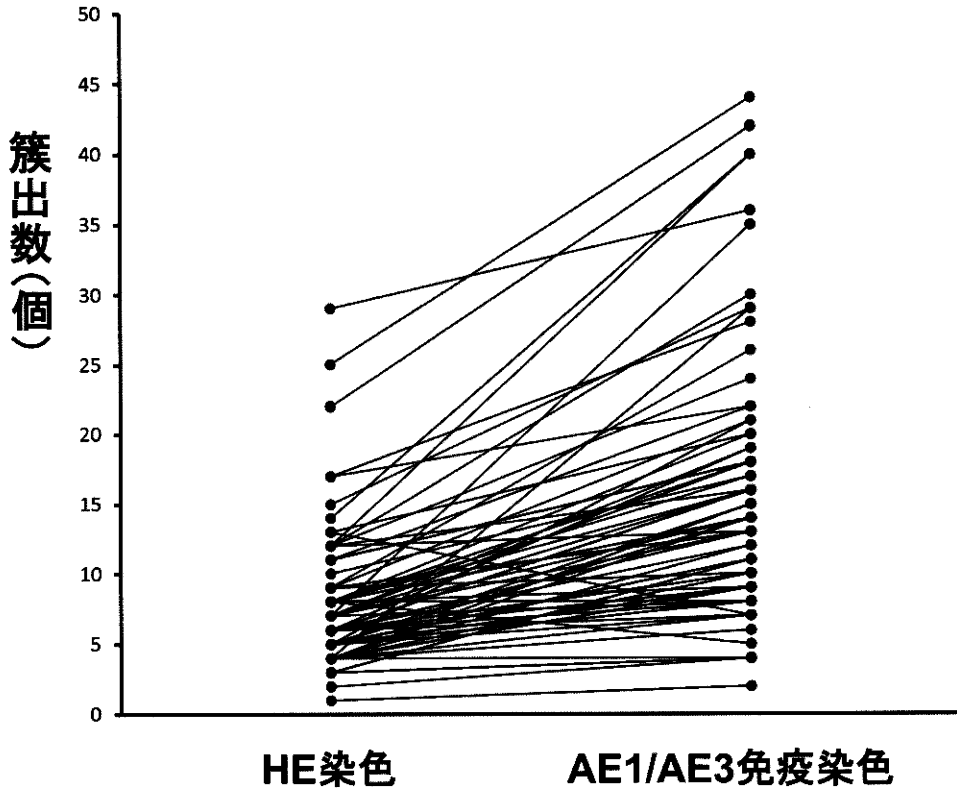


図2 各症例での各染色法における簇出数

各症例における HE 染色標本と AE1/AE3 免疫染色標本における簇出数を示す. 各染色別に作製された標本において, 20 × 10 倍で観察した 1 視野あたりの簇出個数を計測した. 1 標本あたり 10 視野観察し, その最大値を簇出数とした.

HE 染色と比較し AE1/AE3 免疫染色を用いて評価した方が有意に簇出検出個数は増加した ( $P < 0.001$ )

Health Organization (WHO) 分類<sup>16)</sup> および日本膵臓学会膵癌取り扱い規約第 6 版<sup>17)18)</sup> にて分類し, TNM Stage および組織分化度 (TNM grade) は International Union Against Cancer<sup>19)</sup> と American Joint Committee on Cancer<sup>20)</sup> に準じた.

## 2. 原発巣の病理組織学的検索

切除標本を 10%ホルマリンで固定後に原発巣を 4-5mm 間隔で全割し, パラフィン包埋ブロック作製後薄切し, HE 染色標本を作製した. 腫瘍の最大断面を代表切片とし, 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, 抗サイトケラチン染色 AE1/AE3 (DAKO,

Glostrup, Denmark) を行った.

簇出の診断は, 臨床情報を秘匿して行った. Ueno ら<sup>11)</sup> の定義に従い, 簇出を, 癌発育先進部の間質に認められる 5 個未満の細胞からなる癌細胞巢と定義した (図 1). 癌発育先進部を観察し, 簇出最頻出である 20 × 10 倍 1 視野 (視野面積 = 0.950mm<sup>2</sup>) を選択し, 顕鏡して簇出数を算出した. 1 症例で少なくとも 10 視野で計測を行い, その最大値を簇出数とした. いずれの染色でも, 膿瘍内, 貯留粘液内やその破綻部にみられた解離癌細胞は, 簇出から除外した. HE 染色では, 明瞭な核小体とともに好塩基性で大きな核を有し, 間質と細胞質の境界が明瞭な細胞を癌細胞と判定し

表1 Cox比例ハザードモデルによるカイ二乗値を基準とした各染色別の簇出カットオフ値

HE染色での簇出			AE1/AE3免疫染色での簇出		
Cut off 値	カイ二乗値	P	Cut off 値	カイ二乗値	P
0-4 $\geq$ 5	2.067	1.151	0-4 $\geq$ 5	3.597	0.058
0-5 $\geq$ 6	3.867	0.049	0-5 $\geq$ 6	5.145	0.023
0-6 $\geq$ 7	6.385	0.012	0-6 $\geq$ 7	4.582	0.032
0-7 $\geq$ 8	3.856	0.050	0-7 $\geq$ 8	4.057	0.044
0-8 $\geq$ 9	8.840	0.003	0-8 $\geq$ 9	7.980	0.005
0-9 $\geq$ 10	8.076	0.004	0-9 $\geq$ 10	5.151	0.023
0-10 $\geq$ 11	10.425	0.001	0-10 $\geq$ 11	5.229	0.022
0-11 $\geq$ 12	16.472	0.000	0-11 $\geq$ 12	6.924	0.009
<b>0-12 <math>\geq</math> 13</b>	<b>23.123</b>	<b>0.000</b>	0-12 $\geq$ 13	7.223	0.007
0-13 $\geq$ 14	12.525	0.000	0-13 $\geq$ 14	6.270	0.012
0-14 $\geq$ 15	12.086	0.001	<b>0-14 <math>\geq</math> 15</b>	<b>9.236</b>	<b>0.002</b>
0-15 $\geq$ 16	8.932	0.003	0-15 $\geq$ 16	8.467	0.004
0-16 $\geq$ 17	8.932	0.003	0-16 $\geq$ 17	5.318	0.021
0-17 $\geq$ 18	8.231	0.004	0-17 $\geq$ 18	6.171	0.013
0-18 $\geq$ 19	8.231	0.004	0-18 $\geq$ 19	3.463	0.063
0-19 $\geq$ 20	8.231	0.004	0-19 $\geq$ 20	4.529	0.033
			0-20 $\geq$ 21	2.344	0.126

た。AE1/AE3免疫染色では、細胞質が染色される細胞を染色陽性と定義した。また、簇出とリンパ管侵襲の鑑別のためにリンパ管内皮細胞に対するD2-40モノクローナル抗体 (Covance ; Former Signet Lab, Dedham, MA, USA) を併用した<sup>21)</sup>。

### 3. 統計解析

各染色法による簇出個数中央値の比較はWilcoxon符号付順位検定を用いた。生存解析において、生存期間は手術日から最終観察期間までと定義し、他病死は中途打ち切りとした。累積生存率曲線はKaplan-Meier法にて算出し、log-rank法にて検定した。簇出群別の臨床病理学的因子の比較はFisherの正確確率検定を使用した。全症例において、術後30日以内の早期死亡例はなく、累積観察期間は1-269か月(中央値85か月)であった。予後因子を決定する多変量解析はCox比例ハザードモデルを用いた。各染色別の簇出カットオフ値は、Cox比例ハザードモデルによるカイ二乗値を基準として決定した<sup>22)</sup>。統計学的検討はSPSS statistics 21 (IBM Japan, Tokyo, Japan)

を使用し、 $P < 0.05$ を有意差ありと定義した。

## 結 果

### 1. 簇出検出個数の比較

HE染色を用いて評価した簇出検出個数の平均±標準誤差は $7.8 \pm 0.5$ であった。一方、AE1/AE3免疫染色を用いて評価した簇出検出個数の平均±標準誤差は、 $15.3 \pm 1.0$ であり、AE1/AE3免疫染色を用いて評価した方が有意に簇出検出個数は増加した( $P < 0.001$ ; 図2)。

### 2. 染色別の簇出におけるカットオフ値

HE染色を用いて評価した簇出検出個数の範囲は1-29個(中央値6個)であり、AE1/AE3免疫染色を用いて評価した簇出検出個数の範囲は2-44個(中央値13個)であった。Cox比例ハザードモデルによるカイ二乗値を基準として各染色別の簇出カットオフ値を求めると、HE染色での簇出検出個数は13個、AE1/AE3免疫染色での簇出検出個数は15個であった(表1)。各染色別の簇出カッ

表2 各染色別でみた簇出と臨床病理学的因子との関連

病理学的因子	HE染色での簇出			AE1/AE3免疫染色での簇出			
		簇出13未満	簇出13以上	P	簇出15未満	簇出15以上	P
年齢	60歳未満	21	2	0.501	8	15	0.012
	60歳以上	51	7		38	20	
性別	女性	25	2	0.366	15	12	0.874
	男性	47	7		31	23	
腫瘍径	4cm未満	42	5	0.572	27	20	0.888
	4cm以上	30	4		19	15	
組織分化度 (TNM分類)	G1,G2	39	1	0.016	33	7	<0.001
	G3	33	8		13	28	
リンパ管侵襲	なし	32	4	0.634	18	18	0.270
	あり	40	5		28	17	
静脈侵襲	なし	43	7	0.251	27	23	0.520
	あり	29	2		19	12	
膵内神経浸潤	なし	11	2	0.443	7	6	0.815
	あり	61	7		39	29	
リンパ節転移	陰性	29	4	0.540	17	16	0.427
	陽性	43	5		29	19	
門脈浸潤	なし	56	8	0.394	35	29	0.459
	あり	16	1		11	6	
膵外神経叢浸潤	なし	57	7	0.606	37	27	0.719
	あり	15	2		9	8	
顕微鏡的癌遺残	なし	55	6	0.390	34	27	0.738
	あり	17	3		12	8	

トオプ値をもとに、HE染色を用いて評価した簇出では13個未満を低簇出群、13個以上を高簇出群とした。また、AE1/AE3免疫染色を用いて評価した簇出では15個未満を低簇出群、15個以上を高簇出群とした。

### 3. 簇出と臨床病理学的因子との関連

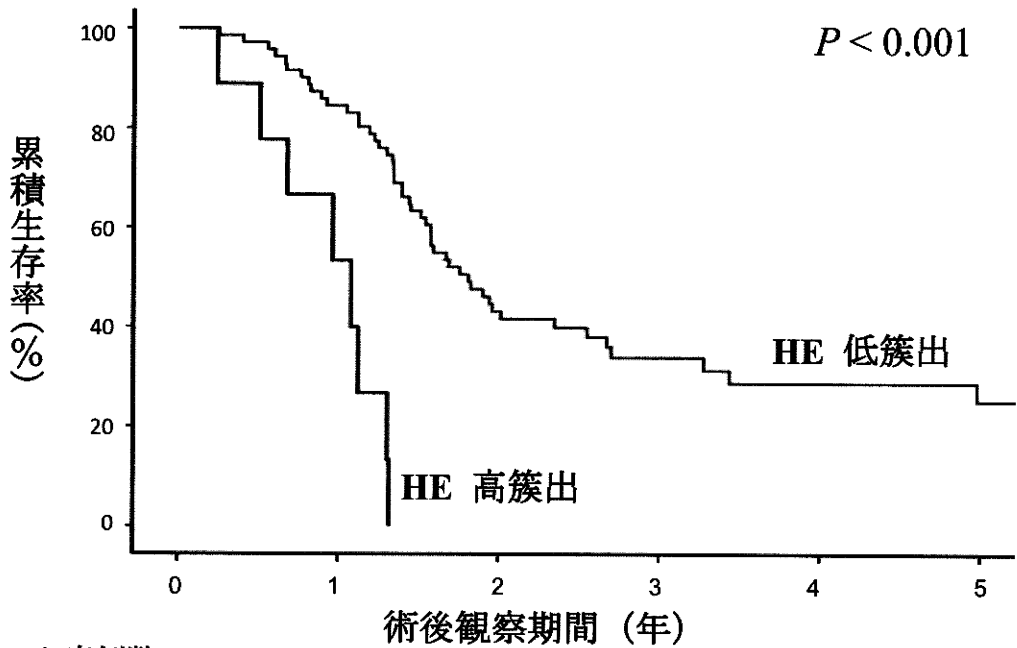
HE染色を用いて評価した高簇出群はTNM分類G3(低分化型)と有意に関連していた( $P=0.016$ ;表2)。また、AE1/AE3免疫染色を用いて評価した高簇出群も同様にTNM分類G3(低分化型)と有意に関連していた( $P<0.001$ ;表2)。腫瘍径やリンパ節転移、顕微鏡的癌遺残など、他の臨床病理学的因子との統計学的な関連は認めなかった。

### 4. 簇出を含めた臨床病理学的因子の生存解析

膵癌切除81例での累積2年生存率は38.8%で、累積5年生存率は22.6%、生存期間中央値は19.7か月であった。単変量解析では男性、TNM分類G3(低分化型)、顕微鏡的癌遺残陽性、HE染色での高簇出群(図3)およびAE1/AE3免疫染色での高簇出群(図4)が有意な予後不良因子であった(表3)。多変量解析では、TNM分類G3(ハザード比2.062,  $P=0.011$ )、顕微鏡的癌遺残(ハザード比2.603,  $P=0.001$ )およびHE染色での高簇出(ハザード比5.213,  $P<0.001$ )が独立した有意な予後不良因子であった。

## 考 察

本研究では浸潤性膵管癌の簇出をHE染色とAE1/AE3免疫染色の両方で評価して、新しい3



## リスク症例数

HE 低簇出	72	60	39	14	9	7
HE 高簇出	9	2	0	0	0	0

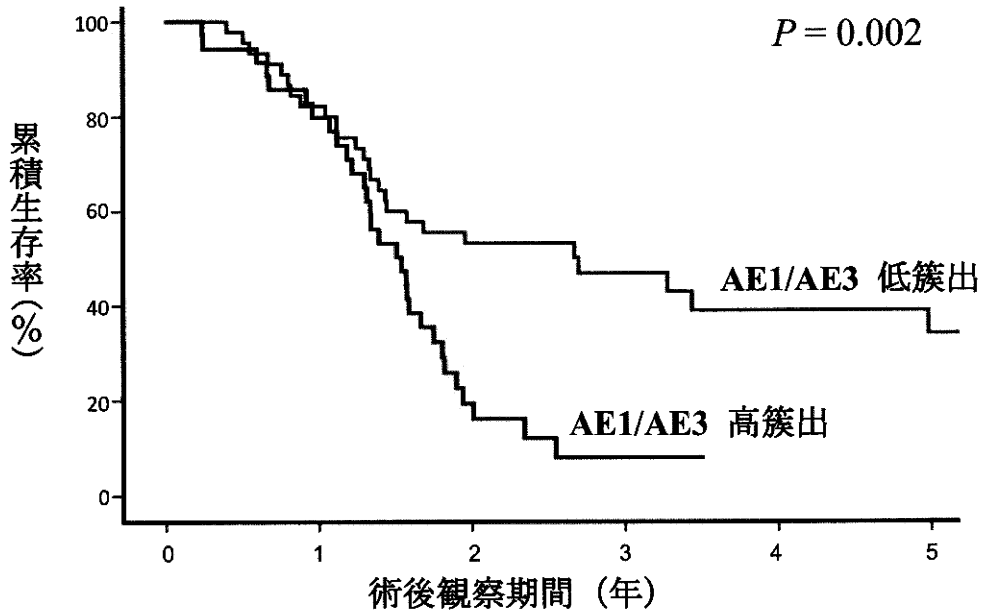
図3 HE染色を用いて評価した簇出群別の累積生存率曲線

HE染色で評価された高簇出群の累積2年生存率は0%、生存期間中央値は11.9か月であり、低簇出群の累積2年生存率43.1%、生存期間中央値21.7か月と比較して有意に術後成績は不良であった ( $P < 0.001$ )。

つの知見を得た。第1に、HE染色では13個以上、AE1/AE3免疫染色では15個以上の簇出を認める高簇出群は、低簇出群と比べ有意に予後不良であった。第2に高簇出群は低分化型膵癌と関連していたが、リンパ節転移や脈管侵襲との関連はなかった。第3に多変量解析において、HE染色で評価した簇出、TNM分類G3(低分化型)および顕微鏡的癌遺残が独立した有意な予後不良因子であった。本研究は、HE染色での簇出評価において、最もよく予後を予測する簇出高度陽性(カットオフ値13個)の判定基準を策定した初の研究である。

浸潤性膵管癌において簇出を検討した報告は少

なく<sup>13)14)</sup>、簇出を高簇出と判定する統一基準は存在せず、染色法別に検討した報告もなかった。AE1/AE3免疫染色はtype Iおよびtype IIに対する上皮性サイトケラチン抗体であり、ほぼすべての上皮細胞、癌細胞が染色されるため<sup>23)</sup>、膵癌発育先進部での簇出と線維芽細胞の増生や随伴性膵炎による炎症細胞浸潤との鑑別は容易になる<sup>13)</sup>。したがって、本研究では、同一症例において連続切片で免疫染色を行うことにより診断される簇出個数がHE染色に比べて有意に増加した。本研究では術後成績を予測するために至適な各染色法別の簇出カットオフ値を決定するためにCox比例ハザードモデルのカイニ乗値を基準とし<sup>22)</sup>、低



リスク症例数

AE1/AE3 低簇出	46	37	23	13	9	7
AE1/AE3 高簇出	35	27	6	1	0	0

図4 AE1/AE3免疫染色を用いて評価した簇出群別の累積生存率曲線

AE1/AE3免疫染色で評価された高簇出群の累積2年生存率は19.3%，生存期間中央値は18.4か月で，低簇出群の累積2年生存率53.2%，生存期間中央値32.5か月と比較して有意に術後成績は不良であった（ $P = 0.002$ ）。

簇出と高簇出の2群間に分類した。

本研究では，高簇出はTNM分類G3（低分化型）と有意に関連していた。これは先行研究<sup>13)</sup>での結果とも一致した。また，各染色において，G1，G2症例では高簇出例が少数であった（表2）。高簇出が局所進行因子である門脈浸潤陽性や神経叢浸潤陽性，顕微鏡的癌遺残と関連がないことは，腫瘍の局所浸潤を考える上で重要であり<sup>14)</sup>，簇出は局所進展を反映していないことになる。さらに，高簇出は脈管侵襲陽性やリンパ節転移陽性とも関連がなく，高簇出群が予後不良となる原因は明らかではない。簇出の分子生物学的機序は，上皮間質転換に類似し組織遊走能を獲得することで浸潤・転移をもたらすという報告もあるが，一定

の見解は得られていない<sup>24)</sup>。

多変量解析の結果では，TNM分類G3（低分化型），顕微鏡的癌遺残およびHE染色での高簇出が独立した有意な予後不良因子であった。TNM分類のGradeはWHOによる簡便なgrading systemとして普及しており<sup>25)</sup>，その有用性も十分に検討されている<sup>26)27)</sup>。顕微鏡的癌遺残は局所再発因子または予後因子として報告されており，手術では癌遺残なく切除することが長期生存に繋がるもっとも重要な因子である<sup>28)</sup>。HE染色における高簇出はそれらの因子より強い予後不良因子であった（表3）。AE1/AE3免疫染色では簇出の検出が容易で多数の簇出が検出されるにもかかわらず，HE染色で診断された簇出高度陽性判定基



表3 浸潤性膵管癌における術後成績に影響を与える因子の解析

臨床病理学的因子	症例数	2年生存率(%)	生存期間中央値(月)	単変量解析	多変量解析			
				P	ハザード比	95%信頼区間	P	
年齢	60未満	23	26.1	19.2	0.136			
	60以上	58	44.3	20.4				
性別	女	27	59.3	28.8	0.046	1.000		
	男	54	27.8	17.6				
腫瘍径	4cm未満	47	48.8	21.8	0.055			
	4cm以上	34	25.3	16.3				
組織分化度 (TNM分類)	G1,G2	40	56.2	25.4	0.001	1.000		
	G3	41	21.8	17.0				
リンパ管侵襲	なし	36	51.1	23.5	0.072			
	あり	45	29.1	17.0				
静脈侵襲	なし	50	41.4	20.3	0.294			
	あり	31	34.7	18.1				
膵内神経浸潤	なし	13	46.2	18.9	0.635			
	あり	68	37.3	19.4				
リンパ節転移	なし	33	47.0	23.6	0.060			
	あり	48	33.2	18.0				
門脈浸潤	なし	64	38.1	19.4	0.469			
	あり	17	41.2	15.7				
膵外神経叢浸潤	なし	64	39.7	20.5	0.420			
	あり	17	35.3	16.3				
顕微鏡的癌遺残	なし	61	47.1	22.6	<0.001	1.000		
	あり	20	15.0	14.5				
HEでの簇出	13未満	72	43.1	21.7	<0.001	1.000		
	13以上	9	0	11.9				
AE1/AE3での簇出	15未満	46	53.2	32.5	0.002	1.000		
	15以上	35	19.3	18.4				

準のほうが、予後因子として有用であった。この原因としては、AE1/AE3免疫染色は細胞の細胞骨格を認識しているため<sup>23)</sup>、免疫応答によりすでに生物学的活性を失っている癌細胞も簇出として測定している可能性が考えられる。浸潤性膵管癌では簇出の生物学的活性や増殖能は明らかでないが、大腸癌では、腫瘍中心部に比べ、腫瘍先進部での簇出は細胞増殖能の指標であるKi-67発現が少ないとされる<sup>29)</sup>。今後の課題として、簇出における細胞増殖能、アポトーシスを検索することで簇出の生物学的特徴を解明していくことが必要であろう。

## 結 論

本研究において浸潤性膵管癌の簇出診断では、HE染色の方がAE1/AE3免疫染色よりも予後因子として有用であり、他の臨床病理学的因子より

リスク評価の点で重要である。

## 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深謝します。

## 文 献

- 1) Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T and Thun MJ: Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin 58: 71 - 96, 2008.
- 2) Hidalgo M: Pancreatic cancer. N Engl J Med 362: 1605 - 1617, 2010.
- 3) Yeo TP, Hruban RH, Leach SD, Wilentz RE, Sohn

- TA, Kern SE, Iacobuzio - Donahue CA, Maitra A, Goggins M, Canto MI, Abrams RA, Laheru D, Jaffee EM, Hidalgo M and Yeo CJ: Pancreatic cancer. *Curr Probl Cancer* 26: 176 - 275, 2002.
- 4) Kayahara M, Nagakawa T, Ueno K, Ohta T, Takeda T and Miyazaki I: An evaluation of radical resection for pancreatic cancer based on the mode of recurrence as determined by autopsy and diagnostic imaging. *Cancer* 72: 2118 - 2123, 1993.
  - 5) Perini MV, Montagnini AL, Jukemura J, Penteadó S, Abdo EE, Patzina R, Cecconello I and Cunha JE: Clinical and pathologic prognostic factors for curative resection for pancreatic cancer. *HPB (Oxford)* 10: 356 - 362, 2008.
  - 6) Cleary SP, Gryfe R, Guindi M, Greig P, Smith L, Mackenzie R, Strasberg S, Hanna S, Taylor B, Langer B and Gallinger S: Prognostic factors in resected pancreatic adenocarcinoma: analysis of actual 5 - year survivors. *J Am Coll Surg* 198: 722 - 731, 2004.
  - 7) Prall F: Tumour budding in colorectal carcinoma. *Histopathology* 50: 151 - 162, 2007.
  - 8) Koike M, Kodera Y, Itoh Y, Itoh Y, Nakayama G, Fujiwara M, Hamajima N and Nakao A: Multi - variate analysis of the pathologic features of esophageal squamous cell cancer: tumor budding is a significant independent prognostic factor. *Ann Surg Oncol* 15: 1977 - 1982, 2008.
  - 9) Gabbert HE, Meier S, Gerharz CD and Hommel G: Tumor - cell dissociation at the invasion front: a new prognostic parameter in gastric cancer patients: *Int J Cancer* 50: 202 - 207, 1992.
  - 10) Ohike N, Coban I, Kim GE, Basturk O, Tajiri T, Krasinskas A, Bandyopadhyay S, Morohoshi T, Shimada Y, Kooby DA, Staley CA, Goodman M and Adsay NV: Tumor budding as a strong prognostic indicator in invasive ampullary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 34: 1417 - 1424, 2010.
  - 11) Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Aida S, Hase K, Matsukuma S, Kanai T, Kurihara H, Ozawa K, Yoshimura K and Bekku S: Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 127: 385 - 394, 2004.
  - 12) Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H and Talbot IC: Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathology* 40: 127 - 132, 2002.
  - 13) Masugi Y, Yamazaki K, Hibi T, Aiura K, Kitagawa Y and Sakamoto M: Solitary cell infiltration is a novel indicator of poor prognosis and epithelial - mesenchymal transition in pancreatic cancer. *Hum Pathol* 41: 1061 - 1068, 2010.
  - 14) Karamitopoulou E, Zlobec I, Born D, Kondi - Pafiti A, Lykoudis P, Mellou A, Gennatas K, Gloor B and Lugli A: Tumour budding is a strong and independent prognostic factor in pancreatic cancer. *Eur J Cancer* 49: 1032 - 1039, 2013.
  - 15) Rasheed ZA, Matsui W and Maitra A: Pathology of pancreatic stroma in PDAC. *Transworld Research Network, Trivandrum (India)*, 2012.
  - 16) Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH and Theise ND: WHO classification of tumours of the digestive system, Fourth Edition, International Agency for Research on Cancer, France, pp279 - 295, 2010.
  - 17) Kondo S: Japanese Pancreas Society Staging Systems for Pancreatic Cancer. In *Pancreatic Cancer*, Springer, New York, pp1035 - 1050, 2010.
  - 18) Isaji S, Kawarada Y and Uemoto S: Classification of pancreatic cancer: comparison of Japanese and UICC classifications. *Pancreas* 28: 231 - 234, 2004.
  - 19) Sobin LH, Gospodarowicz MK and Wittekind C: TNM classification of malignant tumours, Wiley, New Jersey, pp132 - 135, 2011.
  - 20) Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL and Trotti A: *AJCC cancer staging manual*, 7th edition, Springer, Chicago (USA), pp241 - 249, 2010.
  - 21) Shimizu Y, Jin L, Yamaguchi H, Motosugi U, Sannohe S, Nagata K, Sakurai T, Murata S, Yasuda M and Shimizu M: Detection of lymphatic invasion in resected cases of primary pancreatic cancer based on immunohistochemistry of D2 - 40. *Ann Diagn Pathol* 13: 168 - 172, 2009.
  - 22) Sakata J, Shirai Y, Wakai T, Ajioka Y, Akazawa K

- and Hatakeyama K: Assessment of the nodal status in ampullary carcinoma: the number of positive lymph nodes versus the lymph node ratio. *World J Surg* 35: 2118 - 2124, 2011.
- 23) Listrom MB and Dalton LW: Comparison of keratin monoclonal antibodies MAK - 6, AE1: AE3, and CAM - 5.2. *Am J Clin Pathol* 88: 297 - 301, 1987.
- 24) Karamitopoulou E: Tumor budding cells, cancer stem cells and epithelial - mesenchymal transition - type cells in pancreatic cancer. *Front Oncol* 2: 209 (1 - 5), 2012.
- 25) Kloppel G, Lingenthal G, von Bulow M and Kern HF: Histological and fine structural features of pancreatic ductal adenocarcinomas in relation to growth and prognosis: studies in xenografted tumours and clinico - histopathological correlation in a series of 75 cases. *Histopathology* 9: 841 - 856, 1985.
- 26) Luttges J, Schemm S, Vogel I, Hedderich J, Kremer B and Kloppel G: The grade of pancreatic ductal carcinoma is an independent prognostic factor and is superior to the immunohistochemical assessment of proliferation. *J Pathol* 191: 154 - 161, 2000.
- 27) Giulianotti PC, Boggi U, Fornaciari G, Bruno J, Rossi G, Giardino D, Di Candio G and Mosca F: Prognostic value of histological grading in ductal adenocarcinoma of the pancreas. Kloppel vs TNM grading. *Int J Pancreatol* 17: 279 - 289, 1995.
- 28) Verbeke CS: Resection margins and R1 rates in pancreatic cancer - are we there yet? *Histopathology* 52: 787 - 796, 2008.
- 29) Jung A, Schrauder M, Oswald U, Knoll C, Sellberg P, Palmqvist R, Niedobitek G, Brabletz T and Kirchner T: The invasion front of human colorectal adenocarcinomas shows co - localization of nuclear beta - catenin, cyclin D1, and p16 INK4A and is a region of low proliferation. *Am J Pathol* 159: 1613 - 1617, 2001.

(平成 25 年 12 月 3 日 受付)

---