

胃腺癌細胞における human chorionic gonadotropin- α subunit の産生に関する免疫組織学的研究

金沢大学第1外科

林 裕之 大村 健二 宗本 義則
渡辺 俊一 道伝 研司 岩 喬

1975年から1984年までの期間に連続切除された胃癌127例を対象として、human chorionic gonadotropin α subunit (HCG- α) の産生について検討した。HCG- α は正常胃粘膜および胃腺癌細胞の細胞質に認められ、胃腺癌組織においては127例中10例 (7.9%) に陽性細胞が存在していた。胃癌取扱い規約による肉眼型、組織型、stage 分類による陽性率には統計学的有意差はなかった。また、予後の点においても陽性例と陰性例との間に有意差を認めなかった。内分泌細胞の優れたマーカーとされる chromogranin A 陽性癌細胞は127例中37例 (29.1%) にみられ、このうちの10例が HCG- α 陽性であった。HCG- α 陽性癌細胞は chromogranin A に対しても陽性を呈することから、HCG- α は内分泌細胞型癌細胞の産生する正所性ペプチドの一つであると考えられ、その生物学的意義、宿主に与える影響の検索にはさらに症例を重ねた研究が必要であると思われた。

Key words : adenocarcinoma of the stomach, HCG- α -subunit, chromogranin A

緒 言

Human chorionic gonadotropin (HCG) は胎盤組織の絨毛細胞より産生される糖タンパクホルモンであり、胃腺癌においても HCG は約10%の頻度で産生される¹⁾。近年の研究により HCG は異なる遺伝子で規定される2種の糖タンパクの subunit (α , β) により構成されることが判明した²⁾³⁾。このうち α -subunit (HCG- α) は生物学的活性はなく、他の糖タンパクホルモン (lutening hormone; LH, follicle stimulating hormone; FSH, thyroid stimulating hormone; TSH) とほぼ同一構造である²⁾。しかし Heitz ら⁴⁾ によれば、HCG- α は腓ラ島腫瘍の悪性度の優れた指標になるとされている。本研究は胃腺癌細胞における HCG- α の産生状況および生物学的意義を考察するために、HCG- α の発現を免疫組織学的に細胞レベルで確認し、種々の臨床病理学的所見との検討を行ったので報告する。

対象および方法

1975年から1984年までの期間に金沢大学第1外科にて連続切除された胃癌症例127例を対象とした。各症例

は切除後10%中性緩衝ホルマリンにて固定、パラフィン包埋後通常の組織検索に供した。免疫組織学的染色は Avidin Biotin Complex 法に準じて施行した。すなわち各症例の代表切片を脱パラフィン処置を施し、0.1% H₂O₂ 加メタノールにて内因性ペルオキシダーゼを不活化、その後1次抗体の anti-HCG- α -subunit antibody (Bioproduct, $\times 2,000$) を12時間反応させた。ついで2次抗体 (anti rabbit IgG), ABC complex (Vector Labo., USA) と反応後、Diaminobenzidine (DAB) にて発色し、メチルグリーンで核染し陽性細胞を検索した。さらに、HCG- α 陽性細胞と胃腺癌における内分泌細胞型癌細胞との関係を調べるために各症例の代表切片に対し、内分泌細胞の優れたマーカーとされている Chromogranin A (CGA)⁵⁾ に対するポリクローナル抗体を用いた免疫染色も施行し両者の関係につき考察を加えた。なお臨床病理学的検討は胃癌取扱い規約⁶⁾ に準じて行った。今回の検討では、正常胃粘膜の HCG- α 陽性細胞の癌病巣への混入を陽性と判断しないために、粘膜下層以下における癌細胞が HCG- α により染色されている場合のみ陽性例と考えた。統計学的有意差の検定にはカイ2乗検定を使用した。また生存率算定には Kaplan-Meier 法を用いて行い、その統計学的検討には generalized-wilcoxon 法を使用し、

いずれも危険率5%以下を有意差と判定した。

結 果

正常胃の幽門腺粘膜には HCG- α 陽性細胞が認められ、細胞質が DAB 反応により茶褐色に染色された (Fig. 1)。

127例中10例 (7.8%) に HCG- α 陽性細胞を認めた (Table 1)。高分化型腺癌では、陽性細胞は腫瘍腺管中に個々に独立して存在していた (Fig. 2)。低分化型腺

癌においては陽性細胞は間質中に散在していた (Fig. 3)。膠様腺癌では、粘液塊中の癌細胞が褐色に染色されたが、粘液は HCG- α 陰性であった (Fig. 4)。

胃癌取扱い規約⁵⁾による肉眼型分類では、1型0% (0/2), 2型9.1% (2/22), 3型8.7% (6/69), 4型8.7% (2/23) に陽性例が認められたが、各群間に統計学的有意差は認めなかった (Table 2)。

組織学的には、印環細胞癌に20% (1/5), 低分化型腺癌に8.9% (7/79), 膠様腺癌に12.5% (1/8), 高分化型腺癌に4.8% (1/21) と特に統計上の差異はみられ

Fig. 1 Normal antral mucosa stained with anti HCG- α

HCG- α positive cells are scattered in the pyloric glands. ($\times 240$) High power view shows location of HCG- α in cytoplasm (inset). ($\times 600$)

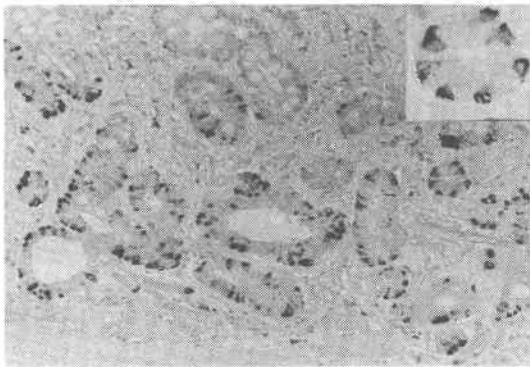


Fig. 2 In tubular adenocarcinoma, HCG- α positive ovoid cells are found in cancerous glands. ($\times 480$)

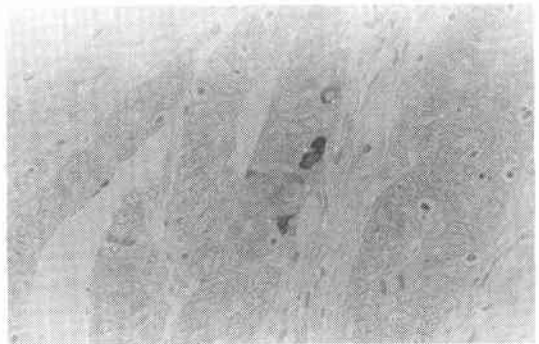


Table 1 Histological and Immunohistochemical findings of gastric carcinomas with HCG- α positive cells

Case no.	Age (yr)	Sex	Amount of fibrosis	Gross appearance*	Histological classification†	HCG- α immunoreactivity
1	62	♂	M	Borr 3	MUC	+
2	69	♂	M	Borr 2	POR	+
3	43	♀	S	Borr 3	SIG	+
4	44	♀	S	Borr 4	POR	+
5	57	♀	S	Borr 3	POR	+
6	47	♂	S	Borr 3	POR	+
7	56	♀	M	Borr 3	TUB	+
8	39	♀	S	Borr 3	POR	+
9	47	♂	S	Borr 4	POR	+
10	38	♀	S	Borr 3	POR	+

HCG- α , alpha-subunit of human chorionic gonadotropin; M, medullary type; S, scirrhous type; Borr, Borrmann's type; MUC, mucinous adenocarcinoma; POR, poorly differentiated adenocarcinoma; TUB, tubular adenocarcinoma; SIG, signet ring cell carcinoma.

+, Numerous (>50%) immunostained cell; +, a few (<50%) immunostained cells.

*Classified according to the Japanese Society for Gastric Cancer.

†According to the Japanese Research Society Committee on Histological Classification of Gastric Cancer.

Fig. 3 In poorly differentiated adenocarcinoma, HCG- α positive cancer cells are found in desmoplastic stroma. ($\times 480$)

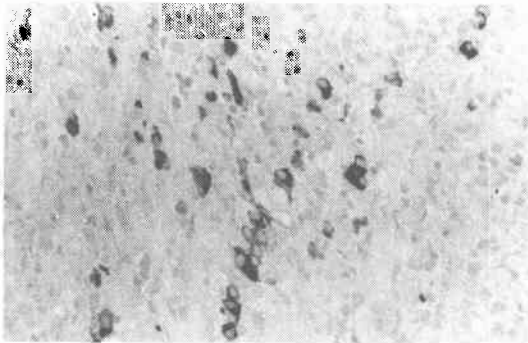


Fig. 4 HCG- α immunoreactive cancer cells are surrounded by mucus lake in mucinous adenocarcinoma. ($\times 480$)

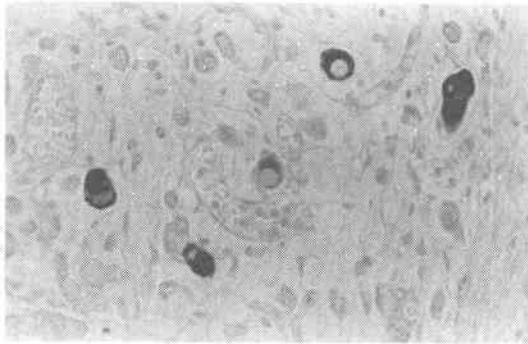


Fig. 5 Kaplan-Meier survival curves for patients with and without HCG- α positive cancer cells. There is no significant difference in prognosis between the two groups. (generalized-wilcoxon' s test $p < 0.05$)

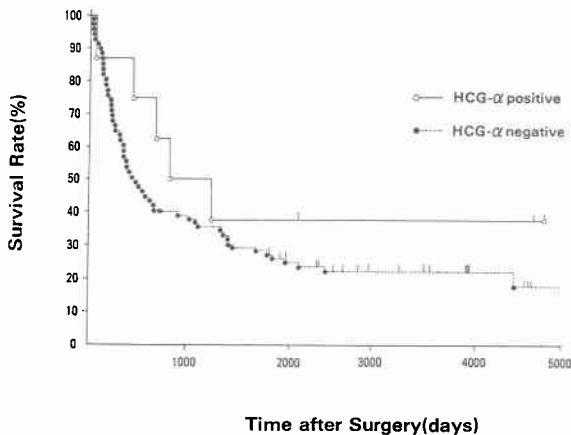


Table 2 Relationship between HCG- α positive cells and Gross appearances

Gross appearance	No. of cases	No. of HCG- α positive cases	Incidence (%)
Borr 1	2	0	0
Borr 2	22	2	9.1
Borr 3	69	6	8.7
Borr 4	23	2	8.7
early cancer	11		
Total	127	10(7.8%)	

Borr : Borrmann's type

HCG- α , alpha-subunit of human chorionic gonadotropin

Table 3 Relationship between HCG- α positive cells and histologic subtypes

Histologic subtype†	No. of cases	No. of HCG- α positive cases	Incidence (%)
PAP	14	0	0
TUB	21	1	4.8
POR	79	7	8.9
MUC	8	1	12.5
SIG	5	1	20.0
Total	127	10	7.87

HCG- α , alpha-subunit of human chorionic gonadotropin ; PAP, papillary adenocarcinoma ; TUB, tubular adenocarcinoma ; POR, poorly differentiated adenocarcinoma ; MUC, mucinous adenocarcinoma ; SIG, signet-ring cell carcinoma.

†According to the classification of the Japanese Research Society Committee on Histological Classification of Gastric Cancer.

Table 4 Relationship between HCG- α positive cells and pathological stages

Pathological stage	No. of cases	No. of HCG- α positive cases	Incidence (%)
Stage I	11	0	0
Stage II	33	4	12.1
Stage III	41	1	2.4
Stage IV	42	5	11.9
Total	127	10(7.87%)	

HCG- α , alpha-subunit of human chorionic gonadotropin

† : According to the Japanese Research Society of Gastric cancer

なかった (Table 3).

stage 別陽性率は stage I : 0 % , II : 12.1% , III : 2.4% , IV : 11.9% であり病期の進行にともなう陽性率の変化は認めなかった (Table 4).

Table 5 Relationship between chromogranin A(CGA) positive cells and HCG- α positive cells in cancerous and normal tissues

	cancerous tissue		normal tissue	
	HCG- α positive	HCG- α negative	HCG- α positive	HCG- α negative
HCG- α positive	10	0	22	0
HCG- α negative	27	90	105	0
Total	37	90	127	0

HCG- α : alpha-subunit of human chorionic gonadotropin

CGA: chromogranin A

HCG- α 陽性群と陰性群の生存率を Kaplan-Meier 法により算出した (Fig. 5)。HCG- α 陽性群の 5 年生存率は 31.3%、陰性群では 27.3% であり、generalized-Wilcoxon 法による検定では両群間に有意差を認めなかった。

CGA 陽性細胞も HCG- α 陽性細胞と同様の染色態度を呈し、細胞質が顆粒状に染色された。127 例の胃癌のうち CGA 陽性顆粒を認める内分泌細胞型癌細胞を有する症例が 37 例 (29.1%) 認められ、そのうち 10 例が HCG- α 陽性症例であった。また、正常胃粘膜では 127 例中全例に CGA 陽性の内分泌細胞を認めたが、うち 28 例 (22.0%) に HCG- α が陽性であった (Table 5)。

考 察

HCG は絨毛性疾患のみならず種々の悪性腫瘍でも発現することが報告されている⁷⁾⁸⁾。胃腺癌においては約 10.5~23.5% の症例に HCG の血中濃度の上昇が観察され¹¹⁾²⁾⁹⁾¹⁰⁾、陽性例においては診断と手術後の経過観察時の有用な指標とされている。近年の研究により HCG は異なる遺伝子で規定される 2 種の糖タンパクの subunit (α , β) により構成されることが判明し²⁾³⁾、このうち α -subunit (HCG- α) は生物学的活性を有さず、他の糖タンパクホルモン (LH, FSH, TSH) とほぼ同一構造であることが明かとなっている²⁾。胃、肺、大腸においてはこの 2 種の subunit の免疫組織学的分布状況に解離が認められ、HCG- α 陽性細胞が HCG- β 陽性細胞より高頻度に存在し、2 種の細胞は別の細胞であったと報告されている^{11)~14)}。今回の検討では、127 例の胃腺癌中 10 例 (7.9%) と陽性症例が他の報告¹⁴⁾に比べてやや少なかったが、粘膜下層以下の腺癌組織の陽性所見のみを厳格に判定したためと考えられた。

Heitz ら⁴⁾によれば、膵ラ島腫瘍では、ほぼ悪性例に限って HCG- α が検出され、HCG- α は悪性度の優れた指標になるとされている。しかし、肺の内分泌系腫瘍

の検討では、HCG- α の発現は肺小細胞癌に比べ気管支カルチノイドに多く、発現頻度とカルチノイドの転移能との間に相関は認められていない¹⁵⁾。今回のわれわれの検討においても、胃癌取扱い規約による肉眼型、組織型、stage 別分類間の HCG- α 陽性率には統計学的有意差は存在せず、5 年生存率にも HCG- α は影響を与えてはいないと考えられ、HCG- α 産生能の有無は、腫瘍の浸潤様式や悪性度と関係がないものと思われた。

今回の検討では、正常胃粘膜にも 127 例中 28 例 (22.0%) に HCG- α 陽性細胞が存在しており、これらは CGA に対しても陽性を呈することから、HCG- α 陽性細胞は内分泌細胞に一致していると考えられた。近年、正常胃粘膜、直腸粘膜においても HCG- α 陽性細胞の存在は免疫組織学的に確認されている¹¹⁾¹⁶⁾。さらに Bordi ら¹⁶⁾は、正常胃粘膜における HCG- α の産生と高ガストリン血症の関連性を調査し、HCG- α は高ガストリン血症時に正常胃粘膜の内分泌細胞が産生する正所性ペプチドの 1 種であると考察している。一方、腫瘍におけるペプチドの産生頻度と種類はその原発部位に密接に関連性があることが示唆されている¹⁷⁾。以上より、HCG- α は胃腺癌においても、内分泌細胞型癌細胞の産生する正所性ホルモンの一つであり、HCG- α 陽性癌細胞は機能的には高度に分化した癌細胞であると思われる。

今回の検討での陽性症例数は 10 例と少なく stage 別の予後の解析は不可能であった。消化管悪性腫瘍においては、ガストリン¹⁸⁾、vasoactive intestinal polypeptide¹⁹⁾などの消化管ホルモンが paracrine, autocrine 活性を介して増殖に関与しているとされる²⁰⁾²¹⁾。Ito らは HCG 産生胃癌は有意に予後不良であると報告しており²²⁾、さらに症例を重ねた研究が必要であると考えられた。

文 献

- 1) Braunstein GD, Vaitukaitis JL, Carbone PP et al: Ectopic production of human chorionic gonadotropin by neoplasms. *Ann Intern* 78 : 39—45, 1973
- 2) Fiddes JC, Talmadge K: Structure, expression, and evolution of the genes for the human chorionic glycoprotein hormones. *Recent Prog Horm Res* 40 : 43—78, 1984
- 3) Policastro PF, Daniel-MaQueen S, Carle G et al: A map of hCG β -LH β gene cluster. *J Biol Chem* 261 : 5907—5916, 1986
- 4) Helitz PU, Kasper M, Kloppel G et al: Glycoprotein hormone alpha-chain productin by pancreatic endocrine tumors: A specific marker for malignancy. *Immunohistochemical analysis of tumors of 155 patients. Cancer* 51 : 277—282, 1983
- 5) Facer P, Bishop AE, Lloyd RV et al: Chromogranin A: A newly recognized marker for endocrine cells of the human gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 89 : 1366—1373, 1985
- 6) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 第11版, 金原出版, 東京, 1985
- 7) Hattori M, Yoshimoto Y, Matsukura S et al: Qualitative and quantitative analyses of human chorionic gonadotropin and its subunits produced by malignant tumors. *Cancer* 46 : 355—361, 1980
- 8) Rosen SW, Waintraub BD, Arronson SA et al: Nonrandom ectopic protein production by malignant cells: direct evidence in vitro. *J Clin Endocrinol Metabol* 50 : 834—841, 1980
- 9) Caliani S, Chu M, Nussbaum A et al: Human chorionic gonadotropins (hCG) in nontrophoblastic neoplasms. Assessment of abnormalities of hCG and CEA in bronchogenic and digestive neoplasms. *Cancer* 38 : 1684—1686, 1976
- 10) Wasada T, Kato K, Ibayasi H: Ectopic production of human chorionic gonadotropin by malignant neoplasms. *Jpn J Cancer Clin* 25 : 561—566, 1979
- 11) Fukayama M, Hayashi Y, Takizawa T et al: Glycoprotein hormone alpha-subunit in human stomach. *J Histochem Cytochem* 34 : 995—1001, 1986
- 12) Fukayama M, Hayashi Y, Koike M et al: Human chorionic gonadotropin in lung and lung tumors. *Immunohistochemical study on unbalanced distribution of subunits. Lab Invest* 55 : 433—443, 1986
- 13) Fukayama M, Hayashi Y, Koike M: Human chorionic gonadotropin in the rectostigmoid colon: immunohistochemical study on unbalanced distribution of subunits. *Am J Pathol* 127 : 83—89, 1987
- 14) Fukayama M, Hayashi Y, Koike M: Human chorionic gonadotropin in gastric adenocarcinoma: an immunohistochemical study suggesting independent regulation of subunits. *Virchows Archiv [A]* 411 : 205—212, 1987
- 15) Tsutsumi Y: Expression of the alpha subunit of human chorionic gonadotropin in normal and neoplastic neuroendocrine cells: an immunohistochemical study. *Acta Pathol Jpn* 39 : 413—419, 1989
- 16) Bordi C, Pilto FP, Bertele A et al: Expression of glycoprotein hormone alpha-subunit by endocrine cells of the oxyntic mucosa is associated with hypergastrinemia. *Hum Pathol* 19 : 580—585, 1988
- 17) Dawson IMP: Diffuse endocrine and neuroendocrine cell tumors. Edited by Anthony PP, Macsween RNM, *Recent Advances in Histopathology*. Churchill, Livingstone, Edinburgh, 1983, p111—128
- 18) Ochiai A, Yasui W, Tahara E: Growth promoting effect of gastrin on human gastric carcinoma cell line TMK-1. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 76 : 1064—1071, 1985
- 19) Laburthe M, Rousset M, Chevalier G et al: Vasoactive intestinal polypeptide control of cyclic 3'; 5'-monophosphatase levels in seven human colorectal adenocarcinoma cell lines in culture. *Cancer Res* 40 : 2529—2533, 1980
- 20) Kobori O, Vuillot MT, Martin F: Growth response of rat stomach cancer cells to gastroentero-pancreatic hormones. *Int J Cancer* 30 : 65—67, 1982
- 21) Sumiyoshi H, Yasui W, Ochiai A et al: Effects of gastrin on tumor growth and cyclic nucleotide metabolism in xenotransplantable human gastric and colonic carcinomas in nude mice. *Cancer Res* 44 : 4276—4280, 1984
- 22) Ito H, Tahara E: Human chorionic gonadotropin in gastric carcinoma: a retrospective immunohistochemical study. *Acta Pathol Jpn* 33 : 287—296, 1983

**Immunohistochemical Study of Human Chorionic Gonadotropin
 α -subunit in Adenocarcinoma of the Stomach**

Hiroyuki Hayashi, Kenji Omura, Yoshinori Munemoto, Shyunichi Watanabe,
Kenji Doden and Takashi Iwa

First Department of Surgery, Kanazawa University, School of Medicine

To determine the clinicopathological significance of human chorionic gonadotropin α -subunit (HCG- α) in gastric adenocarcinoma, immunohistochemically 127 cases of gastric cancer were studied. HCG- α immunoreactive cancer cells were demonstrated in 10 (7.9%). There was no correlation between the appearance of HCG- α immunoreactivity and gross appearance, histological subtype, pathological stage or outcome. Furthermore HCG- α immunoreactive cells in the normal pyloric mucosa and gastric cancer were immunoreactive with chromogranin A, which is considered to be a useful marker of endocrine cells. Therefore, HCG- α cannot be regarded as a marker of malignancy in gastric adenocarcinoma. It should be regarded as one of the eutopic hormones expressed by endocrine differentiated gastric cancer cells.

Reprint requests: Hiroyuki Hayashi First Department of Surgery, Kanazawa University, School of Medicine
13-1 Takara-machi, Kanazawa City, 920 JAPAN
