

肺乳頭状腺癌の臨床病理学的検討

BAC と Papillary Adenocarcinoma の分類について

林 康史¹

要旨 **目的** . papillary adenocarcinoma の分類は WHO と日本肺癌学会分類では bronchioloalveolar carcinoma (BAC) の扱いにおいて多少異なっている . そこで今回は papillary adenocarcinoma および BAC と診断された症例を臨床病理学的に検討し , WHO 新分類の妥当性と問題点を検討した . **対象および方法** . 1987 年から 1995 年までに切除された肺癌の内 , papillary adenocarcinoma および BAC と診断された症例 183 例を対象とした . HE 標本からこれらを BAC 像のみしか認められない症例 (BAC 群) , 腫瘍辺縁部には BAC 像を認めるが腫瘍中心部には papillary adenocarcinoma の像を認める症例 (PB 群) , 腫瘍辺縁部にも BAC 像を認めず papillary adenocarcinoma の像のみを認める症例 (PA 群) の 3 群に分けた . これら 3 群について臨床所見 (年齢 , 性別 , 喫煙歴) , 病理学的所見 (p-TN 因子 , p-stage , 血管浸襲 , リンパ管浸襲 , 細胞亜型) および免疫組織化学染色にて ki67 抗原発現 , VEGF 発現 , p53 異常蛋白発現を , restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction (RFLP-PCR) 法にて k-ras codon12 変異を検索し , 比較検討した . **結果** . BAC 群と PB + PA 群で分けると臨床的には性別で BAC 群に有意に女性が多く ($p = 0.008$) , pT 因子 , pN 因子 , p-stage でも両者間に有意差を認めた . また , 病理学的にも血管浸潤 , リンパ管浸潤 , 分化度において有意差を認め , 今回検討した ki67 発現 ($p = 0.002$) , VEGF 発現 ($p = 0.029$) , k-ras mutation ($p = 0.022$) において有意差を認めた . 一方 , PB 群と PA 群を比較すると , p-stage のみに有意差を認めその他の因子においては臨床的にも病理学的にも有意差は認められなかった . また予後においても同様で , 5 年生存率および無再発期間を比較すると , BAC 群は PB + PA 群に比較し有意に予後良好であったが , PB 群と PA 群には差を認めなかった . **結論** . 細胞亜型などから考慮すると発生学的には PB 群と PA 群間には相違があるかもしれないが , 今回の検討からは臨床的にも病理学的にも PB 群と PA 群を区別することは困難であった . また , BAC 群と PB + PA 群間には , 予後も含め臨床的にも病理学的にも差が認められた . 従って現時点では , BAC は肺胞上皮置換性のみ増殖し間質浸潤を認めないものと定義して独立して分類し , その他は全て papillary adenocarcinoma として両者を区別することが臨床上合理的であると結論した . (肺癌 . 2002;42:7-15)

索引用語 肺癌 , 肺胞上皮癌 , 乳頭状腺癌 , k-ras 遺伝子変異 , 血管内皮増殖因子

Clinicopathological Differences Between Bronchioloalveolar Carcinoma and Papillary Adenocarcinoma of the Lung

Yasufumi Hayashi¹

ABSTRACT **Objective.** With respect to the classification of papillary adenocarcinoma, there is a slight difference in the handling of bronchioloalveolar carcinoma (BAC) between the WHO (IASLC) and the Japanese Lung Cancer Society. We therefore evaluated cases diagnosed as papillary adenocarcinoma and BAC clinicopathologically to determine which classification is appropriate. **Subjects and Methods.** Among all the lung cancers resected from 1987 to 1995, the 183 cases diagnosed as papillary adenocarcinoma or BAC were included in this study. These cases were classified

¹ 横浜市立大学医学部外科学第 1 講座 .

別刷請求先 : 林 康史 , 横浜市立大学第 1 外科 , 〒036-0004 神奈川県横浜市金沢区福浦 3-9 (e-mail:yhayashi@med.yokohama-cu.ac.jp) .

¹First Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine, Japan.

Reprints: Yasufumi Hayashi, First Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 236-0004, Japan (e-mail: yhayashi@med.yokohama-cu.ac.jp)

Received November 15, 2001; accepted December 27, 2001.

© 2002 The Japan Lung Cancer Society

by histological findings into 3 groups, namely, specimens showing only a BAC pattern (BAC group), specimens showing a BAC pattern in the marginal region of the tumor and papillary adenocarcinoma pattern in the center of the tumor (PB group) and specimens showing only a pattern of papillary adenocarcinoma without any BAC pattern in the marginal region of the tumor (PA group). Among these 3 groups, clinical findings (age, sex, smoking history), pathological findings (p-TN factor, p-stage, vascular invasion, lymphatic invasion, cancer cell subtype) as well as ki67 antigen expression, VEGF expression, p53 abnormal protein expression by immunohistochemistry and k-ras codon 12 mutation by RFLP-PCR were examined and compared. **Results.** The proportion of females was significantly higher in the BAC group than in the PB + PA group ($p = 0.008$) and significant differences in pT factor, pN factor and p-stage were found between the two groups. Pathologically, a significant difference in vascular invasion, lymphatic invasion and degree of differentiation were found. Significant differences in ki67 expression ($p = 0.002$) and VEGF expression ($p = 0.029$) and k-ras mutation ($p = 0.022$) were also recognized. When the findings were compared between the PB group and PA group, a significant difference was found only in p-stage, and no significant difference in other factors was found clinically or pathologically. In comparison of the 5-year survival rate and freedom from recurrence, prognosis was significantly better in the BAC group than in the PB + PA group, but there was no difference between the PB group and PA group. **Conclusion.** When we investigate cancer cell subtypes, there may be a difference between the PB group and PA group embryologically. Based on the present results, patients in the PB group and the PA group appears equivalent clinically and pathologically. The above differences, including resulted surgery, were found clinically and pathologically between the BAC group and the PB + PA group. At present, it seems reasonable from a clinical view point that a carcinoma that proliferates and replaces alveolar epithelium, but does not infiltrate interstitially, should be defined as BAC and all others as papillary adenocarcinoma. (*JJLC*. 2002;42:7-15)

KEY WORDS Lung cancer, Bronchioloalveolar carcinoma (BAC), Papillary adenocarcinoma, Mutation of k-ras gene, Vascular endothelial growth factor

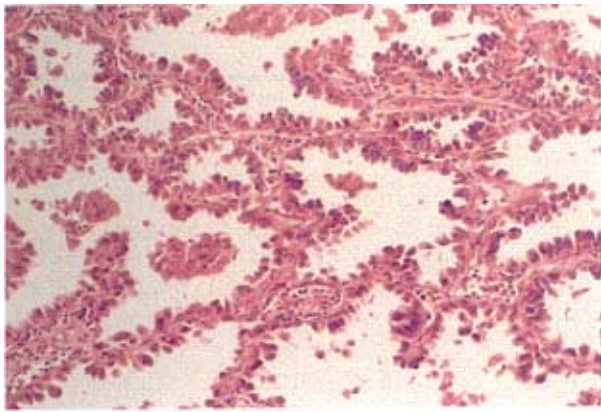
目 的

1998 年の World Health Organization (WHO) と International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) の肺腺癌の分類によると, adenocarcinoma は 1. acinar, 2. papillary, 3. bronchioloalveolar carcinoma, 4. solid adenocarcinoma with mucin formation, 5. adenocarcinoma with mixed subtypes, 6. variants に分けられている。この WHO 新分類によると, papillary adenocarcinoma とは, 腫瘍細胞が肺胞上皮を置換し乳頭状の増殖を示し固有の間質を伴い肺実質に浸潤しているものと定義され, 一方 bronchioloalveolar carcinoma とは, 純粋に肺胞上皮置換性のみ増殖し, 肺胞中隔の肥厚はあっても間質浸潤や脈管および胸膜浸潤を認めないものと定義している。WHO の分類では上記のように papillary adenocarcinoma と bronchioloalveolar carcinoma (以下 BAC) を区別しているが, 一方, 日本肺癌学会の分類では乳頭型 (papillary type) の一型として細気管支肺泡型 (bronchioloalveolar type) を扱っており, その鑑別の困難なものは乳頭型として扱うことにしている。² さらに, 細気管支肺泡型は, 既存の肺胞上皮を置換して増殖し, その壁に対して著しい破壊を示さず, 腫瘍の間質が肺胞壁の血管と少量の結合織から成っているもの, と定義されてい

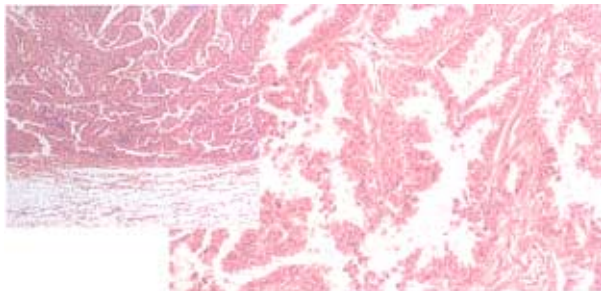
るが, WHO 新分類に比較すると間質浸潤や増殖の程度についての診断基準が曖昧である。一方, 肺乳頭状腺癌の実際の切除標本を観察すると, 腫瘍中心部には線維化を伴う乳頭状腺癌が認められ周辺部には BAC の像が認められる症例が最も多い。

papillary adenocarcinoma の発生については, 既存の肺胞中隔を間質として肺胞上皮細胞置換性に癌細胞が増殖し, 間質浸潤を起こし線維化を伴ってくるといった BAC の進行した一つの形態として papillary adenocarcinoma が存在するという考え方と, 癌細胞発生の初期より乳頭状の形態をとり固有の間質を形成しつつ周囲肺組織を圧排性, 破壊性に増殖していくという二つの考え方があると思われる。実際に, その占める割合の多寡はあるが, 中心部に papillary adenocarcinoma を認め周辺部に BAC の像を認める腺癌は非常に多く, これは前者の考え方を支持すると思われる。一方, 野口らによれば, 腫瘍最大径 2 cm 以下の腺癌を検討すると少数例だが固有の間質を伴う papillary adenocarcinoma の存在が認められ, 野口らの分類によると type F として BAC (type A, B, C) と明確に区別している。³ これは後者の考え方を支持するものと思われる。

しかしながら現在まで papillary adenocarcinoma と BAC を臨床病理学的にあるいは発生学的に明確に区別



BAC



Papillary Adenocarcinoma

Figure 1. Bronchioloalveolar carcinoma (BAC)(H.E. \times 400). Papillary adenocarcinoma: only a pattern of papillary adenocarcinoma (right: H.E. \times 200) without any BAC pattern in the marginal region of the tumor (left: H.E. \times 40)

する根拠を示す報告はない。そこで今回はこれらを① WHO 新分類に基づいた BAC, ② BAC の像の混在する papillary adenocarcinoma, ③ ほとんどあるいは全く BAC の像の混在しない 'pure' papillary adenocarcinoma の 3 群に分けて臨床病理学的に比較検討し, BAC と papillary adenocarcinoma についての WHO 新分類の妥当性について, さらに papillary adenocarcinoma の中でいわゆる 'pure' papillary adenocarcinoma を分類すべきかどうかについて, 検討した。

対象および方法

横浜市立大学第 1 外科, 神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器外科, 神奈川県立がんセンター外科第 1 科 (呼吸器外科) における 1988 年から 1995 年までの原発性肺癌切除症例のうち, 183 例の BAC あるいは papillary adenocarcinoma 症例を対象とした。

これらを以下のように定義し 3 群に分類した。BAC とは, 腫瘍細胞が肺上皮置換性にのみ増殖し間質浸潤を伴わないもの (Figure 1) とし, papillary adenocarcinoma とは, 腫瘍の大部分で腫瘍細胞が乳頭状増殖を示

し(いわゆる micropapillary pattern を有し), 固有の間質と思われる間質の増生を認めるもの (Figure 1) とした。そして, 腫瘍全体で BAC の像のみ示すもの (以下 BAC 群), 腫瘍中心部では papillary adenocarcinoma の像を呈し辺縁部には BAC の像を呈するもの (PB 群), 腫瘍全体が papillary adenocarcinoma の像を呈し, 辺縁部にも BAC の像を全く認めないもの (PA 群) の 3 群に分けて検討した。また, PB 群については, 中心部の乳頭状腺癌の部分と周囲の BAC の像の部分の割合は問わないこととした。各群の症例数は, BAC 群 33 例, PB 群 134 例, PA 群 16 例であった。尚, 以上の分類に際しては HE 標本を病理医 2 名が検鏡し決定した。

これらの症例の臨床像 (年齢, 性別, 喫煙歴, 最大腫瘍径, 再発の有無, 予後), 術後病理因子 (分化度, pT 因子, pN 因子, 術後病理病期, 血管侵襲, リンパ管侵襲, 細胞壟型) を検討し, 一部の症例に flow cytometry による DNA ploidy pattern を測定した。更に腫瘍増殖能として ki67 を, 血管新生因子として VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) を, 遺伝子学的検索として p-53 および k-ras 遺伝子について検討した。

免疫組織化学染色

ホルマリン固定パラフィンブロック標本から作成した厚さ 4 μ m の切片を脱パラフィン処理し, p53 抗体 (anti-human p53 protein: DO-7: DACO Japan, Kyoto, Japan), MIB-1 抗体 (mouse monoclonal antibody MIB-1: DACO Japan, Kyoto, Japan), VEGF 抗体 (rabbit polyclonal anti-VEGF antibody: Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) を用いて the biotin-streptavidin method (LSAB 法) にて染色した (dilutions: DO-7 1:100, MIB-1 1:10, VEGF 1:200 0.01MPBS)。

それぞれ癌細胞を 800 ~ 1000 個観察し, labeling index を計算した。DO-7 は腫瘍細胞核の陽性核を 20% 以上認めた症例を, MIB-1 は腫瘍細胞核の陽性核を 40% 以上認めた症例を, VEGF は腫瘍細胞胞体の陽性細胞を 50% 以上認めた症例を高発現群とし, これら未満の症例を低発現群とした。

Polymerase chain reaction

Oshima らの方法に準じて k-ras codon12 変異を RFLP (restriction fragment length polymorphism) PCR 法にて検索した。ホルマリン固定パラフィン包埋標本より, 厚さ 4 μ m あるいは 8 μ m の切片を 3 ~ 5 枚作成し, 癌部を surgical knife にて剥離, 増幅は Gold Taq DNA polymerase (Perkin-Elmer Cetus) を用い, 2 回 PCR を行った (1st PCR プライマー: 5'-GGCCTGCTGAAAATGACTGA-3', 5'-CGTATAATGACCACGTCCTG-3', 94 1分, 57 1分, 72 1分: 40 サイクル) (2nd PCR プライマー: 5'-AAACTTGTGGTAGTTGGACCT-3', 5'-AGGTTGTTACTCCATTTAG-3', 94 1分, 55 1分, 72 1分: 40

Table 1. Patient characteristics

n	BAC 33	PB 134	PA 16	
Age mean(range)	62.91 (38-78)	62.85 (42-83)	61.06 (45-79)	
Gender				
Male	9	71	8	*
Female	24	63	8	
Cigarette smoking				
(+)	12	59	10	
(-)	21	75	6	
Tumor size(mm)	22.15 (6-44)	30.77 (10-120)	32.00 (18-67)	* , †
pT status				
T1	29	57	4	* , †
T2	4	46	5	
T3	0	17	2	
T4	0	14	5	
pN status				
N0	31	87	10	* , †
N1	1	12	2	
N2	1	33	3	
N3	0	2	1	
p-stage				
I	31	71	7	* , † , ‡
II	1	19	3	
III	1	41	3	
IV	0	3	3	
Recurrence				
(-)	32	77	8	* , †
(+)	1	57	8	

* p < 0.05 (BAC vs PB).

† p < 0.05 (BAC vs PA).

‡ p < 0.05 (PB vs PA).

サイクル). 得られた PCR 産物 (8 μ l) と制限酵素 Mva I 10u (1 μ l) を 37 , 5 時間反応させ , ポリアクリルアミドゲルで電気泳動した . また , negative control として template を入れないものを , normal control としてヒト胎盤組織を , positive control としてヒト肺癌細胞株 A549 を使用した . 以上の方法で restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis を行った . k-ras mutation のあるものは 106bp にバンドが出現し , mutation の無いものは 86bp のみにバンドを認めた .

統計学的分析

各群間の各項目の症例数については , χ^2 検定を用い , 数値については Fisher の *t* 検定を用い , p < 0.05 をもって有意とした . 予後については全症例を 5 年以上追跡し , 生存率は Kaplan-Meier 法にて計算し , 有意差検定は Logrank test を用い , p < 0.05 をもって有意とした .

Table 2. Pathological and immunohistochemical and PCR findings

n (%)	BAC 33	PB 134	PA 16	
venous invasion				
(-)	33 (100)	66 (49.3)	7 (43.7)	* , †
(+)	0 (0)	68 (50.7)	9 (56.3)	
lymphatic invasion				
(-)	33 (100)	72 (53.7)	10 (62.5)	* , †
(+)	0 (0)	62 (46.3)	6 (37.5)	
subtype				
BSE	2 (6.1)	31 (23.1)	5 (31.2)	
G	2 (6.1)	9 (6.7)	1 (6.2)	
BG	0	2 (1.5)	0	*
C	14 (42.4)	55 (41.1)	7 (43.8)	
T-II	14 (42.4)	24 (17.9)	3 (18.8)	
mixed	1 (3.0)	13 (9.7)	0	
ki67				
low	30 (90.1)	82 (61.2)	12 (75.0)	*
high	3 (9.9)	52 (38.8)	4 (25.0)	
VEGF				
low	21 (63.6)	55 (41.0)	9 (56.3)	*
high	12 (36.4)	79 (59.0)	7 (43.7)	
p53				
low	28 (84.8)	97 (72.4)	8 (50.0)	†
high	5 (15.2)	37 (27.6)	8 (50.0)	
codon 12 of k-ras gene mutation				
normal	14 (43.8)	83 (68.0)	7 (46.7)	*
mutation	18 (56.2)	39 (32.0)	8 (53.3)	
no templates	1	12	1	

BSE indicates bronchial surface epithelial cell type; G, goblet cell type; BG, bronchial gland cell type; C, Clara cell type; T-II, Type II alveolar epithelial cell type; and mixed, mixed cell type.

* p < 0.05 (BAC vs PB).

† p < 0.05 (BAC vs PA).

‡ p < 0.05 (PB vs PA).

結果

臨床因子

臨床的特徴は Table 1 のごとくで , 年齢には 3 群間で差はなかったが , 性別では女性が BAC 群 24 例 72.7% , PB 群 63 例 47.4% , PA 群 8 例 50% を占め , BAC 群と PB 群を比較すると BAC 群では女性の占める割合が有意に高かった (p = 0.008) . 原発肺葉の分布は各群ともほぼ同様の傾向であり , 術式も BAC 群には肺葉切除 38 例 , 区域切除 3 例 , 部分切除 1 例 , PB 群には肺全摘 4 例 , 肺葉切除 127 例 , 区域切除 1 例 , 部分切除 2 例 , PA 群には肺全摘 1 例 , 肺葉切除 13 例 , 部分切除 2 例で各群間に差はなく , 大部分の症例に肺葉切除術以上の肺切除が行われた . 以上 , 性別を除き臨床歴には各群間の差は認められなかった .

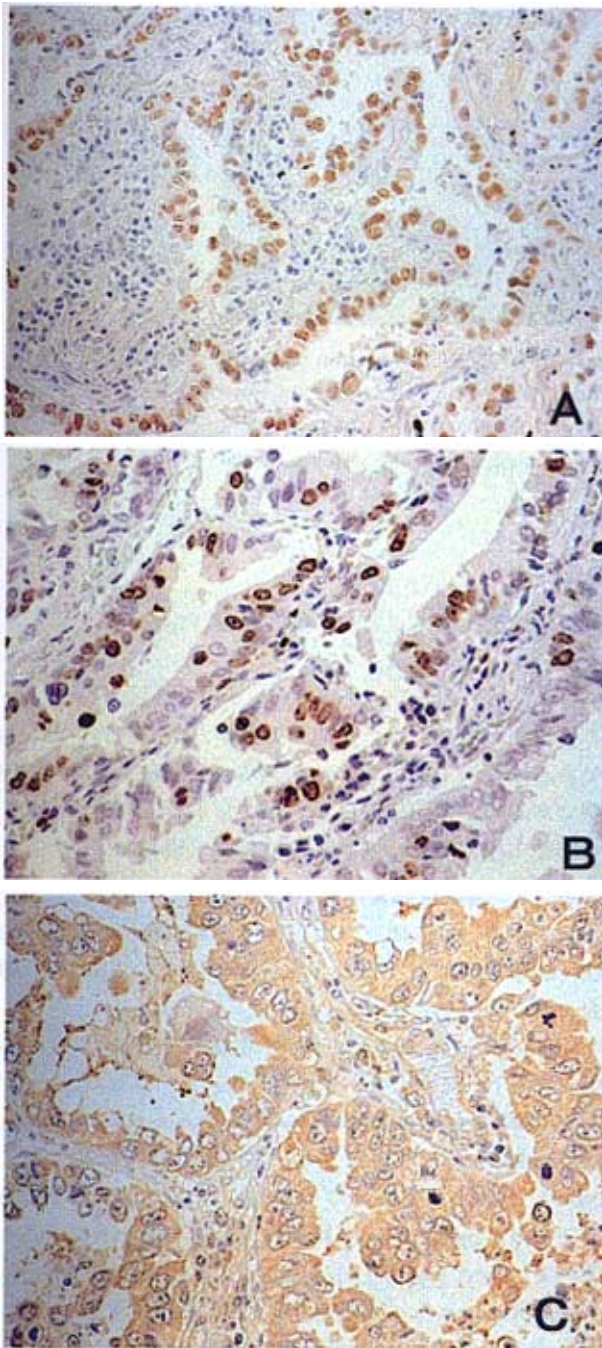


Figure 2. Immunohistochemical staining of papillary adenocarcinomas (PB group) with anti-human p53 protein (DO-7) (A) MIB-1 (B) and anti-VEGF antibody (C)

病理学的因子 (Table 1, Table 2)

術後病理学的因子では、腫瘍径についてはBAC群はPB群 ($p = 0.001$)、PA群 ($p = 0.008$)より有意に腫瘍径は小さかった。PB群とPA群には有意差は認められなかった。pT因子については、BAC群では他の2群に比較しT1症例が有意に多くみられた。pN因子については、BAC群ではPB群 ($p = 0.012$)、PA群 ($p = 0.043$)に比較

し有意にN(-)例が多かった。

WHO新分類に基づきBAC群の定義として脈管侵襲を認めないものとしたのでBAC群には血管侵襲及びリンパ管侵襲は認めない。PB群とPA群を比較すると、血管侵襲陽性例はPB群68例50.7%、PA群9例56.3%で、リンパ管侵襲陽性例はPB群62例46.3%、PA群6例37.5%で、血管侵襲及びリンパ管侵襲ともに両群間に有意差は認められなかった。

下里の分類による細胞型⁵では、BAC群ではクララ細胞型(14例42.4%)、II型肺胞上皮細胞型(14例42.4%)が多くを占め、杯細胞型は2例(6.1%)のみであった。PB群とPA群はほぼ同様の傾向で、クララ細胞型が多く次いで気管支表面上皮細胞型、II型肺胞上皮細胞型が続いている。BAC群とPB群に有意差を認めた ($p = 0.025$)が、BAC群とPA群、PB群とPA群間には差を認めなかった。

flow cytometryによるDNA ploidy patternの測定を、BAC群11例、PB群23例、PA群9例に行った。BAC群ではdiploidy pattern 1例、aneuploidy pattern 10例、PB群ではdiploidy pattern 4例、aneuploidy pattern 19例、PA群ではdiploidy patternはなく、aneuploidy pattern 9例に認めた。いずれも全例あるいはほとんどの症例がaneuploidy patternを示し、3群間での差は認めなかった。

免疫組織化学検索 (Figure 2) (Table 2)

腫瘍増殖能を示すki67高発現例は、全体で183例中59例(32.2%)で認めた。BAC群ではPB群に比較し有意に高発現例は少なかった ($p = 0.001$)。

血管新生能を表すと考えられるVEGF高発現例は全体で183例中98例(53.67%)であった。BAC群はPB群に比較し有意に高発現例が少なかった ($p = 0.020$)。またPB群とPA群では差は認められなかった。

p53異常蛋白の高発現例は、全体で183例中50例(27.3%)であった。高発現例の割合は、BAC群とPB群間には差を認めなかったが、PA群はBAC群に比較し有意に高発現例の割合が高く、またPB群と比較して高発現例の割合が高い傾向にあった。

k-ras codon 12点突然変異 (Figure 3)

k-ras遺伝子codon 12点突然変異は、DNAの保存不良のため抽出できなかった症例が14例(BAC群1例、PB群12例、PA群1例)あった。全体では抽出できた169例中65例、38.5%にmutationを認めた。BAC群ではPB群に比較しmutationを認めた症例が有意に多かった ($p = 0.011$)が、BAC群とPA群 ($p = 0.851$)、PB群とPA群 ($p = 0.100$)間には有意差は認められなかった。

再発および予後

再発例は、BAC群1例(3.0%)、PB群57例(42.5%)、PA群8例(50%)で、BAC群に比較しPB群、PA群に

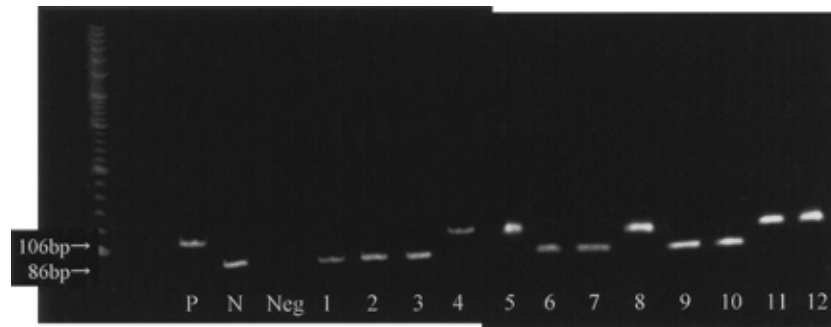


Figure 3. Mutation of codon 12 of k-ras gene (RFLP-PCR). Restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction (RFLP-PCR) findings: P; positive control(A547), N; normal control(placenta), Neg; negative control(no template), number 1, 2, 3, 6, 7, 9, 10; no mutation (86bp) number 4, 5, 8, 11, 12; mutation (106 bp)

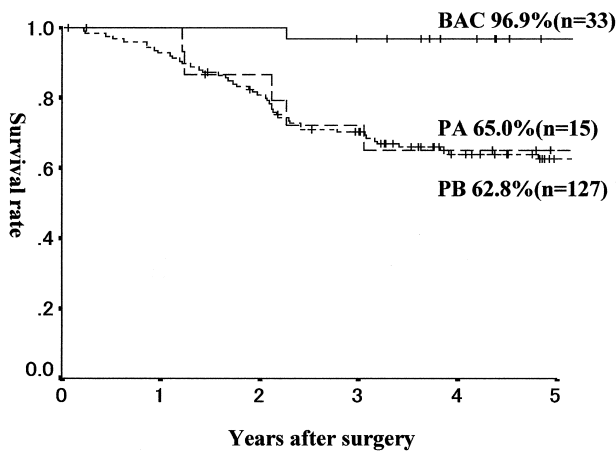


Figure 4. Overall Survival

有意に再発率が高かった (Table 1) .

他病死例を除く Kaplan-Meier 法による 5 年生存率 (Figure 4) は BAC 群 96.9% , PB 群 62.8% , PA 群 65.0% で , BAC 群は PB 群 , PA 群に比較し有意に予後良好であった (BAC 群 vs PB 群 : $p = 0.003$, BAC 群 vs PA 群 : $p = 0.002$) が , PB 群と PA 群の間には有意差は認めなかった ($p = 0.79$) . BAC 群の原病死例 (1 例) は , 腫瘍径 44 mm (BAC 群中最大) pN2 の症例であった . 全症例の p-stage による 5 年生存率は , I 期 85.6% ($n = 114$) , II 期 53.6% ($n = 24$) , III 期 23.6% ($n = 48$) で IV 期 ($n = 6$) では 5 年生存率は認めなかった . その他 T 因子 , N 因子 , リンパ管侵襲 , 血管侵襲 , および p53 , ki67 , VEGF 免疫組織化学染色 , k-ras 点突然変異の有無による多変量解析を Cox 比例ハザードモデルにより行くと , pT 因子 ($p = 0.023$) , pN 因子 ($p < 0.001$) 以外に , p53 異常蛋白発現の有無 ($p = 0.023$) , VEGF 発現 ($p = 0.017$) が独立した予

後規定因子となることが示唆された (Table 4) .

考 察

肺腺癌の中で , BAC が他の組織型と全く独立したものであるのか , それとも papillary adenocarcinoma の一亜型であるのかは明確ではない ⁶⁻¹¹ しかし , 下里は , BAC を肺胞上皮置換性に増殖し線維化巣 (癥痕) はほとんどみられず , 線維性間質傾向の小さい腫瘍と定義し , 一方 , 乳頭状腺癌とは , 固有の間質を伴って周囲肺組織を圧排性 , 破壊性に増殖するもの定義している ⁵ WHO 新分類もこの考え方を踏襲している .

Noguchi らは , 2 cm 以下の小型肺癌を検討し , 6 つの type に分け , この中で , type F として症例数は少ないが固有の間質を持ち乳頭状に増殖するものを papillary adenocarcinoma と定義している . また予後の点から , type A と type B はいわゆる in situ の末梢腺癌で予後良好であり , type D , E , F は進行腺癌で予後不良であると述べている ³

Higashiyama らは同様に 2 cm 以下の小型末梢腺癌を , 腫瘍中の BAC の占める割合で 4 つの type に分けて検討している . (type I: the BAC component comprised 0% , type II: 1-49% , type III: 50-99% , type IV: 100%) この結果 , type I および type II は他の 2 type に比較してより進行しており予後も不良で , type IV は全例リンパ節転移は認めず予後良好であったと報告している . しかし BAC 以外の組織所見については言及していない ¹² 今回の研究では , Noguchi らの分類³ によれば type A , B が BAC 群に , type F が PA 群にあたる . PB 群の中での BAC 成分の多寡によっては分けなかったが , Higashiyama らの分類¹² によれば , type IV が BAC 群に相当し , type I の中に PA 群が含まれると思われる .

腫瘍径では BAC 群は PB 群 , PA 群に比較し有意に腫

Table 3. Patient characteristics of the BAC group and PB + PA group

n (%)	BAC 33	PB + PA 150	p
Age mean(range)	62.91 (38-78)	62.56 (42-83)	0.225
Gender			
Male	9	79	0.008
Female	24	71	
Cigarette smoking			
(+)	12	69	0.313
(-)	21	81	
Tumor size(mm)	22.15 (6-44)	30.90 (10-120)	0.001
subtype			
BSE	2(6.1)	3(2.0)	
G	2(6.1)	10(6.7)	
BG	0	2(1.3)	0.024
C	14(42.4)	62(41.3)	
T-II	14(42.4)	27(18.0)	
mixed	1(3.0)	13(8.7)	
ki67			
low	30(90.1)	94(62.7)	0.002
high	3(9.9)	56(37.3)	
VEGF			
low	21(63.6)	64(42.7)	0.029
high	12(36.4)	86(57.3)	
p53			
low	28(84.8)	105(70.0)	0.065
high	5(15.2)	45(30.0)	
codon 12 of k-ras gene mutation			
normal	14(43.8)	90(65.7)	0.022
mutation	18(56.2)	47(34.3)	
no templates	1	13	

瘍径は小さかったが、注目すべきは、BAC 群の中にも腫瘍径の大きなものを、PA 群の中にも腫瘍径の小さいものを認めたことである。特に腫瘍径が小さくても固有の間質を有し顕著な乳頭状増殖を示す乳頭状腺癌がみられたことは下里⁵や野口³の報告と同様であった。

papillary adenocarcinoma については、Salisbury らが 1986 年 papillary adenocarcinoma の特徴として、乳頭状増殖、砂粒小体の出現、核異型を挙げているが、明らかな定義はなされていない。¹³ Silver らは 2 枝、3 枝の分枝をもつ乳頭構造が腫瘍の 75% 以上を占めるものを papillary adenocarcinoma と定義してこれら 31 例を検討しているが、¹⁴ この中には 18 例、58% に腫瘍辺縁部に BAC の像を認めている症例を含んでいる。これら 31 例を検討すると、核異型を 100% に認めた他、micropapillary pattern を 74% に、砂粒小体を 42% に、間質へのリンパ球浸潤を 42% に認めたとして、これらを papillary adeno-

Table 4. Multivariate analysis

	Hazard ratio	95% C.I.	p value
p-T status	1.372	1.045-1.801	0.023
p-N status	1.965	1.394-2.772	0.000
ly	1.978	0.910-4.301	0.085
v	2.035	0.920-4.504	0.080
ki67	0.736	0.360-1.506	0.401
VEGF	2.407	1.154-4.260	0.017
p53	2.520	1.105-3.743	0.023
k-ras	0.605	0.322-1.136	0.118

carcinoma の特徴としている。

また、Unterman ら¹⁵ は、剖検の標本から乳頭状腺癌の特徴として、顕著な乳頭状構造、砂粒小体、核異型としばしばみられるリンパ管侵襲を挙げている。今回の検討では、micropapillary pattern は PA 群の定義としたので 100% に認められた。しかし砂粒小体は BAC 群の 20%、PB 群の 10.5%、PA 群の 23.1% に認められ、各群間の出現頻度に有意差を認めなかった。リンパ管侵襲および血管侵襲については BAC 群はこれらを認めないものと定義したが、PB 群と PA 群の間には有意差は認められなかった。

細胞亜型について、下里は、BAC は主としてクララ細胞、II 型肺胞上皮細胞、あるいは杯細胞であり、乳頭状腺癌は、表面上皮細胞型であると述べている。⁵ われわれの検討では、確かに BAC 群にはクララ細胞型と II 型肺胞上皮細胞型の比率が高く、PA 群には表面上皮細胞型の比率が高かったが、クララ細胞型が最も多く、必ずしも全てが下里の細胞亜型に当てはまるわけではなかった。

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) は、腫瘍の血管新生に関連した重要な因子の一つと考えられており、腫瘍内の微小血管密度と VEGF は正の相関を示している。¹⁶ また VEGF 高発現例は低発現例に比較し予後不良であった、とする報告が多い。¹⁶ われわれの検討でも VEGF 高発現例は (5 生率 57.6%, n = 98) に比較し VEGF 低発現例 (5 生率 76.1%, n = 85) 予後不良であった (p < 0.01)。VEGF 発現の比較では、BAC 群は PB 群に比較して有意に高発現例の頻度は低かったが、BAC 群と PA 群間では有意差は認められなかった。

ki67 抗原は MIB-1 抗体により表すことができ細胞増殖の指標の一つとされている。¹⁷ BAC 群では PB 群に比較し有意に低発現例が多く、腫瘍細胞の増殖能が BAC 群においては低いと考えられる。しかし、VEGF 発現と同様に BAC 群と PA 群間では有意差は認められなかった。BAC 群には血管侵襲やリンパ管侵襲がないことに関連していると考えられる。臨床的には肺癌、¹⁸ 腎癌¹⁹ などにおいて、ki67 抗原高発現群は予後不良であるとの報告が

みられ、今回のわれわれの検討でも、ki67 低発現群（5 年生存率 74.6% , n = 124）は高発現群（48.5% , n = 59）と比較し有意に予後良好であった（ $p = 0.024$ ）。

p53 は、肺癌では非小細胞肺癌の約半数、小細胞肺癌の約 80% に異常が認められている²⁰ 今回の検討では、PA 群では BAC 群より有意に高発現例が多く、PB 群より多い傾向にあった。予後との関係では、p53 の異常が予後不良因子とするものが多いが、逆の報告もみられ一定した見解が得られていない^{21,22} これは免疫組織化学的検索や SSCP-PCR 法など測定方法の違いにも依っていると考えられる。われわれの検討では p53 異常蛋白高発現群（5 年生存率 54.0% , n = 50）は低発現群（5 年生存率 70.5% , n = 133）と比較し有意に予後不良であった（ $p < 0.05$ ）。

ras 遺伝子は、肺癌においては k-ras codon 12 に点突然変異が起こって活性化されることが多く、これは他の組織型に比較し腺癌に多くみられる^{23,24} 腺癌に多く認められる k-ras codon 12 の突然変異発現が BAC と papillary adenocarcinoma との区別に有用であるかを検討した。k-ras codon 12 の突然変異発現を認めた症例は、BAC 群と PA 群には差がみられなかったが、これら 2 群に比較し PB 群では有意に頻度は低かった。予後については、再発例は無再発例に比較し k-ras 点突然変異を認めた症例が有意に多く、5 年生存率を比較すると、k-ras 点突然変異を認めた症例（ $n = 65$, 5 年生存率 60.3%）は認めなかった症例（ $n = 104$, 5 年生存率 76.0%）に比較し明らかに予後不良であった（ $p < 0.05$ ）。

さて、これら 3 群を臨床的あるいは病理学的にどのように分類することが妥当であろうか？WHO 新分類の妥当性を検討するために BAC 群と PB + PA 群に分けると（Table 3）、臨床的には性別で BAC 群に有意に女性が多く、pT 因子、pN 因子、p-stage でも両者間に有意差を認めた。また、病理学的にも間質への浸潤は比較的容易に判別でき、今回検討した ki67 発現、VEGF 発現、k-ras mutation の発現において有意差を認めた。一方、PB 群と PA 群を比較すると（Table 1, Table 2）、p-stage のみに有意差を認め、その他の因子においては臨床病理学的に有意差は認められなかった。また予後においても同様で、5 年生存率を比較すると BAC 群は他の 2 群に比較し有意に予後良好であったが、PB 群と PA 群には差を認めなかった（Figure 4）。細胞型などから考慮すると発生学的には PB 群と PA 群間には相違があるかもしれないが、今回の検討からは臨床的にも病理学的にも PB 群と PA 群を区別することは困難であった。

従って、BAC を独立させた WHO 新分類は妥当であり、現時点では、BAC は肺胞上皮置換性のみ増殖し間質浸潤を認めないものと定義し、その他乳頭状増殖を呈するものは全て papillary adenocarcinoma として両者を区別することが臨床上合理的であると結論する。

尚、本論文の要旨は第 42 回日本肺癌学会総会において発表した。

謝辞：稿を終えるにあたり、本論文をご校閲下さいました横浜市立大学医学部第 1 外科学講座高梨吉則教授、および直接ご指導を賜りました横浜市立大学医学部付属病院病理部中谷行雄博士に感謝いたします。また、検体を快くご提供していただいた神奈川県立がんセンター病理部亀田陽一博士、および神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器外科小川伸郎博士に深謝いたします。

REFERENCES

1. Travis WD, Colby TV, Corrin B, et al. *World Health Organization International Histological Classification of Tumours: Histological Typing of Lung and Pleural Tumours*. 3rd ed. Washington, DC: Springer;1998.
2. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌取り扱い規約. 改訂第 5 版. 東京: 金原出版; 1998.
3. Noguchi M, Morikawa A, Kawasaki M, et al. Small adenocarcinoma of lung: histological characteristics and prognosis. *Cancer*. 1995;75:2844-2852.
4. Ohshima S, Shimizu Y, Takahama M. Detection of c-Ki-ras gene mutation in paraffin sections of adenocarcinoma and atypical bronchioloalveolar cell hyperplasia of human lung. *Virchows Archiv*. 1995;424:129-134.
5. 下里幸雄. 肺腺癌の亜分類. 病理と臨床. 1996;14:154-160.
6. Carter D, Eggleston JC. *Tumors of the Lower Respiratory Tract*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology;1980:113-147. Atlas of Tumor Pathology, 2nd series, fasc 17.
7. Colby TV, Koss MN, Travis WD. *Tumors of the Lower Respiratory Tract*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology;1994:179-234. Atlas of Tumor Pathology, 3rd series, fasc 13.
8. Dail DH, Hammer SP, eds. *Pulmonary Pathology*. 2nd ed. New York: Springer-Verlag;1994:1123-1278
9. Koss LG, Woyke S, Olszewski W. *Aspiration Biopsy: Cytologic Interpretation and Histologic Bases*. New York: Igaku-Shoin;1992:461-532.
10. Saldana MJ, ed. *Pathology of Pulmonary Disease*. Philadelphia: JB Lippincott;1994:523-544.
11. Thurlbeck WT, Churg AM, eds. *Pathology of the Lung*. 2nd ed. New York: Theime Medical Publishers, Inc;1995: 437-551.
12. Higashiyama M, Kodama K, Yokouchi H, et al. Prognostic value of bronchiolo-alveolar carcinoma component of small lung adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg*. 1999;68: 2069-2073.
13. Salisbury JR, Darby AJ, Whimster WF. Papillary adenocarcinoma of lung with psammoma bodies: report of a case derived from type II pneumocytes. *Histopathology*. 1986;10:877-884.
14. Silver SA, Askin FB. True papillary carcinoma of the lung (a distinct clinicopathologic entity). *Am J Surg Pathol*. 1997;21:43-51.
15. Unterman DH, Rengold IM. The occurrence of psam-

- moma bodies in papillary adenocarcinoma of the lung. *Am J Clin Pathol.* 1972;57:297-302.
- 16 . Pezzella F, Pastorino U, Tagliabue E, et al. Non-small cell lung carcinoma tumor growth without morphological evidence of neo-angiogenesis. *Am J Pathol.* 1997;151:1417-1423.
 - 17 . Gerdes J, Lemke H, Baish H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol.* 1983; 133:1710-1715.
 - 18 . Harpole DJ, Richards WG, Herndon JS, et al. Angiogenesis and molecular biologic substaging in patients with stage Inon-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 1996;61:1470-1476.
 - 19 . Haitel A, Wiener HG, Migschitz B, et al. Proliferating cell nuclear antigen and MIB-1; an alternative to classic prognostic indicators in renal cell carcinomas ? *Am J Clin Pathol.* 1996;107:229-235.
 - 20 . Minna JD. The molecular biology of lung cancer pathogenesis. *Chest.* 1993;103:445S-456S.
 - 21 . Mitsudomi T, Oyama T, Nishida K, et al. p53 nuclear immunostaining and gene mutations in non-small cell lung cancer and their effect on patients survival. *Ann Oncol.* 1995;10:S9-S13.
 - 22 . Lee JS, Yoon A, Kalapurakal SK, et al. Expression of p53 oncoprotein in non-small cell lung cancer: a favorable prognostic factor. *J Clin Oncol.* 1995;13:1893-1903.
 - 23 . Rodenhuis S, Slebos RJ. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res.* 1992; 52(suppl)2665s-2669s.
 - 24 . Carbone D, Minna J. Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in the pathogenesis of lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1990;2:225-232.