

# ヌードマウスにおけるヒト胃、食道 Alpha-fetoprotein 産生腺癌の生物学的特性に関する研究

奈良県立医科大学第1外科学教室

西和田 敬

## STUDIES ON TRANSPLANTABLE HUMAN ALPHA-FETOPROTEIN- PRODUCING ESOPHAGEAL AND GASTRIC ADENOCARCINOMA IN NUDE MICE

TAKASHI NISHIWADA

*1st Department of Surgery, Nara Medical University*

Received July 28, 1989

*Summary*: Six alpha-fetoprotein (AFP)-producing human adenocarcinomas, five gastric carcinomas and one esophageal carcinoma, were transplanted into BALB/c-nu/nu nude mice, and their transplantabilities and liver metastatic potentials were examined. The gastric carcinomas consisted of two poorly differentiated adenocarcinomas and three tubular adenocarcinomas. All the six carcinomas were taken into the subcutaneous space of nude mice and were serially transplanted, with their transplantabilities being 100%. The doubling time of the transplanted tumor ranged from 6.5 to 11.2 days. A positive correlation was observed in the transplanted tumors between the growth rate and the plasma AFP level. The liver metastatic potential was examined by intrasplenic (i.s.) transplantation of cell suspensions of the transplanted tumors in nude mice, all the six tumors producing metastatic nodules in the liver. In contrast, the transplantability of AFP non-producing human gastric adenocarcinomas in nude mice was 50% (70 out of 140 tumors), and only 5 out of 11 transplanted tumors produced metastatic liver nodules by i. s. transplantation in nude mice.

The present results suggested a higher malignant potential of AFP-producing adenocarcinomas than AFP-non producing ones.

### Index Terms

AFP-producing adenocarcinoma, nude mouse, intrasplenic transplantation, liver metastatic potential

### 1. 緒 言

近年、悪性腫瘍に対するさまざまな腫瘍マーカーが発見され、癌の鑑別診断、再発の発見、および治療効果の判定の手段などに用いられている。中でも1964年に Tatarinov<sup>1)</sup>によって胎児や原発性肝癌の患者血清中に

発見された Alpha-fetoprotein (AFP) は、原発性肝癌や卵黄嚢癌の特異的診断法として用いられてきた。しかし最近、このような疾患以外の患者血清中にも正常範囲を越える AFP が検出されることが明らかとなり<sup>2)</sup>、特に AFP 産生胃癌に関する多くの報告がなされている<sup>3)-8)</sup>。これらの報告において、AFP 産生胃癌は肝転移

を伴っている症例が多くその予後も不良であると述べられている。しかし AFP 産生癌の転移能を含む悪性度に関しての実験的検討は、充分には行なわれていない。

ヌードマウスを用いたヒト癌の移植実験は、1969年、Rygaard ら<sup>9)</sup> が成功して以来、ヒト腫瘍細胞の *in vivo* における培養系と解釈され注目されてきた。ヌードマウスに移植された腫瘍は、形態と機能をよく保持し、染色性や抗原性も変化しないとされている<sup>10-14)</sup>。そこで AFP 産生腫瘍のヌードマウスの移植系を確立し、その産生能や転移能について検討することは、その生物学的特性の研究のために有用である。

本研究は胃癌 5 例、食道腺癌 1 例、計 6 例の AFP 産生腺癌をヌードマウスで皮下移植継代し、さらにその腫瘍細胞浮遊液の脾臓内移植を行い、生物学的特性につき検討を加え、若干の知見を得たのでここに報告する。

## II. 実験材料および方法

### A. 実験動物

ヌードマウスは、BALB/c A<sub>1</sub>cl-nu (日本クレア)、5 週令、雄を用いた。動物の飼育は、ヌードマウス飼育装置である CLEARTRON (田葉井製作所) 内でおこない、飼料は放射線滅菌した CL-2 固形飼料 (日本クレア) を、水は滅菌した純水を自由に摂取させた。

### B. 移植材料

移植材料は、1978 年 11 月より 1987 年 2 月の 8 年 3 ヶ月間に、奈良県立医科大第 1 外科および関連病院での開腹手術を受けた患者の内、術前および術後の血漿 AFP 値が高値であった 5 例の胃癌患者と 1 例の食道癌患者より得た。移植症例の癌の進行程度、肉眼的分類、組織型ならびに手術根治度の分類は胃癌取扱い規約 (改訂第 11 版)<sup>15)</sup> および食道癌取扱い規約 (改訂第 6 版)<sup>16)</sup> に準拠した。移植組織片の採取は、胃癌症例のうち 3 例は胃原発巣のみから、1 例は胃原発巣とリンパ節転移巣の両者から、1 例は胃原発巣、リンパ節転移巣および肝転移巣から行ない、食道癌症例はリンパ節のみから無菌的に行なった。

### C. 移植方法と生着および転移の判定

#### 1. 皮下移植方法および生着の判定

採取した腫瘍は Eagle 氏 MEM 溶液に浸漬し、クリーンベンチ内で 2 mm 角に細切し、2~3 個の細片を移植針を用いてヌードマウス背部両側皮下に移植した。移植に用いた腫瘍はすべて光学的顕微鏡にて検鏡し、癌細胞を確認した。

移植腫瘍の大きさは、移植後 1 週目より、週に 1 度ノギスを用いて長径 (mm) と短径 (mm) を計測し、長径と

短径の積が 100 mm<sup>2</sup> 前後に発育した時点で、マウスをエーテル麻酔下に屠殺し、皮下腫瘍を摘出した。腫瘍径が 100 mm<sup>2</sup> に達しないものについては 3 ヶ月以上観察した後、同様の方法で皮下腫瘍ないしは癒痕組織を摘出した。

生着の有無の判定は、摘出組織を病理組織学的に検討し、癌細胞を認めるものを生着、認めないものを非生着とした。

継代移植は皮下に発育した腫瘍を摘出し、初代移植と同様の方法でおこない、可能な限り継代移植を試みた。

#### 2. 脾臓内移植方法および転移の検索

ヌードマウス皮下移植腫瘍を摘出し 50 μg/ml のアミノグリコシド系抗生剤 (BIKLIN) を含有した Eagle 氏 MEM 溶液中でメスにて細切後、0.25 % トリプシン溶液内で 37°C にて 15 分間消化し、この溶液を 1000 rpm で 5 分間遠沈後、10 % 仔牛血清加 Eagle 氏 MEM 溶液にてトリプシンを除去してメッシュ (100 mesh/cm<sup>2</sup>) を通し、Eagle 氏 MEM 溶液で洗浄して腫瘍細胞浮遊液を作製した。浮遊液中の癌細胞は、トリパンブルー色素排除テストにて 90 % 以上生存していることを確認した。腫瘍細胞数は白血球算定板を用いて算出し 1 × 10<sup>6</sup> 個/0.2 ml に調製した。

脾臓内移植は、エーテル麻酔下にヌードマウスの左側腹部に約 1 cm の小切開を加えて開腹し、脾臓を露出させて直視下に脾下極より 0.2 ml (1 × 10<sup>6</sup> 個の細胞) の腫瘍細胞浮遊液を 21 ゲージ針で注射して行った。約 1 分後脾臓を摘出し、腹壁及び皮膚をそれぞれ 3 号絹糸にて縫合閉鎖した。脾臓内移植後 60~90 日後にマウスをエーテル麻酔下に屠殺して肉眼的に全臓器を検索した。肝転移巣については、肝を摘出後肝表面より肉眼的に転移結節数、および結節の長径と短径を計測した。また全肝湿重量も測定した。

#### D. 腫瘍の計測と倍增時間の算出

腫瘍重量倍增時間 (doubling time) は、週 1 回皮下腫瘍の大きさを長径と短径で計測し腫瘍重量を  $W = (a \times b^2) / 2$  ( $W$ : 重量,  $a$ : 長径,  $b$ : 短径) の式より概算し、腫瘍が指数関数的に増大するものとして、腫瘍重量の推定回帰直線を最小 2 乗法により求め、 $\ln 2 / (\text{傾き})$  の式より算出した<sup>17)</sup>。

#### E. 血漿 AFP 値の測定

皮下腫瘍の大きさと血漿 AFP 値の相関をみた実験においては、症例ごとに 3 匹のヌードマウスを用い、週 1 回経時的に腫瘍の大きさを計測し、同時に尾静脈から採血した。すなわちマウスの尾を切断し、尾静脈より流出する血液 0.05~0.1 ml をヘパリン処理したヘマトクリット管で採取し、遠沈 (10,000 rpm, 5 分間) により血漿を分

離し、スクロセップ AFP キット(スペシャル レファレンス ラボラトリー社製)を用いてサンドイッチ法<sup>18)</sup>により血漿 AFP 値を測定した。脾臓内移植の実験においても、前述した週1回の経時的な尾静脈よりの採血や屠殺時の採血により得た血漿を同様の方法にて測定した。

#### F. 病理組織学的検索および組織内 AFP の検索

摘出した原発および皮下腫瘍は10%ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋、薄切切片作製の後 Hematoxylin-Eosin 染色を施し、光学的顕微鏡下に観察した。

腫瘍組織内 AFP の検索は、原発腫瘍、各転移巣およびヌードマウス皮下継代腫瘍のパラフィン包埋資料より4 $\mu$ mの薄切切片を作製し、抗ヒトAFPウサギ血清(Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, New Jersey)を一次抗体とし、酵素抗体法(PAP法<sup>19)-23)</sup>, ORTHO Universal Immunoperoxidase Staining Kit (Ortho Diagnostic Systems Inc.)を用いておこなった。すなわち、脱パラフィン後、前述した薄切切片をH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を加えた無水エタノールにて内因性ペルオキシダーゼをブロックし、トリス緩衝液(TBS)で十分洗浄したのち、正常ヒツジ血清(室温, 40分)にて非特異反応を阻止した。前述の一次抗体と室温にて120分間反応させ、TBSで洗浄した。次いで二次抗体(抗ウサギ・ヒツジ血清)と室温にて60分間反応させ、TBSにて洗浄した。さらに標識抗体(peroxidase antiperoxidase complex)と室温にて40分間反応させたのち、TBSで洗浄し0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を含む0.05% 3,3'-diaminobenzidine $\cdot$ 4HCl(DAB)溶液と約1分間反応させ発色させた。流水で洗浄後、

Hematoxylinにて対比核染色をおこないキシレンにて封入し光学顕微鏡下に観察した。

### III. 成 績

#### A. 移植症例の臨床所見

本実験に用いたAFP産生腺癌はTable 1のごとく、胃癌5例および食道癌1例の計6例である。AFP産生胃癌症例5例(Case 1からCase 5)の内訳は、年齢は59歳から83歳、平均73歳であり50歳代1例、70歳代3例、80歳代1例であった。性別では、男性4例、女性1例と男性に多かった。進行度は、Stage IIIが1例、Stage IVが4例で全例が進行癌であった。肝転移は5例中、術中に2例、術後に2例、計4例に認められた。肉眼分類では、3型が3例と多く、2型、4型は各1例であった。組織型は、低分化腺癌が2例、管状腺癌が3例であった。血漿AFP値は4例において術前値が170 ng/mlから16300 ng/mlであり、Case 1は、術後再発時に93 ng/mlであった。手術根治度は、治癒切除2例、非治癒切除2例および非切除1例であった。転帰は5例中4例が1年以内に死亡し、残りの1例も術後2年で死亡した。

AFP産生食道癌(Case 6)は、胸部中部食道(Im)に発生した管状構造を持つ腺癌であり、原発巣は長径が4 cmと比較的小範囲であったが、周囲への浸潤や肝転移が、術前のCT検査にて観察されたため、バイパス手術を行なったが術後4ヵ月で死亡した。剖検にて食道原発巣と肝臓および脾臓の転移巣を採取した。術前の血漿AFP値は351 ng/mlであった。

Table 1. Details of cases of human gastric and esophageal AFP-producing adenocarcinoma

Case no. <sup>1)</sup>	Age	Sex	Clinical Stage <sup>2)</sup>	Macroscopic type	Histologic type <sup>3)</sup>	Plasma AFP level <sup>4)</sup> (ng/ml)	Curability by surgery <sup>5)</sup>	Survival period(months)
1	72	M	III	2	por	93	C	9
2	72	M	IV	4	por	5,500	NC	6
3	83	F	IV	3	tub	5,600	C	24
4	59	M	IV	3	tub	170	NC	10
5	49	M	IV	3	tub	16,300	N	8
6	80	M	IV	prot. <sup>6)</sup>	adeno-carcinoma	351	N	4

1) case 1 to 5: gastric carcinoma and case 6: esophageal carcinoma

2) case 1 to 5: according to the General Rules for the Gastric Cancer Study and case 6: according to the Guide Lines for the Clinical and Pathological Studies on Carcinoma of the Esophagus

3) por = poorly differentiated adenocarcinoma : tub = tubular adenocarcinoma

4) preoperative plasma AFP level except for case 1(postoperative plasma AFP level)

5) C = curative resection : NC = non-curative resection : N = non-resection

6) prot = protruded type

Table 2. Results of heterotransplantation into nude mice

Case no.	Origin of tumors taken for transplantation <sup>1)</sup>	Data at the first generation			Present generation maintained by serial transplantation
		Inoculation period (days)	No. of tumors taken/ no. of tumors attempted	Doubling time (days)	
1	Pr	74-94	8/8	11.2	68 th
2	Pr, Ly, Li	44	6/6	6.5	8 th
3	Pr	87-92	2/4	9.7	8 th
4	Pr, Ly	69-177	4/4	10.6	4 th
5	Pr	77-189	2/4	9.1	13 th
6	Ly	65-115	4/4	7.5	11 th

1) Pr = primary tumor  
 Ly = metastatic lymph node  
 Li = metastatic liver tissue

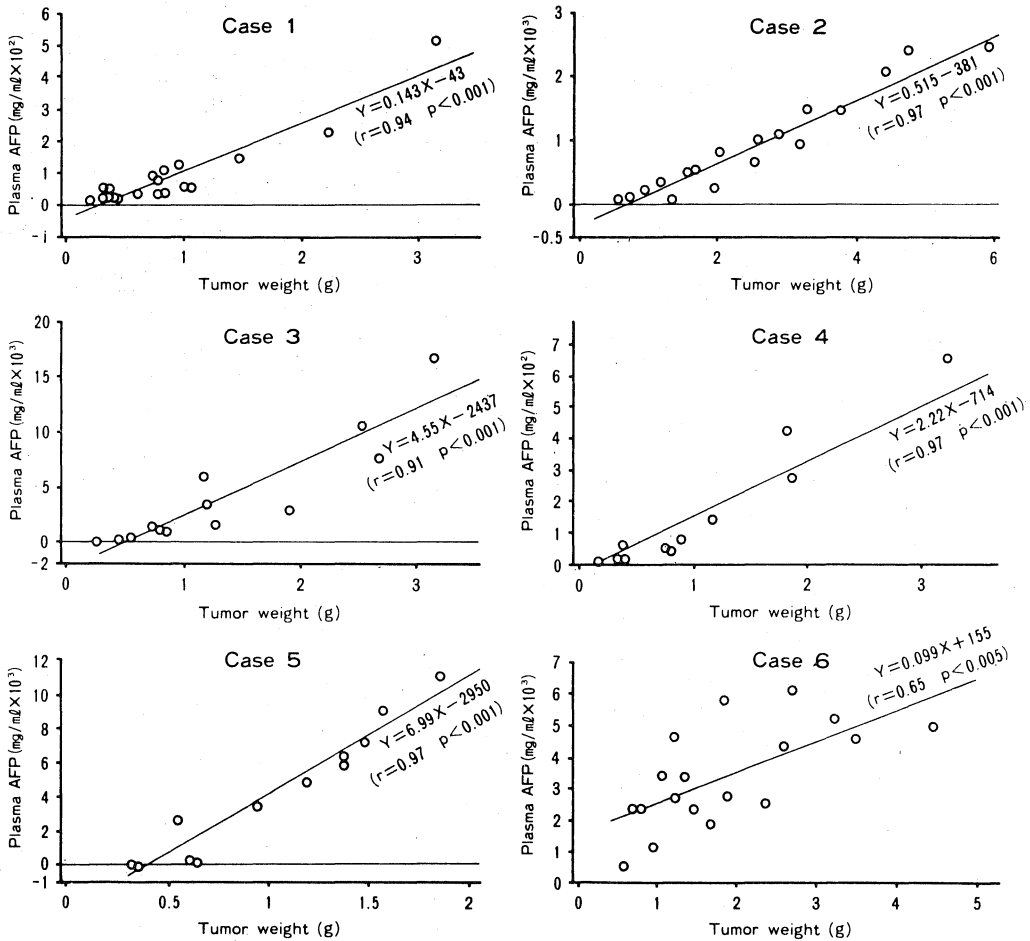


Fig. 1. Regression line indicating the correlation between plasma AFP level and tumor weight in nude mice.

## B. 皮下移植成績と腫瘍重量倍増時間

## 1. 生着率

生着率は Table 2 のごとく、6 症例全例が初代移植において生着し、生着率は 100% であった。移植腫瘍組織片でみると 30 個のうち 26 個が生着し、生着率は 87% であった。移植材料の採取部位別の生着率には有意な差は認めなかった。継代移植における生着率は 100% であり、現在 6 代から 68 代継代中である。

## 2. 腫瘍重量倍増時間

初代の腫瘍重量倍増時間は、6.5 日から 11.2 日であり平均 9.1 日であった。胃原発巣および転移巣(リンパ節転移巣、肝転移巣)の移植が可能であった Case 2 におけるそれぞれの腫瘍重量倍増時間は、原発巣が 5.3 日、リンパ節転移巣が 8.4 日、肝転移巣が 6.2 日と原発巣がやや速い傾向がみられるも有意な差は認めなかった。また胃原発巣およびリンパ節転移巣の移植が可能であった Case 4 においては、原発巣が 10.0 日、リンパ節転移巣が 11.2 日であり、やはり有意な差は認めなかった。

## C. 皮下移植腫瘍重量と血漿 AFP 値の相関

皮下移植腫瘍とそのマウス血漿 AFP 値の関係をみるために、腫瘍重量と血漿 AFP 値を経時的に計測した。その結果、Fig. 1 に示すように全症例において血漿 AFP 値と腫瘍重量との間に有意な相関関係が認められた。さらにそれぞれの腫瘍の AFP 産生能を相関直線の傾きから考えると、食道癌 (Case 6) よりも胃癌 (Case 1-5) が、また胃癌では por (Case 1, 2) よりも tub (Case 3, 4, 5) がより高い産生能を有すると考えられた。

## D. 腫瘍細胞浮遊液による脾臓内移植成績および血漿 AFP 値の変化

脾臓内移植成績を Table 3 に示した。各症例の移植後

観察期間は、51 日から 91 日であり、すべての症例において肝臓に Fig. 2 に示すような転移結節が認められた。症例別の肝転移の発生率は、25% から 100% であり、発生した結節数は、平均 1 個から 92.4 個であった。転移結節の大きさは、症例により様々であった。また肉眼所見でも充実性のものや、内部に漿液を含んだ嚢胞性のものなど様々であった。屠殺時の血漿 AFP 値は、19.9 ng/ml から 6,315 ng/ml であり転移結節数の多いものほど高値を示した。脾臓内移植後の血漿 AFP 値は、Fig. 3 に示すごとく Case 1 では移植 5~6 週間後より上昇を開始し、また Case 6 では移植 3 週以降より上昇を開始しその後は指数関数的に増加した。

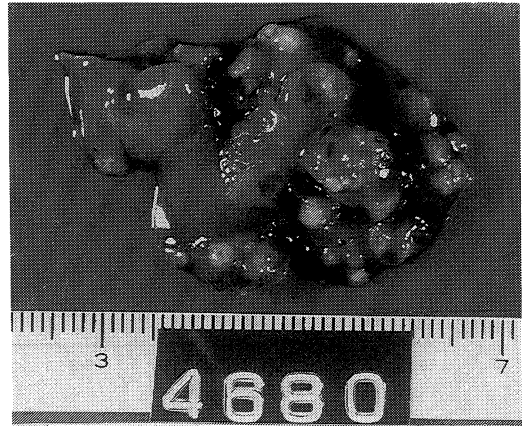


Fig. 2. Macroscopic view of the liver with multiple metastasis after intrasplenic transplantation into nude mice.

Table 3. Results of intrasplenic transplantation of cell suspension prepared from subcutaneous tumor in nude mice

Case no.	Observation period (days)	No. of mice with liver nodules /no. of treated mice (%)	Mean no. of liver nodules /mouse (mean±S.D.)	Mean plasma AFP level at sacrifice (ng/ml) (range)
1	91	13/17(76)	5.7±3.89	2,613(7.7-7,200)
2	60	3/5 (60)	3±2.8	19.9(1.0-50)
3	52	1/4 (25)	1	440
4	51	5/5 (100)	92.4±13.3	6,315(860-18,000)
5	78	4/4 (100)	12±6.9	6,155(18-10,000)
6	67	3/4 (75)	3±1.6	1,968(4.0-4,100)

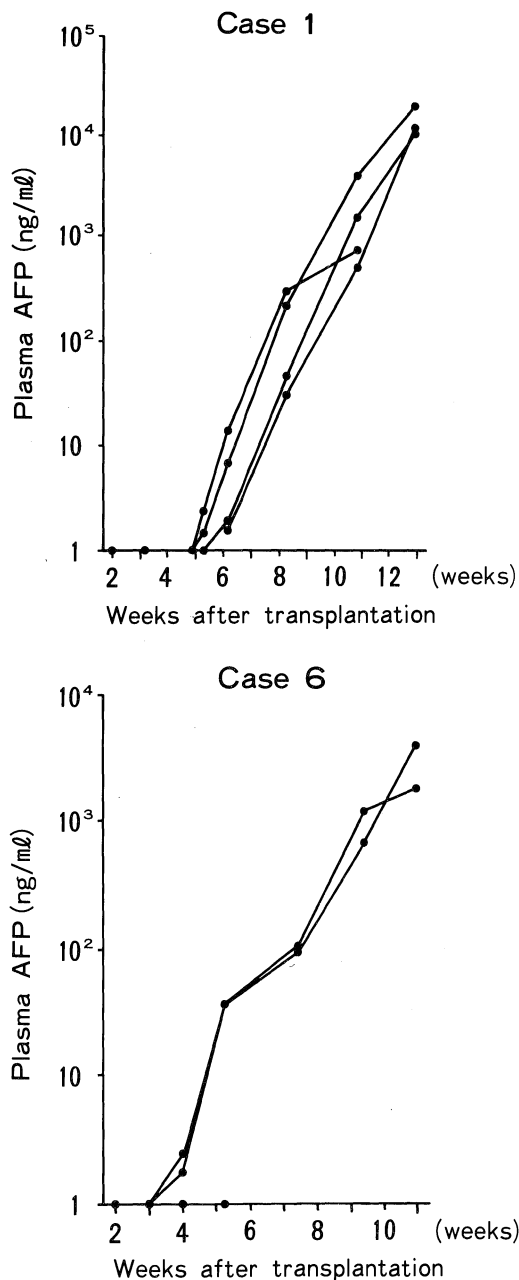


Fig. 3. Plasma AFP level as a function of time after i.s. of the AFP-producing tumor cell suspension into nude mice.

#### E. 病理組織学的所見および腫瘍組織内 AFP の局在

##### 1. 病理学的所見

AFP 産生胃癌症例の組織型<sup>15)</sup>は、2 例は低分化腺癌 (por), 3 例は管状腺癌 (tub) であった。各組織型の代表例を Fig. 4 に示した。por (Case 2) では、立方上皮よりなる癌性小腺管が、乳腺における篩状癌のような癌胞巣を形成し発育していた。この胞巣は粘膜内に広がる管状腺癌と移行していた。tub (Case 4) は、大小不規則な形を示す腺管の充実性胞巣状の発育が見られ、腫瘍細胞は立方状であった。Case 6 は食道腺癌であるが、腺腔形成傾向を示す腫瘍細胞は、胞巣を形成し増生しており、浸潤部で腫瘍細胞は、その異型性を増し、bizzar な巨細胞を混じて腺管を形成し、一部索状となり浸潤増生していた。

皮下継代腫瘍は間質が少なくなる傾向にはあるが、原発腫瘍と基本的には同様の組織像であった。ヌードマウス肝転移腫瘍は、圧排性に発育し皮下腫瘍と同様の組織像を示した。

##### 2. 腫瘍組織内 AFP の局在

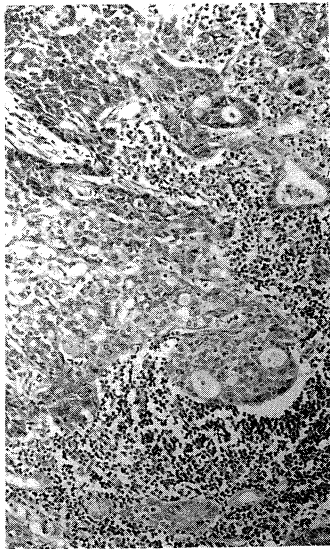
PAP 法による免疫組織化学的検索の結果の代表例を Fig. 5 に示した。組織型に関係なく 6 例全例の原発腫瘍組織内および転移巣内に AFP 陽性細胞は Fig. 5 に示すごとくモザイク様に認められ、AFP は胞体内に顆粒状に染色された。この陽性細胞は髄様を示す部に比較的多く認められたが、腺腔を形成する部でも認められた。

腫瘍組織内の AFP の陽性細胞の割合と血漿 AFP 値との間には、相関関係は認められなかった。

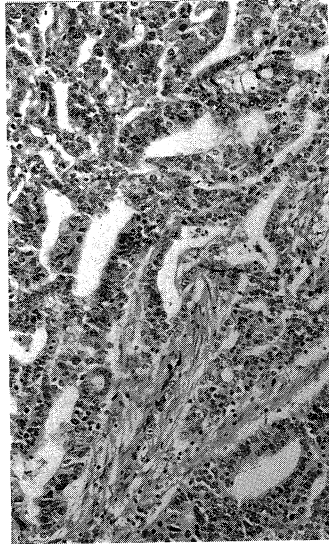
皮下継代腫瘍において、5 例の AFP 産生胃癌では、原発腫瘍と同様にモザイク様に AFP 陽性細胞が認められたが、食道腺癌からの皮下継代移植腫瘍では、AFP 陽性細胞は認められなかった。

#### IV. 考 察

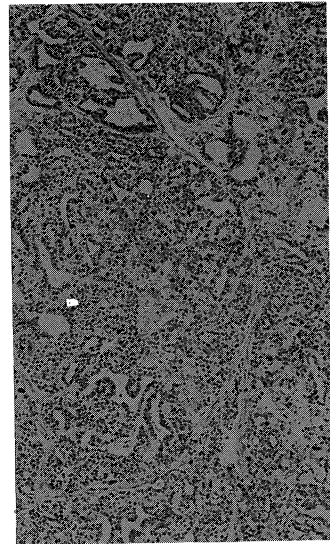
1970 年の Bourreille ら<sup>24)</sup> による血漿 AFP 値が高値を示した原発性胃癌の報告以来、AFP 産生胃癌についての報告は、本邦においても多くなされるようになってきた。本邦での AFP 産生胃癌の発生率について高橋ら<sup>25)</sup> は 387 例中 15 例 (3.9%), 上原ら<sup>26)</sup> は 37 例中 5 例 (13.5%), 赤井ら<sup>27)</sup> は 166 例中 3 例 (1.8%), 山中ら<sup>28)</sup> は 446 例中 17 例 (3.8%), 加藤ら<sup>2)</sup> は 250 例中 3 例 (1.2%), 佐藤ら<sup>4)</sup> は 193 例中 11 例 (5.7%) と報告している。性別では男性に、年齢では 60 歳から 70 歳に多い傾向がある。またこれらの報告例は進行癌が多く、2 型および 3 型が 70% 以上を占めており、その多くは肝転移を伴っている。肝転移の頻度は、山中ら<sup>28)</sup> は 77%, 太田ら<sup>29)</sup> は 64.



por  
(Case 2)

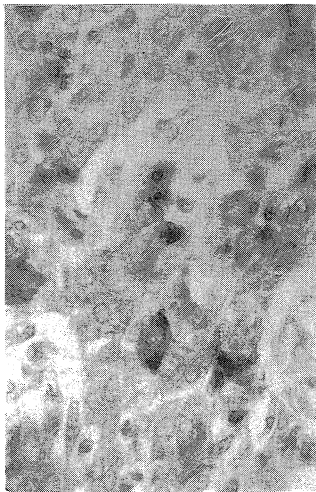


tub  
(Case 4)

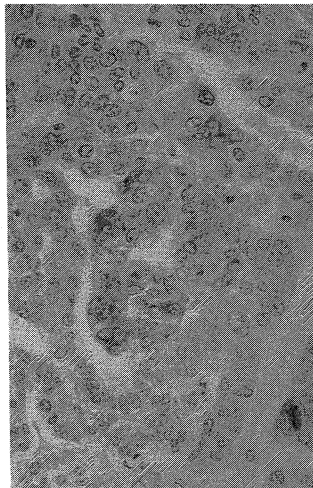


esophageal  
adenocarcinoma  
(Case 6)

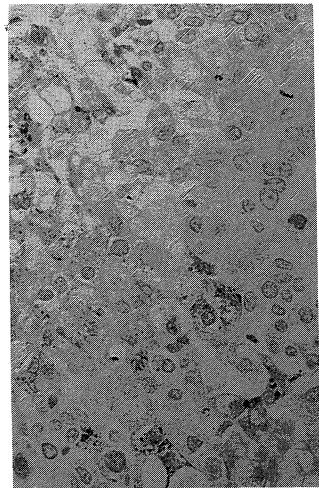
Fig. 4. Histology of original gastric and esophageal carcinoma.



por  
(Case 2)



tub  
(Case 4)



esophageal  
adenocarcinoma  
(Case 6)

Fig. 5. Immunochemical stain of AFP in original gastric and esophageal carcinoma.

7%, 高橋ら<sup>30)</sup>は80%, 佐藤ら<sup>4)</sup>は63.6%, 加藤ら<sup>2)</sup>は76.2%と報告している。これらはこれまで報告されている胃癌の肝胆道系への転移率(46.2%)<sup>31)</sup>や、当教室の過去14年間の胃癌の肝転移率(7.4%)と比較して高率である。本研究の食道癌を含めた6例のAFP産生腺癌においても術後の再発を加えると5例に肝転移が認められ、83%の高い転移率である。組織型では低分化型腺癌が多いとするもの<sup>4)5)29)32)</sup>や、分化型が多い<sup>2)27)33)</sup>とする報告もあり様々である。本研究の5例のAFP産生胃癌症例は、これまでの報告例と同様に、高齢者が多く(平均74歳)、男性4例、女性1例と男性に多い傾向が認められた。肉眼分類では、3型が3例と多く、組織型では、分化型癌が3例、未分化型癌が2例であった。

AFP産生胃癌の予後は非産生胃癌に比較し不良であるとこれまで報告されている。本研究の5例のAFP産生胃癌は4例が術後1年以内に死亡し、残りの1例も術後2年で死亡した。これを生存率および平均生存月数で示すと、1年生存率20%, 2年生存率0%, 平均生存月数11.4ヵ月となる。当教室の過去15年間のStage IV胃癌症例全体の1年生存率は39.7%, 2年生存率は18.6%であり、平均生存月数は14.8ヵ月である。これらのことからAFP産生胃癌の予後は非産生胃癌に比較し不良であると考えられる。

血漿AFP値が高値である原因について肝転移巣周囲の破壊肝細胞がその再生過程においてAFPを産生するのではないかと考えがあり、蛍光抗体法により肝転移周囲にAFPの存在を証明した報告もなされている<sup>34)</sup>。しかし肝転移がなく、血漿AFP値が上昇している胃癌症例が報告され<sup>35)</sup>、さらに酵素抗体法などにより胃癌病巣内にAFPの局在が証明された<sup>4)5)</sup>ことからAFP産生胃癌の概念が認められてきた。当教室の江崎<sup>17)</sup>はAFP産生胃癌を皮下移植したヌードマウスを用いた実験において、そのヌードマウスの血漿中に高いヒトAFP値が検出され、皮下腫瘍の大きさと血漿AFP値が有意の相関を示すと報告し、胃癌細胞自身がAFPを産生することを明らかにした。

AFP産生食道癌についての報告は、著者が検索した限りにおいては本邦では認めなかった。外国文献では、Wahrenら<sup>36)</sup>が、1979年に55人の食道癌患者中に33人の血漿AFP陽性患者(5ng/ml以上)を報告している。血漿AFP値は最高値が300ng/mlであり、腺癌は33例中6例で、扁平上皮癌の患者よりも高い血漿AFP値を示す傾向が認められたが、いずれも下部食道に存在し胃粘膜由来の可能性を否定できなかったと報告している。1986年にOdaimiら<sup>37)</sup>が脳転移を伴った血漿AFP

値が高値である食道扁平上皮癌を報告しているが、癌組織内のAFPは検索していない。Burg-Kurlandら<sup>38)</sup>は1986年に39例の食道癌患者の切除標本を酵素抗体法(PAP法)を用いて検討し9例の扁平上皮癌と1例の腺癌の計10例(26%)の癌組織内にAFP陽性反応を認めたと報告しており、扁平上皮癌では高分化癌が低分化癌よりも陽性率が高かったとしている。また彼らは2例のAFP染色陽性食道扁平上皮癌を用いてヌードマウスへの移植を行い、その染色性について検討し<sup>39)</sup>、1例は染色性が移植腫瘍においても維持されていたが、他の1例では陰性化したと述べている。しかし担癌マウスにおける血漿AFP値の変化については検討していない。本研究に用いた食道癌症例は、腺癌であり、80歳男性の肝転移など広範囲な転移を伴う進行癌であった。また胸部中部食道(Im)に存在し、剖検により得られた標本は病理学的に明らかに胃粘膜とは連続性が認められなかった。

我々は、これまでAFP非産生胃癌140症例をヌードマウスに移植し、その生物学的特徴や移植成績あるいはその発育態度と患者の予後について検討し報告してきた<sup>13)14)17)40-53)</sup>。すなわち140例中70例(50%)が生着し、また移植腫瘍組織片533個中212個(40%)が生着した。生着と予後との関係を検討する<sup>54)55)</sup>と、生着例は非生着例に比較し有意に生存率が低く、予後が不良であった。本研究における6例のAFP産生腺癌は全例(100%)が生着し、また移植腫瘍組織片は30個中26個(87%)が生着し高い生着率を示した。この生着率の高さより予後が不良であることが予想され、臨床的にも6例中5例が術後1年以内に、また残りの1例も術後2年で死亡している。

癌の発育速度を表わすのに腫瘍重量倍增時間(doubling time: DT)が一般に用いられている。我々がこれまでヌードマウス皮下に移植したAFP非産生胃癌のDT<sup>44)</sup>は、平均13.2日であり、本研究の5例のAFP産生胃癌のDTは平均9.1日であった。これまで報告されている胃癌のDT<sup>56)57)</sup>は5.6日から32日と様々であり、一概には言えないが、同一の実験系で行なった我々の実験ではAFP産生胃癌は、AFP非産生胃癌に比較し速い増殖を示す傾向が見られた。ヌードマウスへの移植腫瘍は一般的に腫瘍の継代により成長が速くなるとの報告<sup>12)</sup>があるが、今回用いたAFP産生胃癌は継代により安定した成長をするようにはなったが、DTは世代により様々であり一定の傾向は認められなかった。採取部位の違いによるDTの差異は一例において胃原発巣、リンパ節転移巣および肝転移巣の継代移植に成功し検討したが、原発巣7.8日、肝転移巣9.1日、リンパ節転移巣10.7日と原



発癌の DT が最も短かったが、有意な差は認められなかった。食道癌についてもこれまで我々が観察してきた5例の AFP 非産生食道扁平上皮癌のヌードマウス皮下での DT は平均 17.4 日であり今回の AFP 産生食道腺癌は 5.1 日と速い増殖を示したが、組織型が異なり、症例数も 1 例と少ないので今後のさらなる検討が必要である。

AFP 産生腫瘍のヌードマウス皮下移植腫瘍の大きさとその血漿 AFP 値の関係についての報告は少く、AFP 産生肝細胞癌 1 例<sup>58)</sup>と、AFP 産生胃癌 2 例<sup>17)59)</sup>の報告がみられるのみである。本研究で用いた 6 種類の AFP 産生腺癌においては、ヌードマウス皮下移植腫瘍の大きさと血漿 AFP 値の間に有意な相関関係が認められた。皮下移植腫瘍が過度に大きくなると、この相関関係は見られなくなるが、その理由としては、腫瘍内に壊死が生ずるためであろうと考えられる。原発巣と転移巣(リンパ節、肝臓)の移植が可能であった Case 2 におけるそれぞれの腫瘍重量(X)と血漿 AFP 値(Y)の回帰直線は、原発巣が  $Y=0.515X=381$ 、リンパ節転移巣が  $Y=0.292X=108$ 、肝転移巣が  $Y=0.902X-696$  と求められ、この回帰直線の傾きから AFP 産生能は肝転移巣が最も高いと考えられた。Case 6 の食道腺癌における回帰直線は  $Y=0.099X+155$  と求められ、AFP 産生能が胃癌に比較し低いと考えられた。

ヌードマウス皮下移植腫瘍が浸潤や転移を起こすことは稀であるとされている<sup>60)61)</sup>。そのため悪性増殖能を検討する実験系が研究され、当教室ではヌードマウス皮下移植継代ヒト胃癌の細胞浮遊液を作製し、これを腹腔内に移植する方法で悪性増殖能を発現するヒト胃癌の腹水型変換に成功した<sup>62)64)</sup>。また肝転移の自発的な転移モデルとして、腹腔内移植<sup>62)</sup>や盲腸の壁内への移植<sup>65)</sup>が報告されている。実験的肝転移モデルとしては、門脈内へ直接腫瘍細胞を注入する方法<sup>66)67)</sup>がラットやモルモットを用いて報告されている。マウスでも門脈内へ腫瘍細胞を注入した報告<sup>68)69)</sup>があるが、技術的な困難さや高い致死率などの問題点が指摘されている。1982 年 Kopper ら<sup>70)</sup>は、マウスにおける実験的肝転移の方法として、腫瘍細胞浮遊液の脾臓内移植を初めて報告した。この脾臓内移植方法は、開腹を必要とするが手技が比較的簡単で、高率に肝転移が発現されるため、動物腫瘍のみでなくヒト悪性腫瘍を用いた実験にも利用されている<sup>71)72)</sup>。Kozlowski ら<sup>71)</sup>、Giavazzi ら<sup>72)</sup>はヒト腫瘍の細胞浮遊液を用いての脾臓内移植による高頻度の肝転移作製実験を報告している。このように、ヒト癌のヌードマウスの脾臓内移植系はヒト癌の肝転移能を検討する上で有用なモデルであると考えられる。我々もこれまで、中谷ら<sup>73)</sup>が報告

したごとくこの実験系を用いて、ヌードマウス継代ヒト胃癌 11 株の脾臓内移植を行い、11 株中 5 株(45%)に肝転移を認めた。

本研究における AFP 産生腺癌 6 例のヌードマウス皮下継代腫瘍からの細胞浮遊液の脾臓内移植において、実験的肝転移は 6 株中 6 株(100%)に発生した。これは AFP 非産生胃癌を用いた実験における発生率(45%)に比較し高率であり、AFP 産生癌の悪性増殖能は非産生癌よりも高いと考えられる。AFP 産生胃癌の実験的肝転移の多くは、肉眼的に直径 3 mm 前後の結節として認められ、個数は症例により数個から 100 個以上と様々であり、そのほとんどが充実性であったが一部に嚢胞状のものも見られた。AFP 産生食道腺癌では比較的大きな充実性結節が平均 3 個認められ、一部に血性漿液を含む嚢胞も認められた。

脾臓内移植後経時的に測定された血漿 AFP 値は、移植後 3 から 6 週目に陽性となり以後急速に増加した。

屠殺時の血漿 AFP 値と肝転移結節数との関係は、結節数の多いものほど血漿 AFP 値が高値であった。このことより、血漿 AFP 値の変化をモニターすることにより、これらの腫瘍の実験的肝転移モデルは、肝転移の機序の解明や抗癌剤の感受性などの研究に有用であると考えられる。

AFP 産生胃癌の組織型は、先に述べた様に様々であり一定の特徴は認められない。またヌードマウスの皮下継代によって組織学的に大きな変化は認められなかった。癌病巣内の AFP の局在は、1976 年に沖田ら<sup>74)</sup>が血中 AFP 値が 54,000 ng/ml と高値を示した胃癌症例の癌細胞内に AFP が存在していることを蛍光抗体法を用いて証明して以来、蛍光抗体法や酵素抗体法により腫瘍組織内の AFP の局在が検索されてきた<sup>4)5)75)</sup>。これまでの報告によれば、癌組織内の AFP 染色陽性細胞は組織内にびまん性には認められず、陽性細胞と陰性細胞が混在している。AFP は癌細胞の胞体内に顆粒状に染色され、このような陽性細胞は髄様であり、蜂巣状構造をとり数石状配列が見られるとの報告がなされている。石倉ら<sup>76)</sup>は AFP 染色陽性細胞のなかに肝細胞と形態的に類似し、またアルブミンなどの肝細胞マーカーが局在していることなどから、胃の肝様腺癌という概念を提唱している。しかし AFP 産生胃癌すべてがこのような形態をとるわけではなく、これからの検討が必要と思われる。

本研究においても確かにヘマトキシリン・エオジン染色にて好酸性胞体を持ち蜂巣状に増殖する細胞が認められ、これらの細胞群の多くが AFP 染色陽性であるが、腺管を形成する細胞にも AFP 陽性を示すものがあり一概

には言えないと思われる。また AFP 染色陽性細胞が散在性に存在することからも、細胞により AFP 産生能に差があると考えられ、電子顕微鏡などを用いたさらに詳細な検討が必要であろう。

原発巣と転移巣における AFP 産生能の差を検討するため 2 例について胃原発巣と転移巣の AFP 染色性を検討したところ、転移巣でやや染色性の低下が認められたが明らかな差は認めなかった。上原ら<sup>26)</sup>は転移巣において染色性が増強する事が多いと述べているが、高橋ら<sup>25)</sup>はほとんど差が認められず肝転移巣で減弱している症例もあったと報告しており一定の傾向は認められていない。

染色性と血漿 AFP 値の関係についてもさまざまな報告<sup>25)26)32)</sup>があり、本研究に用いた腫瘍においても一定していない。

ヌードマウス皮下継代腫瘍の AFP 染色像はほとんど原発腫瘍と変化なく、やはり散在性に陽性細胞がみつめられ、特に AFP 陽性細胞が継代維持されやすいことはなかった。ヌードマウス血漿 AFP 値と皮下継代腫瘍重量との間には有意な相関があったが、AFP 染色性とは明らかな相関関係は認められなかった。さらに食道腺癌症例においては担癌マウスの血漿 AFP 値は高値であり腫瘍重量との相関も認められ、また腫瘍組織内 AFP 濃度も高値 (1,500 ng/g) であったにもかかわらず、皮下継代腫瘍は、AFP 染色陰性を示した。この理由については現在不明であり、固定方法や染色方法などの技術面からや、AFP の heterogeneity など性質面からの検討が必要であると考えられこれからの課題である。

近年 lectin affinity electrophoresis を用いて AFP のコンカナバリン A (Con A) やレンズマメ・レクチン (LCA) などのレクチンとの反応性を検討し、良性肝疾患と肝細胞癌とを鑑別しようとする試みがなされ<sup>77)78)</sup>、さらに肝細胞癌やヨークサック腫瘍以外の AFP 産生癌を肝細胞癌型に近いものか、またはヨークサック腫瘍型に近いものかを分類し、AFP 産生腫瘍の発生過程を解明しようとする研究も報告されている<sup>76)79)</sup>。これまでの報告では AFP 産生胃癌の産生する AFP は肝細胞癌型に近いとされている。AFP 産生食道癌の産生する AFP について検討した報告はない。今回報告した AFP 産生食道腺癌を皮下移植したヌードマウスの血漿 AFP を武田和久先生 (香川大学保健管理センター) の御好意により分類したところ、この食道腺癌が産生する AFP はヨークサック腫瘍が産生する AFP に非常に類似したレクチン反応性を示した。

## V. 結 語

AFP 産生腺癌 6 例 (胃癌 5 例、食道癌 1 例) のヌードマウスへの移植および継代に成功し、それらの特性を検討して以下の結果を得た。

1. AFP 産生胃癌 5 例の年齢は、59 歳から 83 歳、平均 73 歳と高齢であった。性別は、男女比が 4:1 と男性に多く、全例が進行癌 (Stage III 1 例、Stage IV 4 例) であり、4 例において術中あるいは術後に肝転移を認めた。肉眼型は、2 型 1 例、3 型 3 例、4 型 1 例であり、組織型は por 2 例、tub3 例であった。術前の血漿 AFP 値は 4 例で測定し、いずれも 100 ng/ml 以上であった。AFP 産生食道腺癌は、80 歳男性の肝転移を伴った隆起型の進行癌であり、術前血漿 AFP 値は 351 ng/ml であった。

2. AFP 産生胃癌 5 症例全例が術後 2 年以内に死亡し、その内 4 例は術後 1 年以内の死亡であり、当教室における過去 15 年間の Stage IV 胃癌の術後予後と比較し不良であった。AFP 産生食道腺癌も術後 4 ヶ月で死亡した。

3. AFP 産生腺癌 6 例のヌードマウス皮下移植における生着率は 100% であり、AFP 非産生胃癌の生着率 (140 例中 70 例、50%) に比較し高率であった。また腫瘍重量倍増時間は、6.5 日から 11.2 日で平均 9.1 日であり、AFP 非産生胃癌 (平均 13.2 日) よりも速い増殖を示した。

4. AFP 産生腺癌 6 例全例に、皮下移植腫瘍の腫瘍重量とその担癌マウスの血漿 AFP 値の有意な相関関係が認められた。

5. 皮下継代腫瘍由来の細胞浮遊液のマウス脾臓内への移植 (i.s.) によって AFP 産生腺癌 6 症例全例 (100%) が肝臓に転移腫瘍結節を形成し、その屠殺時血漿 AFP 値は 19.9 ng/ml から 6,315 ng/ml であり、結節数が多いものほど高値であった。AFP 非産生胃癌 11 例の i.s. では、5 例 (45%) が肝転移結節を形成しており、これに比較し高い肝転移の発生率であった。

6. 病理組織学的検索において AFP 産生胃癌は、3 例が tub、2 例が por であった。AFP 産生食道癌は、管状構造を持つ腺癌であった。これらの中に髄様蜂巣構造を示す部位も認められた。

7. AFP 染色 (PAP 法) によって癌病巣内の AFP の局在を検索すると、AFP は癌細胞の胞体内に顆粒状に認められ、その陽性細胞は癌組織内に散在性に存在し細胞集団として認められることもあった。この細胞集団は、H・E 染色において髄様蜂巣状構造を示している部位に

一致していることが多かったが、腺管構造を形成する細胞にも AFP 陽性細胞は認められた。

8. 原発巣あるいは転移巣の AFP 染色性は、転移巣においてやや低下したが、明らかな差はなかった。また AFP 染色陽性細胞の数と血漿 AFP 値との間にも明らかな相関関係は認められず、皮下腫瘍の AFP 染色が陰性であっても、その担癌マウスの血漿 AFP 値が高値を示すものも認められた。

以上、本研究結果より、ヌードマウスに移植された AFP 産生腺癌は形態のみならず AFP 産生能も維持され、産生された AFP は腫瘍の大きさに相関して血中に放出されることが示された。またその生着率は高く、実験的肝転移が高頻度に発生したことより AFP 産生腺癌は、非産生腺癌に比較し悪性度が高いことが明らかにされた。これらのヌードマウス移植腫瘍は AFP 産生腺癌の特性を研究するために有用であり、また腫瘍重量と血漿 AFP 値が相関し、肝転移の発生に伴って血漿 AFP 値が上昇することから、今後血漿 AFP 値をマーカーとした肝転移の機序の解明や抗癌剤感受性試験に有用な実験システムであると考えられる。

(本研究の要旨は、第 41 回食道疾患研究会、第 46 回日本癌学会総会、第 29 回日本消化器病学会大会で発表した。また本研究の一部は昭和 55 年、56 年、57 年、58 年、59 年、60 年度の文部省がん特別研究 (I) 課題番号 5501067, 56010069, 57010069, 58010070, 59010074, 60010075 の援助による成果であり、さらに厚生省がん研究補助金、課題番号 532 の一部を使用した。稿を終えるにあたり、本研究の機会と御校閲、御指導を賜った恩師中野博重教授ならびにがんセンター腫瘍病理小西陽一教授に心から感謝いたします。また、本論文を御校閲賜った第 3 内科辻井正教授に深謝いたします。さらに、本研究をご援助くださった第 1 外科助教授中谷勝紀博士、腫瘍病理助手堤雅弘博士、第 1 外科助手宮城信行博士、江崎友通博士をはじめ両教室諸兄姉に感謝の意を表します。)

## 文 献

- 1) Tatarinov, Y. S.: Detection of embryospecific alpha-globulin in the blood serum of a patient with primary liver tumor. *Vopr. Med. Khim.* 10: 90, 1964.
- 2) 加藤清, 赤井貞彦, 飛田祐吉, 筒井一哉, 角田弘, 鈴木正武: ヘパトマ・悪性奇形腫以外の  $\alpha$ -Fetoprotein 陽性癌についての考察——全国調査結果として。癌の臨床 20 (5); 376, 1974.
- 3) 北岡久三, 向島達, 大倉久直, 山中昇, 服部信, 岡田秀親: Alpha-Fetoprotein 陽性胃癌。最新医学 29: 2298, 1974.
- 4) 佐藤幹雄, 三戸康郎, 荒木貞夫, 前川隆文, 田口純一, 蒲池寿:  $\alpha$ -フェトプロテイン産生胃癌。癌の臨床 28(7): 799, 1982.
- 5) 沢田勉, 内藤寿則, 江里口直文, 友清明, 西田博之, 敏先清一郎, 樋口隆一, 吉田浩晃, 津留昭雄, 福田義人, 桑原義明, 測上量三, 中山陽城, 中山和道, 古賀道広: 血清  $\alpha$ -fetoprotein 高値原発胃癌 8 例における免疫組織学的検討。消化器外科 8(3): 359, 1985.
- 6) McIntire, K. R., Waldmann, T. A., Moertel, C. G. and Go, V.L.W.: Serum  $\alpha$ -fetoprotein in patients with neoplasms of the gastrointestinal tract. *Cancer Res.* 35: 991, 1975.
- 7) 高橋豊, 磨伊正義, 秋本龍一, 荻野知己, 沢口潔, 上田博, 北川一雄, 北村徳治, 中西功夫: AFP 産生胃癌——その異なる 2 つの biological behavior について。癌の臨床 29: 19, 1983.
- 8) Alpert, E., Pinn, V. W. and Isselbacher, K. J.: Alpha-fetoprotein in a patient with a gastric carcinoma metastatic to the liver. *N. Eng. J. Med.* 285: 1058, 1971.
- 9) Rygaard, J. and Povlsen, C. O.: Heterotransplantation of human malignant tumor to "nude" mice. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 77: 758, 1969.
- 10) Stoner, G. D., Autrup, H., Trump, B. F., McDowell, E. M. and Jines, R. T.: Longterm survival of normal adult human tissues as xenografts in congenitally athymic nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 849, 1981.
- 11) Manning, D. D., Reed, N. D. and Schaffer, C. F.: Maintenance of skin xenografts of widely divergent phylogenetic origin in congenitally athymic (nude) mice. *J. Exp. Med.* 138: 488, 1973.
- 12) Shimosato, Y., Koide, T., Hayashi, H. and Nomura, T.: Transplantation of human tumors in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 56: 1251, 1976.
- 13) 高橋精一, 中谷勝紀, 白鳥常男, 小西陽一, 小島清秀: ヒト胃癌組織のヌードマウスへの移植。1. 生着率と発育態度および組織像。日消誌。74: 421, 1977.
- 14) Nakatani, K., Takahashi, S., Shiratori, T. and

- Konishi, Y.:** Heterotransplantation of human gastric carcinomas into nude mice. *World J. Surg.* **3**: 641, 1979.
- 15) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約(改訂II版). 金原出版, 東京, 1985.
- 16) 食道疾患研究会編: 食道癌取扱い規約(改訂5版). 金原出版, 東京, 1976.
- 17) 江崎友通: ヌードマウス可移植性AFPおよびCEA産生ヒト胃癌についての研究. *奈医誌.* **35**: 385, 1984.
- 18) **Huntur, W. M., Bennie, J. G., Brock, D. J. H. and Van Heyningen, V.:** Monoclonal antibodies for use in an immunoradiometric assay for  $\alpha$ -fetoprotein. *J. Immunol. Methods* **50**: 133, 1982.
- 19) 新沢陽英, 笠島武, 平野雄一郎, 上野恒太郎, 今井大, 石川誠: 消化器癌における $\alpha$ -fetoproteinのPeroxidase antiperoxidase (PAP) 法による検討. *日消誌.* **77** (8): 1250, 1980.
- 20) 山下清章, 岩本俊之: immunoglobulin-enzyme bridge method—フォルマリン固定パラフィン包埋組織切片における抗原の証明法. *医学のあゆみ* **103** (4): 224, 1977.
- 21) **Taylor, C. R. and Kledzik, G.:** Immunohistologic Techniques in Surgical Pathology — A Spectrum of “New” Special Stains. *Human Pathology* **12** (7): 590, 1981.
- 22) **Taylor, C. R.:** Immunoperoxidase techniques: theoretical and practical aspects. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **102**: 113, 1978.
- 23) **De Lellis, R. A., Sternberger, L. A., Morris, R., Mann, R. B., Banks, P. M. and Nakane, P. K.:** Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology. Report of a workshop sponsored by the National Cancer Institute. *Am. J. Clin.* **71**: 482, 1979.
- 24) **Bourreille, J., Metayer, P., Sauger, F., Matray, F. et Fandimare, A.:** Existence d'alpha feoto-protein au cours d'aucancer secondaire du foie d'origine gastrique. *Press. Med.* **79**: 1585, 1970.
- 25) 高橋豊, 磨伊正義, 荻野知己, 上田博, 沢口潔, 上野雅資: AFP産生胃癌の臨床病理学的検討——胃癌におけるAFPの意義. *日外会誌.* **88**: 969, 1987.
- 26) 上原克昌, 宮本幸男, 泉雄 勝, 塩崎秀郎, 饗場正一, 松本 弘: 胃癌におけるAFPの意義. *癌の臨床* **32**(8): 887, 1986.
- 27) 赤井貞彦, 加藤清, 飛田祐吉: いわゆる“ $\alpha$ -Fetoprotein 偽陽性例”の検討——とくに $\alpha$ -fetoprotein陽性癌について. *内科* **30**(2): 320, 1972.
- 28) 山中英治, 中根恭司, 田中完児, 今林伸康, 西正晴, 日置紘士郎, 高山文三, 山本正勝: AFP産生胃癌17症例の検討. *癌の臨床* **32**(15): 1934, 1986.
- 29) 太田大作, 梶原義史, 原田英二, 加茂広明, 富岡勉, 元島幸一, 井沢邦英, 野田剛稔, 角田司, 吉野僚三, 原田昇, 土屋涼一, 松尾武: Alpha-Fetoprotein産生胃癌に関する臨床的, 病理的検討. *日消外科会誌.* **18**(1): 43, 1985.
- 30) 高橋豊, 磨伊正義, 秋本龍一, 荻野友己, 上田博, 北川一雄, 北村徳治, 沢口潔, 分田保寛, 上野雅資: 胃癌の肝転移 high risk 症例の臨床病理学的検討——とくにAFP産生胃癌との関連について. *日消外会誌.* **17**(7): 1732, 1984.
- 31) 日本病理学会編: 日本病理剖検輯報, 第24輯. 東京, 1982.
- 32) 久保田芳郎, 林幸子, 滝沢登一郎, 飯田明, 深沢正久, 仁瓶善郎, 小池盛雄, 望月孝規: 胃癌細胞における $\alpha$ -fetoproteinについての病理組織学的研究. *日消誌.* **79**: 718, 1983.
- 33) 土屋雅春, 亀谷麒与隆, 高木桂三, 織田正也, 岡崎勲, 船渉和夫, 出口修宏:  $\alpha$ -Fetoprotein異常高値を示したBormann III型胃癌肝転移例. *日消誌.* **70**: 475, 1983.
- 34) 藤田実彦:  $\alpha$ -Fetoproteinに関する臨床病理学的研究 [1] 特に, 非癌性肝障害時の臨床並びに基礎的研究. *日消病会誌.* **71**: 1102, 1974.
- 35) 沖田極, 西岡幹夫, 児玉隆浩, 篠山歳行, 枚坂泰治, 藤田輝雄:  $\alpha$ -Fetoproteinに関する研究. 特に胃癌ならびに胃癌の肝転移症例について. *肝臓* **13**(7): 421, 1972.
- 36) **Wahren, B., Harmenberg, J., Edsmyr, F., Jakobsson, P. and Ingimarsson, S.:** Possible tumour markers in patients with oesophagus cancer. *Scand. J. Gastroenterol.* **14**: 361, 1979.
- 37) **Odaimi, M. and Ajani, J. A.:** Brain metastases and elevated  $\alpha$ -fetoprotein level in a patient with esophageal carcinoma. *Southern Med. J.* **79**(10): 1304, 1986.
- 38) **Burg-Kurland, C. L., Purnell, D. M., Combs, J. W., Hillman, E. A., Harris, C. C. and Trump, B. F.:** Immunocytochemical evaluation of human esophageal neoplasms and preneoplastic lesion

- for  $\beta$ -chorionic gonadotropin, placental lactogen,  $\alpha$ -fetoprotein, carcinoembryonic antigen, and nonspecific cross-reacting antigen. *Cancer Res.* **46**: 2936, 1986.
- 39) **Burg-Kurland, C. L., Purnell, D. M., Combs, J. W., Valerio, M. G., Harris, C. C. and Trump, B. F.**: Immunocytochemical evaluation of primary human esophageal carcinomas and their xenografts for keratin,  $\beta$ -chorionic gonadotropin, placental lactogen,  $\alpha$ -fetoprotein, carcinoembryonic antigen, and nonspecific crossreacting antigen. *Cancer Res.* **46**: 5730, 1986.
- 40) **中谷勝紀, 小西陽一, 宮城信行, 高橋精一, 小島清秀, 白鳥常男**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植. 2. 移植胃癌の発育態度と予後について. *日消誌.* **77**: 173, 1980.
- 41) **白鳥常男, 中谷勝紀, 高橋精一, 宮城信行, 小西陽一, 小島清秀**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植. *外科* **41**: 68, 1979.
- 42) **白鳥常男, 中谷勝紀, 小西陽一**: ヌードマウスを用いてのヒト胃癌の研究—各種組織型胃癌の移植株の確立. *外科治療* **41**: 211, 1979.
- 43) **中谷勝紀**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植. *日外誌.* **81**: 1083, 1980.
- 44) **宮城信行, 中谷勝紀, 江崎友通, 酒本和則, 白鳥常男, 高橋精一, 丸山博司, 江見葉子, 小西陽一**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植—ヌードマウス皮下移植 100 症例の移植成績および腫瘍重量倍加時間の検討. *日消誌.* **80**: 2512, 1983.
- 45) **中谷勝紀, 江崎友通, 宮城信行, 白鳥常男, 小西陽一, 小島清秀**: ヌードマウスにおける  $\alpha$ -fetoprotein 産生胃癌の継代. *医学のあゆみ* **116**: 87, 1981.
- 46) **中谷勝紀, 宮城信行, 江崎友通, 白鳥常男, 小西陽一**: ヌードマウスにおける CEA 産生胃癌の継代. *日消誌.* **78**: 1673, 1981.
- 47) **江崎友通, 小西陽一, 中谷勝紀, 宮城信行, 高橋精一, 江見葉子, 白鳥常男**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植. 5. AFP 産生ヒト低分化腺癌のヌードマウスへの移植継代について. *日消誌.* **79**: 2199, 1982.
- 48) **中谷勝紀, 渡辺明彦, 宮城信行, 江崎友通, 杉崎俊照, 澤田秀智, 奥村 徹, 白鳥常男, 高橋精一, 小西陽一**: ヌードマウスへのヒト癌の移植—生着の有無と患者の予後との関係. *医学のあゆみ* **139** (12): 837, 1986.
- 49) **中谷勝紀, 宮城信行, 杉崎俊照, 酒本和則, 渡辺明彦, 藤岡忠慶, 江崎友通, 白鳥常男, 高橋精一, 小西陽一**: ヌードマウスのヒト胃癌の移植—同一症例の原発巣および転移巣の倍加時間の比較. *医学のあゆみ* **136**(4): 299, 1986.
- 50) **Ezaki, T., Nakatani, K., Miyagi, N., Sakamoto, K., Takahashi, S., Emi, Y., Shiratori, T. and Konishi, Y.**: Establishment of  $\alpha$ -fetoprotein-producing human gastric carcinoma in nude mice. *Gann* **74**: 870, 1983.
- 51) **渡辺明彦, 中谷勝紀, 宮城信行, 江崎友通, 酒本和則, 杉崎俊照, 白鳥常男**: ヌードマウス可移植性ヒト胃癌における原発巣と転移巣の制癌剤感受性. *癌と化学療法* **13**(1)150, 1986.
- 52) **宮城信行, 小西陽一, 中谷勝紀, 江崎友通, 高橋精一, 丸山博司, 江見葉子, 白鳥常男**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植 3. 可移植性ヒト胃印環細胞癌の組織学的並びに粘液組織化学的検討. *日消誌.* **79**: 1982.
- 53) **中谷勝紀, 宮城信行, 江崎友通, 酒本和則, 白鳥常男, 小西陽一, 高橋精一**: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植 6. ヌードマウスでの AFP および CEA 産生ヒト胃癌株を用いた制癌剤感受性試験. *日癌治誌.* **18**(1): 54, 1983.
- 54) **宮城信行**: ヌードマウスにおけるヒト胃癌 100 症例の移植成績および印環細胞癌の移植系の樹立について. *奈医誌.* **34**: 289, 1983.
- 55) **渡辺明彦**: ヌードマウスに移植したヒト胃癌の発育態度と患者の予後. *奈医誌.* **38**: 600, 1987.
- 56) **藤田昌英, 大峯一徳, 薄金眞雄, 早田 敏, 中野野典, 田口鉄男**: ヌードマウス移植ヒト消化器癌および乳癌株の特徴—とくにその CEA 産生性と抗癌剤感受性について. *日外誌.* **83**: 457, 1982.
- 57) **久保田哲朗**: ヌードマウス可移植性人癌を用いた実験化学療法—制癌剤による腫瘍抑制効果の検討を中心に. *日外誌.* **78**: 1069, 1977.
- 58) **Hirohashi, S., Shimosato, Y., Kameya, T., Koide, T., Mukojima, T., Taguchi, Y. and Kageyama, K.**: Production of  $\alpha$ -fetoprotein and normal serum proteins by xenotransplanted human hepatomas in relation to their growth and morphology. *Cancer Res.* **39**: 1819, 1979.
- 59) **高橋豊**: ヒト AFP 産生胃癌のヌードマウス可移植株の特性および抗 AFP 抗体—MMC 複合体の効果. *日消誌.* **82**(1): 18, 1985.

- 60) Sharkey, F. E. and Fogh, J.: Metastasis of human tumors in athymic nude mice. *Int. J. Cancer* **24**: 733, 1979.
- 61) 玉置憲一: ヌードマウスと人癌. *医学のあゆみ* **136**: 393, 1986.
- 62) Takahashi, S., Konishi, Y., Nakatani, K., Inui, S., Kojima, K. and Shiratori, T.: Conversion of a poorly differentiated human adenocarcinoma to ascites form with invasion and metastasis in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **60**: 925, 1978
- 63) 中谷勝紀, 宮城信行, 江崎友通, 酒本和則, 杉崎俊照, 白鳥常男: ヒト胃癌のヌードマウスへの移植. 9. 皮下継代移植腫瘍細胞浮遊液の腹腔内移植成績. *日癌治誌*. **19**: 88, 1984.
- 64) Miyagi, N., Nakatani, K., Ezaki, T., Sakamoto, K., Sugisaki, T., Watanabe, A., Fujioka, T., Shiratori, T., Yokose, Y., Takahashi, S. and Konishi, Y.: Malignant potency of human gastric carcinoma in nude mice. *Proceedings of 14th International Cancer Congress*, p 33, 1986.
- 65) Bresalier, R. S., Hujanen, E. S., Raper, S. E., Roll, F. J., Itzkowitz, S. H., Martin, R. G. and Kim, Y. S.: An animal model for colon cancer metastasis: Establishment and characterization of murine cell lines with enhanced liver metastasizing ability. *Cancer Res.* **47**: 1398, 1987.
- 66) Fisher, E. R. and Fisher, B.: Experimental studies of factors influencing hepatic metastasis. 1. The effect of number of tumor cells injected and time of growth. *Cancer* **12**: 926, 1959.
- 67) Skolnik, G., Ericson, L. E. and Bagge, U.: The effect of thrombocytopenia and antiserotonin treatment on the lodgement of circulating tumor cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **105**: 30, 1983.
- 68) Koike, A., Nakazato, H. and Moore G. E.: The fate of Ehrlich cells injected into cells into the portal system. *Cancer* **16**: 716, 1963.
- 69) Lafreniere, R. and Resenberg, S. A.: A novel approach to the generation and identification of experimental hepatic metastases in a murine model. *J. Natl. Cancer Inst.* **76**: 309, 1986.
- 70) Kopper, L., Van Hanh, T. J. and Lapis, K.: Experimental model for liver metastasis formation using Lewis lung tumor. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **103**: 31, 1982.
- 71) Kozlowski, J. M., Fidler, I. J., Campbell, D., Xu, Z., Kaighn, M. E. and Hart, I. R.: Metastatic behavior of human tumor cell lines grown in the nude mouse. *Cancer Res.* **44**: 3522, 1984.
- 72) Giavazzi, R., Campbell, D. E., Jessup, J. M., Cleary, K. and Fidler, I. J.: Metastatic behavior of tumor cells isolated from primary and metastatic human colorectal carcinomas implanted into different sites in nude mice. *Cancer Res.* **46**: 1928, 1986.
- 73) 中谷勝紀: ヌードマウスを用いたヒト胃癌の研究. *日消外会誌*. **19**: 1865, 1986.
- 74) 沖田極, 野田健一, 児玉隆弘, 等本忠良: ヒト胃癌細胞における  $\alpha$ -Fetoprotein の局在について. *医学のあゆみ* **99**(11): 797, 1976.
- 75) Okita, K., Noda, K., Kodama, T., Takenami, T., Fukumoto, V., Fuji, R., Odawara, M., Iida, Y., Hayawa, M., Shigeta, K., Okazaki, Y. and Takemoto, T.: Carcino-fetal protein and gastric cancer: The site of alphafetoprotein synthesis in gastric cancer. *Gastroenterol. Jpn.* **12**: 400, 1977.
- 76) 石倉 浩, 水野一也, 社本幹博, 桐木孝次, 塚田 裕, 伊藤哲夫, 横山欽一, 宮本祐一, 山際裕史, 小笠原和宏, 深沢雄一郎, 名取 孝, 相沢 幹: 胃の肝様腺癌; 疾患単位の提唱とその臨床病理学的特性. *胃と腸* **22**: 75, 1987.
- 77) 宮崎 純, 遠藤康夫, 織田敏次: Crossed immunoelectrophoresis による  $\alpha$ -フェトプロテインのレクチン親和性の分析. *肝臓* **22**: 1559, 1981.
- 78) 武田和久: AFP 糖鎖構造の差による肝疾患の鑑別. *消化器科* **7**: 79, 1987.
- 79) Ishikura, H., Fukasawa, Y., Ogasawara, K., Natori, T., Tsukada, Y. and Aizawa, M.: An AFP-producing gastric carcinoma with features of hepatic differentiation—a case report. *Cancer* **56**: 840, 1985.