

## 原 著

大腸癌における p 53, c-erb B-2 の発現と apoptosis との  
関連についての検討何 群<sup>1,4)</sup> 大秋 美治<sup>1)</sup> 田中 宣威<sup>2)</sup> 浅野 伍朗<sup>3)</sup><sup>1)</sup>日本医科大学千葉北総病院病理部, <sup>2)</sup>同外科,<sup>3)</sup>日本医科大学病理学第 2 教室, <sup>4)</sup>北京医科大学第一付属病院病理部

The relationship between p53 protein and c-erb B-2 expression and apoptosis in colorectal cancer

Qun He<sup>1,4)</sup>, Yoshiharu Ohaki<sup>1)</sup>, Noritake Tanaka<sup>2)</sup>, Goro Asano<sup>3)</sup><sup>1)</sup>Department of Pathology, <sup>2)</sup>Department of Surgery, Nippon Medical School, Chiba Hokusou Hospital<sup>3)</sup>Department of Pathology, Nippon Medical School<sup>4)</sup>Department of Pathology, Beijing Medical University, First Teaching Hospital

## Abstract

In order to elucidate the relationship between tumor growth and various kinds of gene expression and the occurrence of apoptosis in the front portion of neoplastic invasion, 57 advanced colorectal cancers were studied by immunohistochemical staining of p53, c-erb B-2, the TUNEL method and electron microscopy. Light microscopically, the columnar epithelial cells of adenocarcinoma frequently showed a decrease in high and a fall off into the lumen in tumor invasive forefront. Immunohistochemically the positive rate of p 53 and c-erb B-2 in tumors with high vascular invasion were higher ( $p < 0.05$ ) than in those with low vascular invasion. There was a close correlation between the vascular or lymphatic invasion and positive immunoreactivity of p 53 and c-erb B-2. The apoptosis index was demonstrated to be related to vessel invasion, over expression of p53 and inflammatory cell infiltration around the front portion of the tumor invasion. These results suggested that p53, c-erb B-2 and the apoptosis index should be evaluated in conjunction with the prognostic factors in colorectal cancer. The infiltrative inflammatory cells may induce apoptosis of the tumor cells. (J Nippon Med Sch 1999; 66: 181-187)

Key words: invasive forefront of colorectal carcinoma, p53, c-erb B-2, apoptosis, inflammatory cell infiltration

## 緒 言

大腸癌は臨床的に胃癌とともに発生頻度の高い消化管の悪性腫瘍であり, さらに近年, 生活様式の欧米化, 人口の高齢化とともに, その発生率も増加傾向にある。大腸癌の発生, 進展は種々の遺伝子異常と関連していることが多くの研究から明らかになりつつあるが, 持に癌抑制遺伝子として知られる p 53 との関連性は有

名である。現在, 遺伝子 p 53 蛋白質は細胞周期の G 1 後期から S 期への移行部を制御する機能を持ち, 重要な癌抑制遺伝子と考えられており, 野生型と変異型の 2 種類があることが知られている。野生型 p 53 は細胞増殖抑制作用を有し癌の生長を抑制するが生体内で半減期が非常に短い。一方, 変異型は p 53 遺伝子の正常機能を阻害し, 腫瘍細胞内に蓄積して, 免疫染色により強陽性の所見が認められる<sup>1)</sup>。この原理を利用した p 53 の発現に関する臨床病理学的研究が多数認められる。一方, programmed cell death として necrosis とは区別される細胞死の状態は apoptosis として知られており, 細胞における遺伝子支配を受けた細胞死と

Correspondence to Qun He, Department of Pathology, Nippon Medical School, Chiba Hokusou Hospital, 1715 Kamakari Inba-mura, Inba-gun, Chiba 270-1694, Japan

考えられている<sup>2</sup>。特に p 53 の陽性率と apoptosis の発現との関連性については近年注目されている<sup>3</sup>。

Apoptosis は腫瘍細胞に対する宿主の防御装置の一部と考えられている。種々の状況下に見られる apoptosis は共通の形態学的変化を呈するだけではなく、その調節には共通の遺伝子群が関与している。そして腫瘍細胞の apoptosis の発現機構と癌抑制遺伝子などの各種遺伝子の関連性に関する解析は、病理領域においても盛んに行われている。

そこで我々は、近年腫瘍浸潤の先進部における脈管侵襲を含めた増殖様式や腫瘍関連の種々の遺伝子の発現が患者の予後に密接に関連していることが注目されていることより、進行大腸癌の浸潤先進部位を中心に、癌遺伝子 *c-erb B-2*、癌抑制遺伝子 p 53 が腫瘍の脈管侵襲を含めた腫瘍の進展とどのように関連するかを検索した。さらにこれらの因子と apoptosis 発現様式との関連についても検索し、腫瘍の予後推定因子としての有用性を持つかについて形態学的、細胞生物学的に検討した。

## 研究対象および方法

### (1) 研究対象

平成 6 年 3 月から平成 7 年 6 月までの間に、当院で手術された進行大腸癌（浸潤度 pm 以上）57 例を対象とした。対象例は 31 歳から 87 歳（平均  $63 \pm 14.8$ ）、性別は男性 33 例、女性 24 例である。腫瘍の占拠部位は直腸：20 例、S 状結腸：17 例、盲腸：3 例、その他の結腸：17 例である。病理組織診断は高分化腺癌：22 例、中分化腺癌：27 例、低分化腺癌：8 例である。また、v 2 以上の著明な脈管侵襲を伴うもの：38 例、ly 2 以上の著明なリンパ管侵襲を伴うもの 35 例、リンパ節転移を認めるもの 25 例である。なお、癌の血管浸潤、リンパ管浸潤の程度は大腸癌取り扱い規約にしたがったが、統計学的処理のために無低脈管浸潤群（ $v_0-v_1$ 、 $ly_0-ly_1$ ）と高脈管浸潤群（ $v_2-v_3$ 、 $ly_2-ly_3$ ）に分類した。

### (2) 研究方法

#### 1) 免疫組織化学染色

病理組織診断に用いた標本より、腫瘍の壁内浸潤の先進部と腫瘍中心部がある標本を選び、パラフィンブロックより連続切片を作成した。Avidin-Biotin Complex 法を用いて、全症例につき p 53（1：1500；Novocastra, UK）*c-erb B-2*（1：100；DAKO, Carpinteria, CA, USA）を染色し、腫瘍浸潤の先進部を中心に脈管侵襲との関連性を検討した。染色結果の判定は腫瘍細胞の中に占める陽性細胞の割合が 20% 以上発現して

いる症例を陽性とし、20% 以下の症例と発現の認めないものを陰性とした。腫瘍組織の脈管浸潤の程度の異なる群における、上記の抗体の陽性率をそれぞれ算出し、有意差検定は  $\chi^2$  検定を用いた。

#### 2) Terminal deoxynucleotidyl-mediated dUTP-nick end labeling (TUNEL) 法染色

全例、腫瘍のパラフィン包埋薄切標本を Proteinase K 37℃、20 分前処理した後、TdT (MBL) 37℃ 1 時間反応させて、DAB にて発色した。49 例の高分化および中分化腺癌の浸潤先進部と中心部における腫瘍細胞 1,000 個の中に占める TUNEL 染色陽性細胞の百分率を apoptosis 標識率として表し、腫瘍の血管侵襲、分化度、p 53、*c-erb B-2* の陽性率および腫瘍先進部周囲における炎症細胞の多寡により分類し、これらの各群における apoptosis 標識率を算出し、有意差検定は t 検定を用いた。なお、低分化腺癌（8 例）については先進部における炎症細胞と腫瘍細胞の同定が難しく、検索の対象から除外した。

#### 3) 電子顕微鏡的検索

16 症例では新鮮標本から採取した微小組織片を 2.5% glutaraldehyde 液で固定した後、型のごとく Epon 包埋標本を作成し、超薄切片作成後 osmium tetroxide で後固定、酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を施行して Hitachi-7100 を用い apoptosis 細胞の超微形態および腫瘍周囲間質内における炎症細胞の種類を観察した。

## 結果

### 1. 光顕所見

全例腺癌に相当する組織像を示した。腫瘍組織浸潤先端部において、腫瘍細胞のたけの減少とともに、腺腔を形成する腫瘍細胞が脱落、消失する傾向が多く見られ (Fig. 1 a)、その現象は特に高分化および中分化腺癌といった腺管形成の明らかな腫瘍群で著明であった。多くの症例の浸潤先端部周囲間質内には炎症細胞浸潤が目立った (Fig. 1 b)。浸潤する炎症細胞内には特に組織球、リンパ球、好中球などを認めた。

### 2. 免疫組織化学染色

#### (1) p 53 免疫染色

一部の症例では、腫瘍細胞の核に強陽性を示した (Fig. 2)。陽性率は 57 例中 34 例、59.6% であった。p 53 の染色態度と腫瘍の脈管侵襲の関係を Table 1 に示した。p 53 陽性率は脈管侵襲の程度の軽い症例群に比べ、血管、リンパ管侵襲の高度な症例群において、有意に高値を示した。

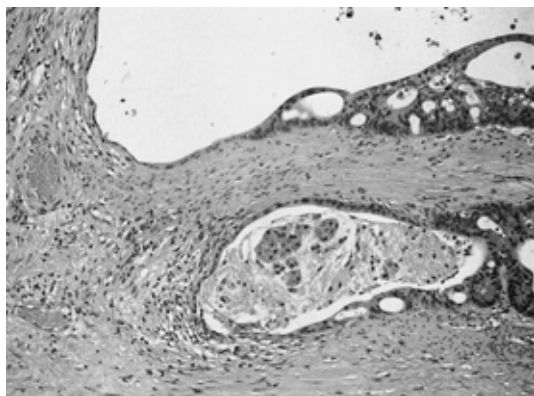


Fig. 1 a The tumor cells decrease in height and fall off in invasive forefront.( HE × 100 )

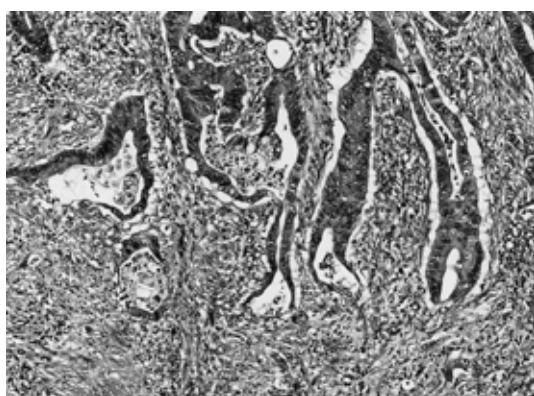


Fig. 1 b Marked inflammatory cell infiltration is noted around the tumor cell front.( HE × 100 )

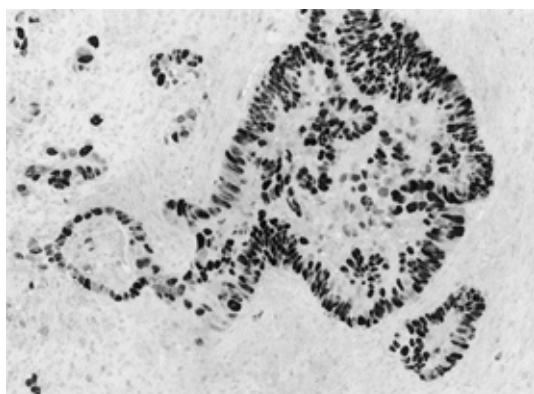


Fig. 2 Immunohistochemical staining of p 53 protein in carcinoma. p 53 is expressed in the nuclei of tumor cells.( ABC method × 200 )

### ( 2 ) *c-erb* B-2 免疫染色

*c-erb* B-2 は細胞質内に陽性像を示し，特に細胞膜上に強い局在を認めた ( Fig. 3 ). 陽性率は 57 例中 45 例 ,78.9% であった .*c-erb* B-2 の染色態度と腫瘍の脈管侵襲の関係を Table 1 に示した .*c-erb* B-2 の陽性率は脈管侵襲の程度と正の相関を示した .

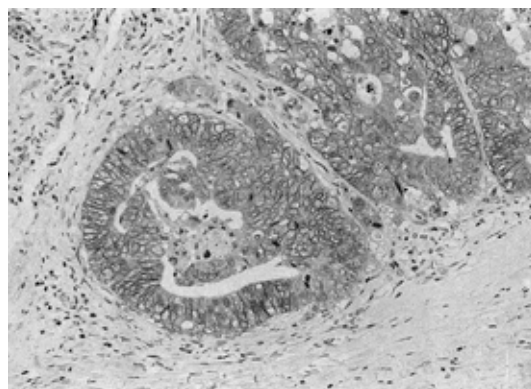


Fig. 3 Immunohistochemical staining of *c-erb* B-2. *c-erb* B-2 is noted especially at the membranes and in the cytoplasm of tumor cells. ( ABC method × 200 )

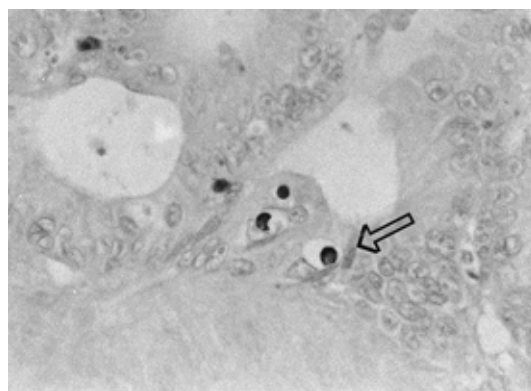


Fig. 4 Apoptosis cells are observed among glandular portion of the carcinoma ( arrow ). ( TUNEL method × 400 )

### 3 . TUNEL 法染色

TUNEL 法による染色で陽性を示した apoptosis 細胞 ( Fig. 4 ) の標識率を腫瘍の血管侵襲，分化度および 2 種類の抗体による免疫染色結果との関係は Table 2 に示した . 血管侵襲の程度によって分類した群の apoptosis 標識率を比較したが，血管侵襲の程度の軽い症例に TUNEL 陽性細胞は有意に多く見られた . しかし，腫瘍組織の分化度 ( 高分化腺癌と中分化腺癌 ) と apoptosis 標識率の間には差異は認められなかった . p 53 陽性群より陰性群の apoptosis 標識率が高いが，これは危険率 5% 以下をもって有意差があると判定された . *c-erb* B-2 の陽性群と陰性群間には有意差は見られなかった .

腫瘍浸潤の先端部周囲には多数の炎症細胞浸潤が見られた . その炎症細胞浸潤と apoptosis 標識率の関連性を Table 3 に示した . 腫瘍浸潤の先端部と中心部の apoptosis 標識率には，統計学的に有意差を持って相異が見られ，腫瘍中心部より浸潤先端部の apoptosis の

Table 1 Correlation between immunohistochemical expression and vessel invasion

	n	p53		c-erb B-2	
		+	-	+	-
	57	34 ( 59.6% )	23 ( 40.4% )	45 ( 78.9% )	12 ( 21.1% )
Vascular invasion					
High ( v <sub>2</sub> -v <sub>3</sub> )	38	27 ( 71% )	11 ( 29% )	34 ( 89.5% )	4 ( 10.5% )
Low ( v <sub>0</sub> -v <sub>1</sub> )	19	7 ( 37% )	12 ( 63% )	11 ( 57.9% )	8 ( 42.1% )
Lymphatic invasion					
High ( ly <sub>2</sub> -ly <sub>3</sub> )	35	24 ( 69% )	11 ( 31% )	31 ( 88.6% )	4 ( 11.4% )
Low ( ly <sub>0</sub> -ly <sub>1</sub> )	22	10 ( 45% )	12 ( 63% )	14 ( 63.6% )	8 ( 36.4% )

\*: p &lt; 0.01    \*\*: p &lt; 0.05

Table 2 Correlation between apoptosis index and various parameters

	n = 49	apoptosis index	P value
Vascular invasion			
High	31	2.38	p < 0.05
Low	8	2.90	
Grade of differentiation			
Well	22	2.51	NS
Moderately	27	2.55	
p53 staining			
Positive	30	2.38	p < 0.05
Negative	19	2.81	
c-erb B-2 staining			
Positive	41	2.62	NS
Negative	8	2.43	

Table 3 Correlation between apoptosis index and inflammatory cell infiltration

	n	apoptosis index	P value
Inflammation ( strongly )	32		
Front		2.77	p < 0.01
Center		2.21	
Inflammation ( weakly )	17		
Front		2.41	NS
Center		2.10	
Total	49		
Front		2.56	p < 0.05
Center		2.13	

標識率が高かった。特に先端部において炎症細胞が多い症例では、先端部と中心部の apoptosis 数に著明な差異が見られ、危険率 1% 以下をもって有意差を認めた。炎症細胞浸潤の少ない症例では、先端部と中心部の apoptosis に差が少なく、統計学的有意差は見られなかった。

#### 4. 電顕的所見

腫瘍細胞は腺上皮細胞に特徴的な構造が見られ、核小体の明瞭な大型核およびミトコンドリアやポリゾームといった豊富な細胞小器官を有する胞体を示した。その腫瘍細胞間には核内クロマチンの核膜周辺への凝集を示し、胞体にも軽度の収縮像を示す apoptosis に陥った腫瘍細胞が認められた ( Fig. 5 )。腫瘍周囲間質には、組織球、好中球、そして形質細胞など炎症細胞浸潤も見られた。

#### 5. 生存率に関して

当院開院から現在まで 5 年未満のため、観察期間は未だ 40 カ月に留まるが、p 53、c-erb B-2、血管侵襲など各項目に対する生存率を計算してみた ( Fig. 6 )。40 カ月の生存率は p 53、c-erb B-2 の陽性群と陰性群、脈管侵襲の程度に関して差は認められなかった。

#### 考 察

近年、大腸癌の生物学的悪性度の指標の一つとして腫瘍先進部の組織学的浸潤様式、細胞生物学的因子の発現様式が注目されている。これは多彩な組織像および細胞生物学的特徴を有する大腸癌の腫瘍組織の中において、浸潤増生の役割を担う先進部の腫瘍組織の特徴を解析することで、腫瘍細胞の生物学的な特徴をより詳細に解析することが可能になると考えられること

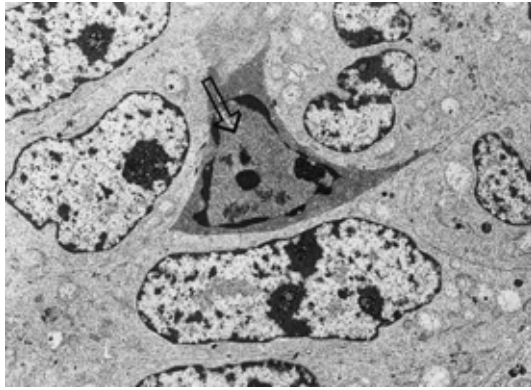


Fig. 5 Electron micrography of tumor. Apoptotic cell ( arrow ) is characterized by the margination of condensed chromatin and the irregular in cell shape.( × 4000 )

による．大腸癌浸潤先端部においては宿主の炎症細胞が先進部周辺へ浸潤する像が見られるが，これは宿主の腫瘍組織に対する抵抗性を示すと考えられる現象である．本研究では組織学的に腫瘍細胞のたけの減少と腺腔を形成する腫瘍細胞が脱落，消失するといった通常腺管や腺腫には認められない所見が浸潤先端部に目立つ点に注目した．さらに TUNEL 法を用いた先進部の apoptosis 細胞の出現頻度については，腫瘍浸潤の先進部と中心部間の apoptosis 標識率の相異が腫瘍周辺部間質への炎症細胞浸潤の程度と関連することが示唆された．炎症細胞の浸潤が腫瘍細胞の apoptosis の促進に関与することが示唆された．最近，腫瘍細胞に対する組織球の細胞障害性が一酸化窒素を介して行われていることが知られ，さらに一酸化窒素の細胞障害性の機序の一部に，apoptosis が関与する可能性も指摘されている<sup>4,5</sup>．そのほかに cytotoxic T lymphocyte は target 細胞の apoptosis を誘導することが知られている<sup>6,7</sup>．以上のことから，今回の実験において示された所見は，腫瘍先端部位に見られる多彩な炎症細胞浸潤が腫瘍細胞の apoptosis 発生を誘導している可能性を示唆するものと考えられた．

次に本研究では p 53 陽性率と apoptosis 標識率の逆相関の関係が見られ，脈管侵襲とは正の相関を示した．

緒言にも記したように免疫染色で強陽性を示す p 53 は，変異型 p 53 の過剰発現を示唆しているものと考えられており，さらに変異型 p 53 は apoptosis を抑制するとの報告も見られる<sup>8-12</sup>．したがって，免疫組織化学的に p 53 陽性例では p 53 の変異が高率に見られ，p 53 遺伝子自身は不活化されるため癌の増生進展を抑制することができず，より強い増殖性を示すものと考えられる．本研究においても，進行大腸癌の 59.6

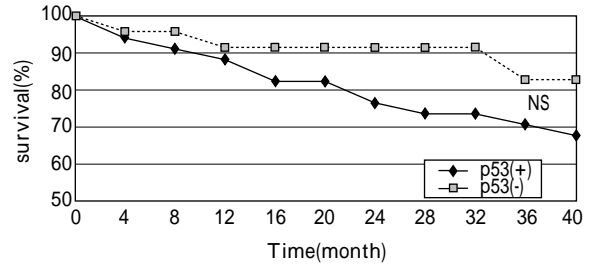


Fig. 6 a Survival curves with p 53 expression

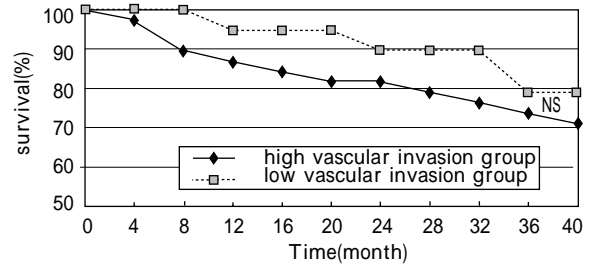


Fig. 6 b Survival curves with vascular invasion

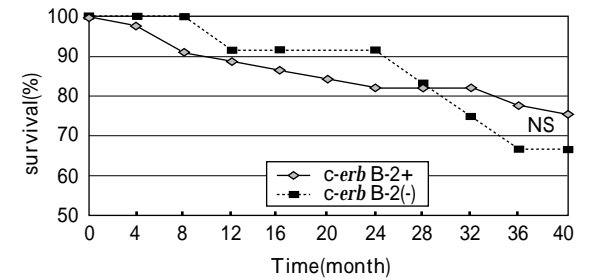


Fig. 6 c Survival curves with c-erb B-2 expression

%といった高い頻度に検出された．特に脈管侵襲の高度な症例では p 53 陽性率は 71% と高く，脈管侵襲の乏しい症例と比較し統計学的に有意差を示した．変異のため不活化される p 53 を多く含む腫瘍では脈管侵襲に代表される侵襲力が強いと考えられ，p 53 の高い陽性率を示し，大腸癌の強い進展傾向との関連性が示唆され，腫瘍の血行性転移促進に関連していると推察された．

一方，p 53 陰性例では apoptosis 標識率が高く，野生型 p 53 が apoptosis の発生に有利な条件を提供していることが示唆された．Apoptosis には正常組織の形成と腫瘍発生に関連するものが知られており<sup>13-15</sup>，その発生は細胞周期依存性と非依存性に分類されている．前者においては p 53 ,Rb ,bcl-2 などの遺伝子の発現と関連し，後者においては種々の細胞障害性因子（放射線，炎症など）との関連性が示唆されており，特に今回の研究結果は apoptosis 標識率に対し，p 53 や炎症細胞浸潤との関連が見られ，その理論に沿ったものと考えられる．細胞周期依存性を持つ apoptosis 細胞は

p 53 に誘導されているが、細胞周期非依存性の apoptosis 発生は他の因子により誘導されたと考えられる。近年細胞表面に存在する death domain に相当する Fas ( APO-1/CD 95 ) に、炎症細胞 ( 活性 cytotoxic T 細胞, NK 細胞, 組織球 ) の表面に発現する Fas L が結合することで, apoptosis が誘導されることが知られている<sup>16</sup>。本研究でも腫瘍先進部の apoptosis について炎症細胞の誘導が存在する可能性が示唆された。

c-erb B-2 は EGF レセプタ - 遺伝子に類似した癌遺伝子で、腺癌においては過剰発現していることが知られており、予後因子としての重要性が示唆されている<sup>17-19</sup>。本研究の結果は c-erb B-2 の染色態度と p 53 の染色態度は一致した。高度脈管侵襲群では高い陽性率を示し、p 53 の陽性率と同じ意味で予後推定に関連することが示唆された。

腫瘍の侵襲力の一部は、脈管侵襲に関連している。本研究の結果は、脈管侵襲の程度の強い症例は apoptosis 指数において低くなり、両者の逆相関を認めた。強い腫瘍侵襲力は apoptosis の発生に抑制的に作用していると考えられ、この結果はこれまでの報告にも一致していた<sup>20</sup>。

p 53 遺伝子は脈管侵襲を含む腫瘍の増殖能の抑制および apoptosis の誘導などの作用を示したが、特に p 53 に関する生存率は陽性症例の方が低くなるという報告があり、p 53 は腫瘍進展の重要な予後推定因子であることが示唆された<sup>21-23</sup>。しかし、p 53 と生存率の関連はないとする報告も見られ<sup>24,25</sup>、その関連性についてはさらに検討する必要がある。本研究では p 53 陽性症例の術後 40 カ月の時点での生存率は 67.8% で、陰性症例の 82.7% と比較してやや低かったが、統計学的には有意差は認めなかった。その理由の一つには観察期間が未だ短いためと考えられ、今後 5 年生存率についてさらに follow up が必要と考えられる。

## 結 論

進行大腸癌の組織学的所見における増殖形式、p 53、c-erb B-2 の局在ととの間の関連性および TUNEL 法と電顕から見た apoptosis 細胞との関連性を検討した。

1) 腫瘍の脈管侵襲を含めた腫瘍進展は、p 53 c-erb B-2 との間にそれぞれ正の相関性が見られ、予後推定因子になりうる可能性が示唆された。

2) 大腸癌の浸潤先端部に見られる腫瘍細胞にたけの減少と細胞の脱落、消失するといった現象は、癌細胞における apoptosis の発生が関与している可能性が示唆された。

3) Apoptosis の発生は癌抑制遺伝子 p 53 の陽性率ならびに腫瘍組織の侵襲力との間に逆相関の関係が見られ、予後推定因子となる可能性が示唆された。

4) 腫瘍周辺部に見られる炎症細胞浸潤が腫瘍細胞の apoptosis の誘導に関与する可能性が示唆された。

本研究に対し、多大なご協力を頂いた千葉北総病院病理部の技師諸兄に深謝致します。

## 文 献

1. Ieda S, Watatani M, Yoshida T, Kuroda K, Inui H, Yasutomi M: Immunohistochemical analysis of p 53 and ras p 21 expression in colorectal adenomas and early carcinomas. *Surg Today ( Jpn J Surg )* 1996; 26: 230-235.
2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257.
3. Cummings MC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 88-101.
4. Sumitani K, Kamijo R, Nagumo M: Cytotoxic effect of sodium nitroprusside on cancer cells: Involvement of apoptosis and suppression of c-myc and c-myb proto-oncogene expression. *Anticancer Res* 1997; 17: 865-871.
5. Ho YS, Wang YJ, Lin JK: Induction of p 53 and p 21/WAF 1/CIP 1 expression by nitric oxide and their association with apoptosis in human cancer cells. *Mol Carcinogenesis* 1996; 16: 20-31.
6. Berke G: PELs and the perforin and granzyme independent mechanism of CTL-mediated lysis. *Immunol Rev* 1995; 146: 21-31.
7. Berke G: Killing mechanisms of cytotoxic lymphocytes. *Current Opinion in Hematol* 1997; 4: 32-40.
8. Kobayashi M, Watanabe H, Ajioka Y, Yoshida M, Hitomi J, Asakura H: Correlation of p 53 protein expression with apoptotic incidence in colorectal neoplasia. *Virchows Archiv* 1995; 427: 27-32.
9. Tomita Y, Bilim V, Kawasaki T, Takahashi K, Okan I, Magnusson KP, Wiman KG: Frequent expression of Bcl-2 in renal-cell carcinoma carrying wild-type p 53. *Internat J Cancer* 1996; 66: 322-325.
10. Tamura T, Aoyama N, Saya H, Haga H, Futami S, Miyamoto M, Koh T, Ariyasu T, Tachi M, Kasuga M, Takahashi R: Induction of Fas-mediated apoptosis in p 53-transfected human colon carcinoma cells. *Oncogene* 1995; 11: 1939-1946.
11. Ohashi M, Sugikawa E, Nakanishi N: Inhibition of p53 protein phosphorylation by 9-hydroxyellipticine: A possible anticancer mechanism. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86: 819-827.
12. Polyak K, Waldman T, He TC, Kinzler KW, Vogelstein B: Genetic determinants of p 53-induced apoptosis and growth arrest. *Genes and Development* 1996; 10: 1945-1952.
13. 太田成男: アポト - シスと関連疾患. *日医大誌* 1997; 64: 73-76.
14. Payne CM, Bernstein H, Bernstein C, Garewal H: Role

- of apoptosis in biology and pathology: Resistance to apoptosis in colon carcinogenesis. *Ultrastruc Pathol* 1995; 19: 221-248.
- 15 . 赤木忠厚, 芳野 正, 近藤英作: アポト - シスシグナルの受容体とリガンド ( Fas を中心として ): 特に免疫系における役割 . *病理と臨床* 1998; 16: 1494-1499.
  - 16 . Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992; 119: 493-501.
  - 17 . Mori S, Akiyama T, Yamada Y, Morishita Y, Sugawara I, Toyoshima K, Yamamoto T: *c-erb* B-2 gene product, a membrane protein commonly expressed on human fetal epithelial cells. *Lab Invest* 1989; 61: 93-97.
  - 18 . Mori S, Akiyama T, Morishita Y, Shimizu S, Sakai K, Sudoh K, Toyoshima K, Yamamoto T: Light and electron microscopical demonstration of *c-erb* B-2 gene product-like immunoreactivity in human malignant tumors. *Virchows Archiv B Cell Pathol Mol Pathol* 1987; 54: 8-15.
  - 19 . McCann AH, Dervan PA, O'Regan M, Codd MB, Gullick WJ, Tobin BM, Carney DN: Prognostic significance of *c-erb* B-2 and estrogen receptor status in human breast cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 3296-3303.
  - 20 . Glinsky GV, Glinsky VV: Apoptosis and metastasis: A superior resistance of metastatic cancer cells to programmed cell death. *Cancer Letters* 1996; 101: 43-51.
  - 21 . Lanza G Jr, Maestri I, Dubini A, Gafa R, Santini A, Ferretti S, Cavazzini L: p 53 expression in colorectal cancer: Relation to tumor type, DNA ploidy pattern and short-term survival. *Am J Clin Pathol* 1996; 5: 604-612.
  - 22 . Houbiers JG, van der Burg SH, van de Watering LM, Tollenaar RA, Brand A, van de Velde CJ, Melief CJ: Antibodies against p 53 are associated with poor prognosis of colorectal cancer. *Brit J Cancer* 1995; 72: 637-641.
  - 23 . Sirvent JJ, Salvado MT, Santafe M, Martinez S, Brunet J, Alvaro T, Palacios J: p 53 in breast cancer. Its relation to histological grade, lymph-node status, hormone receptors, cell-proliferation fraction ( Ki-67 ) and *c-erb* B-2 Immunohistochemical study of 153 cases. *Histol Histopathol* 1995; 10: 531-539.
  - 24 . 山村卓也, 小笹貴夫, 松崎弘明, 松岡博光, 田中一行, 及川 博, 赤石 治, 月川 賢, 山口 晋: 大腸癌における p 53 蛋白発現の臨床病理学的意義 . *日本大腸肛門病会誌* 1998; 51: 201-208.
  - 25 . Morrin M, Kelly M, Barrett N, Delaney P: Mutations of Ki-ras and p 53 genes in colorectal cancer and their prognostic significance. *Gut* 1994; 35: 1627-1631.

( 受付 : 1999 年 1 月 29 日 )

( 受理 : 1999 年 3 月 18 日 )