

DNA ploidy pattern からみた早期胃癌の予後

金沢大学第2外科

米村 豊 杉山 和夫 鎌田 徹 浦出 雅昭
藤村 隆 長谷川 啓 伏田 幸夫 小坂 健夫
山口 明夫 三輪 晃一 宮崎 逸夫

PROGNOSIS OF EARLY GASTRIC CARCINOMA, WITH SPECIAL REFERENCE TO THE DNA PLOIDY PATTERN

Yutaka YONEMURA, Kazuo SUGIYAMA, Toru KAMATA,
Masaaki URADE, Takashi FUJIMURA, Hajime HASEGAWA,
Sachio FUSHIDA, Takeo KOSAKA, Akio YAMAGUCHI,
Koichi MIWA and Itsuo MIYAZAKI

Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University

早期胃癌100例の細胞核 DNA 量を解析し、予後との関係について検討した。DNA ploidy pattern は diploid 40例 aneuploid 60例であった。diploid では sm 浸潤率52%, リンパ節転移率18%, リンパ管侵襲陽性率30%, 静脈侵襲陽性率5%と aneuploid の各々、70%, 46%, 50%, 22%にくらべ、有意に低率であった。DNA ploidy pattern と予後に関しては diploid では、切除後再発はみられなかった。一方、aneuploid で深達度 sm, 肉眼型が隆起又は混合型では再発が高率にみとめられた。また、aneuploid でも stem line が多峰性にみられる型の予後は最も不良で23例中7例(30%)に再発がみられた。リンパ節転移は diploid でも18%(7/40)にみられ DNA ploidy pattern のみから縮小手術の決定を行なうことはできないと考えられた。一方、aneuploid で sm 浸潤の可能性があれば十分なリンパ節郭法と術後の化学療法が必要であると考えられた。

索引用語：早期胃癌, DNA ploidy pattern, 早期胃癌再発

I. 緒 言

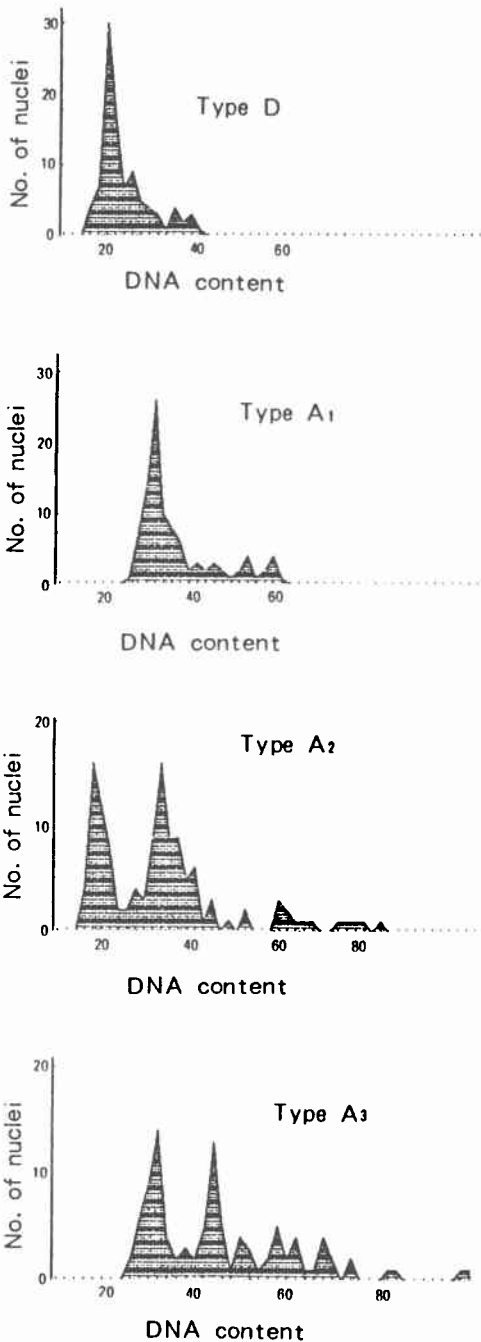
近年、内視鏡・集団検診の普及により本邦では早期胃癌の発見が増加している。早期胃癌の術後遠隔成績は良好であるが、少数例で再発がみられる^{1)~3)}。このように予後のよい早期胃癌に対し一律に R2手術による根治術を行なうか否かについても議論の多いところである²⁾³⁾。そこでわれわれは早期胃癌の DNA ploidy pattern と予後について検討を加えたので報告する。

II. 対象および方法

過去15年間に教室で切除された早期胃癌症例から再発、再燃した13例と生存中の87例を抽出した。これら100例の肉眼型は I 型19例, IIa 12例, IIa+IIc 12例,

IIc+IIa 2例, IIc 42例, IIc+III 13例である。深達度は m 癌35例, sm 癌65例である。DNA 量の定量は杉山らの方法⁴⁾にしたがった。すなわちホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから癌巣を取り出し、細胞単離を行い無蛍光スライドガラスに塗抹後、RNase で処理し、propidium iodide (P.I.) で DNA を染色した。落射型顕微蛍光測光装置 OLYMPUS BH2QRFL (Olympus, Tokyo)にて癌細胞核100~200個およびリンパ球30個の蛍光を測光した。リンパ球30個の平均 DNA 量を2C とし癌細胞核 DNA 量の相対値をヒストグラムとした。DNA ploidy pattern は Hattori の分類⁵⁾にしたがい図1のごとく分類した。2C にピークを有する diploid (D型), と2.4C 以上にピークを有する aneuploid に分けた。さらに aneuploid を単峰性の aneuploid stem line を有する A₁型, diploid と aneu-

図1 DNA ploidy pattern



ploidの2峰性ピークを未すA₂型, およびaneuploidの多峰性ピークを示すA₃型に分類した。

これら100例の早期胃癌は全例, 術前・術後に化学療法は行われず, 手術はR₁~R₃手術が行われた。デー

表1 DNA ploidy pattern と臨床病理学的所見

	DNA ploidy pattern				total
	D	A ₁	A ₂	A ₃	
Gross appearance					
Elevated (I・IIa)	9	5	6	11	31
Mixed (IIa+IIc)	5*	2	4	3*	14
Depressed (IIc, III)	26	7	13	9	55
lymphatic invasion					
negative	28	11	10	9	58
positive	12	3	13	14	42
vessel invasion					
negative	38	12	17	18	85
positive	2	2	6	5	15
lymph node metastasis					
negative	33	9	14	9	65
positive	7	5	9	14	35

* : p<0.01

表2 組織型, DNA ploidy pattern と粘膜下層への浸潤率

	分化型	未分化型
diploid	14/22 (64%)	8/18 (44%)
aneuploid	37/51 (70%) ^{a)}	5/9 (55%)

* a) : p<0.01

ターの解析は χ^2 検定, および生存率はgeneralized Wilcoxon testにより検定し有意差を算出した。また文中の記号はすべて第10版胃癌取扱い規約に従った¹²⁾。

III. 結 果

DNA ploidy pattern はD型40例, A₁型14例, A₂型23例, A₃型23例であった。肉眼型を隆起型(I・IIa型), 混合型(IIa+IIc, IIc+IIa型), 陥凹型(IIc, IIc+III型)に分けDNA ploidy patternをみると, 表1のごとくdiploidの比率は隆起型29%(9/31), 混合型36%(5/14), 陥凹型47%(26/55)と, 陥凹型では隆起型にくらべdiploidが多かった。またaneuploidのうちA₃型が隆起型に多くみられた。深達度ではaneuploidは71%(42/60)がsm浸潤を示したのに対しdiploidでは55%(22/40)とaneuploidのsm浸潤率は有意な高値を示した(p<0.05)。sm浸潤率を組織型別にみると分化型ではaneuploidが70%(37/51), diploidが64%(14/22)にsm浸潤を示し, aneuploidで有意に高率であった(p<0.05)。また未分化型でもaneuploidではsm浸潤の比率が高い傾向を示した(表2)。リンパ管侵襲(ly)ではdiploidで30%(12/40)がly(+)であったが, aneuploidでは50%(30/60)がly(+)であった。aneuploidのなかでもA₂型, A₃型がD型にくらべly陽性率が有意な高値を示した(p<0.01)。静脈侵襲(v)では, diploidでv陽性率は5%(2/40)と低率であったが, aneuploidでは22%(13/60)と高率

表 3 組織型・DNA ploidy pattern とリンパ節転移

	分化型	未分化型	計
diploid	3/22 (14%) ^{a)}	4/18 (22%) ^{b)}	7/40 (18%) ^{c)}
aneuploid	22/51 (44%) ^{a)}	5/9 (56%) ^{b)}	27/60 (46%) ^{c)}

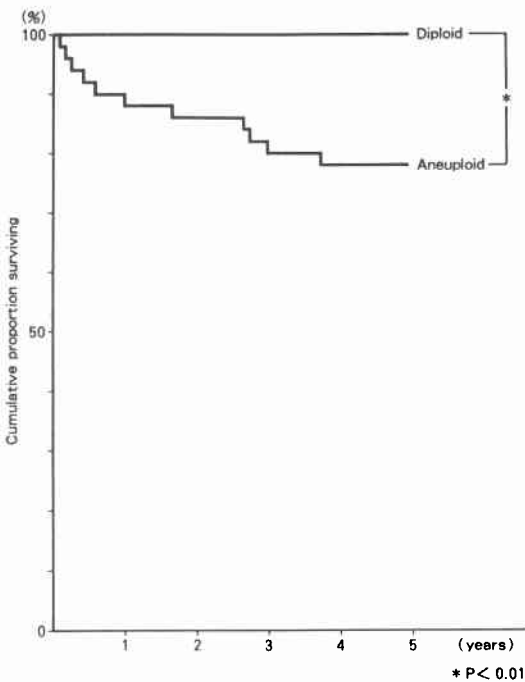
* a) b) c) : p<0.05

表 4 深達度・DNA ploidy pattern とリンパ節転移

	mucosal	submucosal	計
diploid	1/18 (6%)	6/22 (27%) ^{a)}	7/40 (18%) ^{b)}
aneuploid	3/17 (19%)	24/42 (57%) ^{a)}	27/60 (46%) ^{b)}

* a) b) : p<0.05

図 2 DNA ploidy pattern と予後



で、特に A₂型・A₃型ではそれぞれ26%、22%と D 型にくらべ高値を示した(p<0.01)。またリンパ節転移(n)では diploid は17.5% (7/40) に n (+) であったのに対し、aneuploid では47.0% (28/60) と高率で特に A₃では61% (14/23) にリンパ節転移がみられた(表 1)。

組織型・ploidy pattern とリンパ節転移の関係をみると表 3 のごとく分化型 (pap tub)・未分化型 (por, sig, muc) とともに aneuploid でリンパ節転移が高率であった。深達度、ploidy pattern とリンパ節転移の関係は表 4 のごとく m 癌では diploid で 6% (1/18), aneuploid で19% (3/17) にリンパ節転移がみられた。

表 5 肉眼型・DNA ploidy pattern と再発率

macroscopic type	DNA ploidy pattern			
	D	A ₁	A ₂	A ₃
Elevated type (I, IIa)	0/9 (0%)	2/5	2/6	4/11
		8/22 (36%)		
Mixed type (IIa+IIc, IIc+IIa)	0/5 (0%)	1/2	0/4	3/3
		4/9 (44%)		
Depressed type (IIc, III)	0/26 (0%)	0/7	1/13	0/9
		1/29 (3%)		
total	0/40 (0%)	3/14 (21%)	3/23 (13%)	7/23 (30%)

表 6 深達度・DNA ploidy pattern と再発率

	mucosal	submucosal	計
diploid	0/18 (0%)	0/22 (0%)	0/40 (0%)
aneuploid	0/17 (0%)	13/43 (30%)	13/60 (22%)

表 7 再発例の内訳

No.	histologic type	DNA ploidy	macroscopic type	lymph node involvement	site of recurrence	vascular permeation	
						lymphatic	venous
1	pap ¹⁾	A ₃	I	+	N ²⁾	+	-
2	tub	A ₃	I	+	H	+	+
3	pap	A ₃	I	+	P-N	+	+
4	por	A ₁	I	-	H	-	+
5	tub	A ₂	IIc	+	P	+	+
6	pap	A ₂	I	+	H	+	+
7	pap	A ₁	I	+	H	+	-
8	pap	A ₃	I	+	P	+	-
9	muc	A ₁	IIa+IIc	+	N	+	+
10	tub	A ₃	IIa+IIc	+	H	-	-
11	por	A ₃	IIa+IIc	+	H	+	-
12	por	A ₃	IIa+IIc	+	H	-	-
13	pap	A ₂	I	+	N	+	+

1) pap: papillary, tub: tubular, por: poorly differentiated, muc: mucinous adenocarcinoma.
2) N: lymph node, H: liver, P: peritoneal metastasis.

さらに sm 癌では diploid で27%(6/22), aneuploid で57% (24/42) にリンパ節転移がみられ、aneuploid では有意にリンパ節転移が高率であった (p<0.05)。DNA ploidy pattern と予後をみると図 2 のごとく diploid の 5 生率100%, aneuploid 76%と有意に diploid の予後は良好であった。再発率を ploidy pattern 別でみると D 型 0% (0/40), A₁型21% (3/14), A₂型13% (3/24), A₃型32% (7/23) と A₃型で最も再発率が高かった。肉眼型・DNA ploidy pattern と再発率をみると表 5 のように隆起・混合型でも diploid では再発はみられなかったが、aneuploid では隆起型36%(8/22), 混合型44% (4/9), 陥凹型 3% (1/29) に再発がみられた。組織型と DNA ploidy pattern の関係では分化型の aneuploid では18% (9/51) に再発がみられた。一方、未分化型の aneuploid は 9 例と少ないが、うち 4 例 (44%) が再発した。深達度では m 癌の35例では ploidy pattern に関係なく全例生存中であるが、

sm 癌で aneuploid を示した43例中13例(30%)が再発した(表6)。表7は再発例13例のうちわけである。リンパ節転移は12例(92%)、リンパ管侵襲は10例(77%)、静脈侵襲は7例(54%)にみられた。転移臓器は肝が7例と最も多く、リンパ節4例、腹膜3例であった。

IV. 考 察

早期胃癌の切除予後は m 癌で94~100%、sm 癌で85~96%と報告されている^{1)~3)}。早期胃癌の予後を規定する因子には肉眼型、リンパ節転移、脈管像襲、組織型、深達度^{1)~3)}や発育形式⁷⁾⁸⁾がある。このような臨床病理学的予後規定因子に加え、近年、癌の生物学的特性を解明する目的で細胞核 DNA 定量を用いた解析が行なわれている。早期胃癌に関して Inokuchi ら⁹⁾は DNA 量分散幅の広い high ploidy では再発率が高いと報告している。われわれの成績でも diploid の予後は良好で全例生存中であるが、再発死亡した症例は全例 aneuploid であった。また aneuploid でも stem line が多峰性に出現する A₃型の予後が最も不良であった。さらに m 癌では ploidy pattern に関係なく全例生存中であるのに対し sm 癌では aneuploid を示した43例中13例(30%)が再発した。Inokuchi ら⁹⁾は早期胃癌でも深部浸潤傾向の強い Pen-A 型は DNA ploidy pattern が aneuploid を示すことが多く肝転移により死亡する例があると報告している。自験例では diploid では55%が sm 癌であったのに対し aneuploid では71%が sm 浸潤を示した。flow cytometry を用い、増殖能を S 期細胞群から検討した最近の成績でも aneuploid では diploid にくらべ S 期細胞群が多いとする報告が多くみられる⁹⁾¹³⁾¹⁴⁾。すなわち aneuploid では増殖能が高いため早期から粘膜下層へ浸潤するため sm 癌の比率が高くなるものと推察された。しかしながら DNA ploidy pattern と S 期細胞群の比率は相関しないとする成績もあり⁹⁾¹⁵⁾、この点に関しては今後さらに検討が必要と考えられる。組織型と予後に関しては分化型腺癌に肝転移・リンパ節転移が多く、未分化型腺癌にくらべ予後不良であるとする報告が多い^{1)~3)6)7)}。我々の成績では分化型、未分化型とも aneuploid では sm 浸潤率が高く再発率も高率であった。すなわち分化型で aneuploid を示した51例中9例が再発した。また、未分化型では aneuploid は27例中9例(33%)と少ないが、このうち4例(44%)が肝・リンパ節転移で再発死亡した。これら症例は肉眼型は I・IIa+IIc を示す sm 癌で、間質は髄様であった。このような例は未分化型であっても肝転移高度危険群と考え

る必要がある。

肉眼型では隆起・混合型で aneuploid の比率は高く、陥凹型では diploid が多くみられた。従来から報告されているごとく隆起型・混合型の早期胃癌では再発の危険は高いが、この肉眼型でも diploid では14例全例再発を認めなかった。一方、aneuploid では、隆起型の36%、混合型の44%に再発を認めており、このような例は、極めて悪性度の高い群として取り扱う必要がある。

脈管侵襲は早期胃癌の再発、特に肝・リンパ節再発と強い相関がある。西ら³⁾は早期胃癌のリンパ管および静脈侵襲陽性率はそれぞれ20~40%、2~16%と述べている。これを DNA ploidy pattern でみると diploid では ly(+), v(+)は30%、5%であったのに対し、aneuploid ではそれぞれ60%、20%と有意な高値を示した。aneuploid が脈管侵襲をきたしやすいという事実は食道癌¹⁰⁾や乳癌¹³⁾でも報告されている。その原因は明らかではないが、aneuploid では先にのべたごとく増殖活性が高く深部浸潤しやすいため粘膜下層に豊富に存在するリンパ管や静脈を浸潤破壊し脈管内へ侵入しやすいのではないかと考えられている。リンパ節転移に関しては、一般に m 癌で0~4%、sm 癌で7~18%に転移がみられ¹³⁾、大部分の症例は第2群リンパ節転移にとどまっており、極めてまれに第3群以上のリンパ節に転移がみられるとされている。われわれの成績では DNA ploidy pattern とリンパ節転移の関係は m 癌で diploid の1例(6%)、aneuploid の3例に(19%)、sm 癌で各々6例(27%)、24例(57%)にリンパ節転移がみられた。このように diploid でもリンパ節転移がみられることから、術前生検で得た材料を用いて DNA ploidy pattern を測定した¹¹⁾としても ploidy pattern のみから縮小手術の適応を決定することはできないと考えられる。したがって早期胃癌の手術は癌占居部位を考慮した R₁₋₂手術が必要であるが、sm で aneuploid を示す例には pm 癌に準じた郭清が必要と考えられた。また深達度 sm・肉眼型隆起または混合型で DNA ploidy pattern が aneuploid を示す例には選択的に術後の化学療法と厳重な追跡が必要と考えられた。

V. 結 語

早期胃癌100例を DNA ploidy pattern から予後を検討した。

1. 100例中 diploid は40例 aneuploid は60例であった。

2. 再発は diploid ではみられず, aneuploid で深達度 sm, 肉眼型が隆起または混合型に多くみとめられた。

3. aneuploid でも stem line が多峰性にみられる型の予後が最も不良であった。

4. リンパ節転移は diploid でもみとめられることから DNA ploidy pattern のみで縮小手術の決定を行うことは危険である。一方, aneuploid で sm 浸潤の可能性があれば pm 癌に準じた郭清が必要と考えられた。

5. 深達度 sm で肉眼型が隆起型または混合型で aneuploid を示す例は術後に化学療法が必要と考えられた。

文 献

- 1) 大森幸夫, 本田一郎: 早期胃癌の術後再発. 臨外 42: 1179—1185, 1987
- 2) 岩永 剛, 古河 洋, 神前五郎: 早期胃癌における術後再発形成とその問題点. 臨外 31: 29—35, 1976
- 3) 西 満正, 野村秀洋, 朝沼 榎: 予後追跡調査からみた早期胃癌の問題点. 総合臨 30: 279—304, 1981
- 4) 杉山和夫, 米村 豊, 鎌田 徹ほか: Stage I・II 胃癌における核 DNA ploidy pattern の解析. 日消外会誌 19: 726, 1986
- 5) Hattori T, Hosokawa Y, Fukuda M et al: Analysis of DNA ploidy patterns of gastric carcinomas of Japanese. Cancer 54: 1514—1547, 1984
- 6) 井口 潔, 古沢元之助, 副島一彦ほか: 早期胃癌(表在癌)の臨床病理学的解析. 癌の臨 13: 1017—1024, 1967
- 7) 佐野量造, 広田映五, 下田恵和ほか: 早期胃癌再発

死亡例の病理学的検討. 胃と腸 5: 531—540, 1970

- 8) Inokuchi K, Kodama Y, Sasaki O et al: Differentiation of growth patterns of early gastric carcinoma determined by cytophotometric DNA analysis. Cancer 51: 1138—1141, 1983
- 9) Moran RE, Black MM, Alpert L et al: Correlation of cell cycle kinetics, hormone receptor, histopathology, and nodal status in human breast cancer. Cancer 54: 1586—1590, 1984
- 10) Sugimachi K, Ide H, Okamura T et al: Cytophotometric DNA analysis of mucosal and submucosal carcinoma of the esophagus. Cancer 53: 2683—2687, 1984
- 11) Czerniak B, Hertz F, Koss L: DNA distribution patterns in early gastric carcinomas. A feulgen cytometric study of gastric brush smears. Cancer 59: 113—117, 1987
- 12) 胃癌研究会編: 第10版胃癌取扱い規約. 金原出版, 東京, 1985
- 13) McDivitt RW, Stone KR, Kraig B: A proposed classification of breast cancer, based on kinetic information. Divided from a comparison of risk factor in 168 primary operable breast cancer. Cancer 57: 269—276, 1986
- 14) Moran RE, Black MM, Alpert L: Correlation of cell cycle kinetic, hormone receptor, histopathology, and nodal status in human breast cancer. Cancer 54: 1586—1590, 1984
- 15) Armitage NC, Robins R A, Evans DF: The influence of tumor cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. Br J Surg 72: 828—830, 1985