日消外会誌　22（9）：2223～2229，1989年

第3群リンパ節転移陽性早期胃癌の検討
（核DNA量からみたリンパ節転移について）

長崎大学医学部第1外科
長崎大学医療技術短期大学部*

石川　啓　平野　達雄　田川　泰　中越　享
清水　輝久　草野　裕幸　宮下　光世　高平　良二
下山　孝俊　富田　正雄　三浦　敏夫*

A STUDY ON EARLY GASTRIC CANCER IN ASSOCIATION WITH METASTASIS OF n_3 LYMPHNODE WITH SPECIAL REFERENCE TO CELLULAR DNA CONTENT

Hiroshi ISHIKAWA, Tatsuo HIRANO, Yutaka TAGAWA, Tohru NAKAGOE, Teruhisa SHIMIZU, Hiroyuki KUSANO, Kosei MIYASHITA, Ryouji TAKAHIRA, Takatoshi SHIMOYAMA, Masao TOMITA and Toshio MIURA*

The First Department of Surgery, Nagasaki University of Medicine,
The School of Nagasaki University Allied Medica Science*

$n_{3(+)}$早期胃癌5例の原発巣と転移リンパ節の核DNA量をフローサイトメーターを用いて測定し，特に核DNA量の面からリンパ節転移の特徴を検討した．$n_{3(+)}$早期胃癌には深達度sm，占居部位A，肉眼型IIa＋IIcが多い傾向が認められ，第3群リンパ節の中では12番リンパ節に転移の頻度が高く，その予後は著しく不良であった．また原発巣の核DNA量はn-numberの増加に伴って，DNA aneuploidyが優位となり，$n_{3(+)}$症例では3例すべてDNA aneuploidyであった．$n_{3(+)}$症例における原発巣と転移リンパ節のDNA index値は3例中2例で一致したが，1例では転移リンパ節においてDNA multiploidyを示した．

索引用語：第3群リンパ節転移陽性早期胃癌，早期胃癌組織（リンパ節）核DNA量，フローサイトメトリー

はじめに

早期胃癌の治療成績はきわめて良好であり，その5年生存率も90%以上に達している．しかしながら，5～20%にリンパ節転移陽性例が認められ[1)~3)]，頻度は少ないものの第2群リンパ節，第3群リンパ節に転移を認める（以下$n_{2(+)}$，$n_{3(+)}$と略す）症例も散見され，当然それらの予後はいちじるしく不良である．そこで今回われわれは，早期胃癌のなかでも悪性度が高いと思われる$n_{3(+)}$症例について，その臨床病理学的因子を検討するとともに，原発巣と転移リンパ節の核DNA量を測定し，$n_{1(+)}n_{2(+)}$の早期胃癌およびリンパ節転移陰性（以下$n_{(-)}$と略す）の早期胃癌と比較することにより，核DNA量の面より$n_{3(+)}$早期胃癌のリンパ節転移の特徴を検討した．

＜1989年4月12日受理＞別刷請求先：石川　啓
〒852　長崎市坂本町7－1　長崎大学医学部第1外科

対象と方法

1．対象症例

1968年1月より1987年7月までに長崎大学第1外科で切除した多発例，残胃早期癌例を除いた早期胃癌370例中$n_{3(+)}$の5例を対象とした．なお，370例中$n_{(-)}$は317例（85.6%）であり，$n_{1(+)}$は28例（7.6%），$n_{2(+)}$は20例（5.4%），$n_{3(+)}$は5例（1.4%）であった．$n_{3(+)}$の5例はすべて男性であり，平均年齢は63.4歳であった．

2．DNA測定法

材料はホルマリン固定パラフィン包埋組織を利用し，検体処理はB. Schutteら[4]の方法に準じた．すなわち腫瘍の全割面を含むブロックから50μmの切片を3～4枚切り出し，腫瘍部位をtrimmingした．次に，それらの検体をキシレン中で1時間の脱パラフィンを2回繰り返し，100，95，70，50%エタノール中でおのおの30分間再水和を行った．さらに3次蒸留水中で1時間再水和の後，0.25%トリプシンクエン酸バッファー（3mM trisodiumcitrate，0.1%Nonidet P40，1.5mM sperminetetrachloride，0.5mM Tris，pH 7.6）中37℃で12時間撹拌し裸核単離細胞を作製した．Propidium Iodide（以下PIと略す）染色はVindelϕvら[5]の方法に準じた．すなわちクエン酸バッファー（sucrose 250mM，trisodiumcitrate $2H_2O$ 40mM，dimethylsulfoxide zur synthese 50ml，pH 7.6）中の細胞浮遊液200μlにA液（trypsin 15mg，stock solution〔trisodiumcitrate $2H_2O$ 3.4mM，0.1%Nonidet P40，sperminetetrachloride 1.5mM，Tris 0.5mM，DW_3 2,000ml，pH 7.6〕500ml）1.8mlを加え室温で10分間静置した．次にB液（trypsin inhibitor 250mg，RNase A 50mg，stock solution 500ml，pH 7.6）1.5mlを加え室温にて10分後さらにC液（PI　208mg，spermine tetrachloride 580mg，stock solution 500ml，pH 7.6）1.5mlを加え氷中で30分間染色した．フローサイトメーター（以下FCMと略す）はFACS　IV（Becton Dickinson社製）を用い，488nmのアルゴンイオンレーザーで励起し，580nm long passフィルターを用いて10,000～20,000個の細胞につきそのDNAヒストグラムを表示させた．腫瘍内浸潤リンパ球を内部標準とし，腫瘍細胞のG_0・G_1ピークチャンネル数をこの値で割ることでDNA index値（以下DI値と略す）を求めた．なお0.90<DI≦1.10をDNA　diploidy，DI>1.10をDNA anueploidyと定義した．

3．統計学的解析

統計学的有意差の検定にはχ^2検定を用い，$p<0.05$をもって有意差と評価した．

結　果

早期胃癌370例を$n_{3(+)}$の5例とそれ以外の365例に分け，臨床病理学的に検討した．深達度では，粘膜層癌（m癌）において$n_{3(+)}$が2例（40%）に対し，$n_{3(-)}$は179例（49%）であり，粘膜下層癌（sm癌）では$n_{3(+)}$が3例（60%）に対し，$n_{3(-)}$は186例（51%）であり，sm癌で$n_{3(+)}$が多い傾向であったが有意差は認められなかった．占居部位では，$n_{3(-)}$がM領域に190例（52%）と多いのに対し，$n_{3(+)}$では4例（80%）がA領域であったが，有意差は認められなかった．肉眼型では$n_{3(-)}$にIIc，IIc+IIIと陥凹型が多く，一方$n_{3(+)}$においてはIIa+IIcが多く認められた．組織型では$n_{3(-)}$でtub_1，tub_2，porがおのおの26.8%，25.5%，20.0%に対し，$n_{3(+)}$でもtub_2 2例，por 2例，pap 1例と，両者間に有意差を認めなかった（**表1**）．

表1　$n_{3(+)}$症例の臨床病理学的特徴

（χ^2-test）

		$n_{3(-)}$	$n_{3(+)}$	
深達度	m	179（49）	2（40）	n.s.
	sm	186（51）	3（60）	
占居部位	A	139（38）	4（80）	n.s.
	M	190（52）	1（20）	
	C	36（10）		
肉眼型	I	30（8.2）		n.s.
	IIa	33（9.0）	1（20）	
	IIb	5（1.4）		
	IIc	204（55.9）		
	IIa+IIc	42（11.5）	3（60）	
	IIc+III	43（11.7）	1（20）	
	IIc+IIa	7（2.0）		
	他	1（0.3）		
組織型	pap	27（7.4）	1（20）	n.s.
	tub1	98（26.8）		
	tub2	93（25.5）	2（40）	
	por	73（20.0）	2（40）	
	sig	68（18.6）		
	muci	5（1.4）		
	他	1（0.3）		

図1　早期胃癌$n_{3(+)}$症例

症例	年齢・性	肉眼型	組織型	深達度	部位・大きさ			予後
1	59・♂	IIc	por	sm	MA	12.5×10.0	1y2M	脳転移死
2	65・♂	IIa+IIc	tub2	m	A	3.2×3.5	5M	肺転移死
3	60・♂	IIc+III	por	m	A	2.7×2.2	2y5M	生
4	70・♂	IIa+IIc	pap	sm	A	2.1×3.3	1y11M	後腹膜リンパ節再発死
5	63・♂	IIa+IIc	tub2	sm	A	2.9×2.8	8M	肝転移死

早期胃癌$n_{3(+)}$症例の予後をみると，5例中生存例は1例のみで，症例1は1年2か月で脳転移，症例2は5か月で肺転移，症例4は1年11か月で後腹膜リンパ節再発，症例5は8か月で肝転移といずれの症例も術後5か月から1年11か月の短期間に再発死亡しており，その予後はいちじるしく不良であった（**図1**）．

次に各症例について，リンパ節転移の状況を検討した．腫瘍の占居部位がA領域であった症例2，3，4，5，の中で3例において1番リンパ節（以後①と略す）転移が陽性であり，しかも症例2，3の深達度はmであった．第1群リンパ節の中では，5例中3例に③の

図2　早期胃癌 $n_{3(+)}$症例リンパ節転移分布

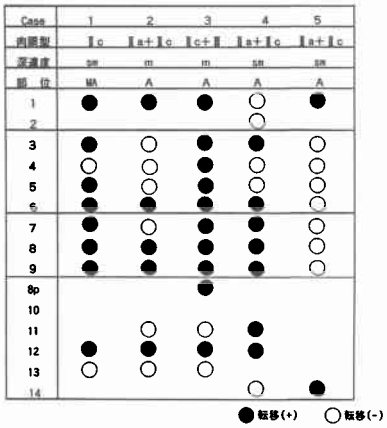


図3　早期胃癌原発巣，転移リンパ節のDNA量

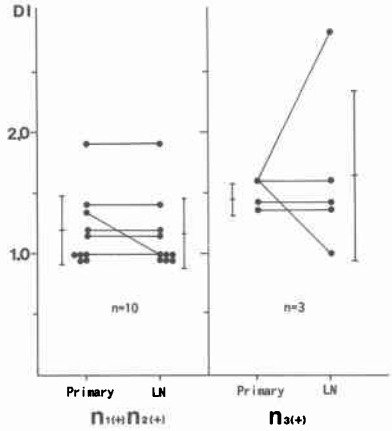
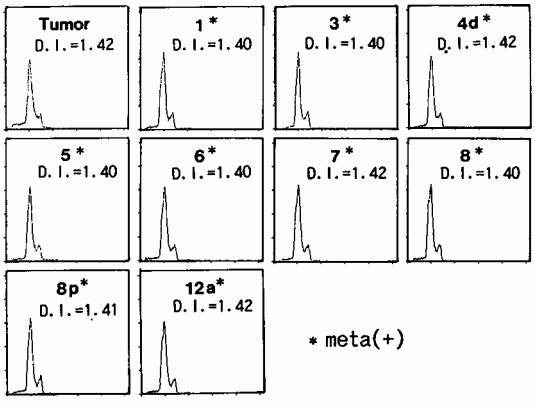


表2　早期胃癌原発巣のDNA ploidy pattern

	$n_{(-)}$	$n_{1(+)}n_{2(+)}$	$n_{3(+)}$
DNA diploidy	9	5	0
	(69%)	(50%)	(0%)
DNA aneuploidy	4	5	3
	(31%)	(50%)	(100%)

図4　DNA histogram of Case 3 60y male (IIc+III, m, por)



転移が陽性であり，5例中4例に⑥の転移も陽性であり，これらのリンパ節に転移の頻度が高い傾向が認められた．また第2群リンパ節では⑦，⑧，⑨に転移の頻度が高く，5例中3～4例に転移陽性であった．第3群リンパ節では4例全例において⑫が転移陽性であった．症例5はA領域の深達度smの腫瘍であったが，第1群リンパ節は転移陰性であり，第2群は①に転移を認め，第3では⑭に転移を認めた症例である(図2)．

次に原発巣の核DNA量について検討した．早期胃癌をリンパ節転移の程度によって，$n_{(-)}$, $n_{1(+)}n_{2(+)}$, $n_{3(+)}$の3群に分けて検討すると，無作為に抽出した$n_{(-)}$群の13例の原発巣ではDNA diploidyが9例（69%）に対し，DNA aneuploidyは4例（31%）であり，$n_{1(+)}n_{2(+)}$群ではおのおの5例ずつであり，$n_{3(+)}$群の3例はすべてDNA aneuploidyであった．すなわち$n_{(-)}$群においてはDNA diploidyが優位であったが，リンパ節転移が高度になるに伴いDNA aneuploidyが優位になる傾向が認められた（表2）．

次に転移リンパ節の核DNA量を測定し，原発巣と比較することにより，リンパ節転移における核DNA量の変化を検討した．早期胃癌の$n_{3(+)}$症例と比較する目的で，$n_{1(+)}n_{2(+)}$の早期胃癌10例について，原発巣と転移リンパ節の核DNA量を測定した（図3）．$n_{1(+)}n_{2(+)}$の早期胃癌10例においては，9例が原発巣と転移リンパ節のDI値は一致したが，1例のみは原発巣がDNA aneuploidyであったが，転移リンパ節ではDI値1.0のDNA diploidyであった．

次に早期胃癌$n_{3(+)}$の6例中DNA量を測定した3例について検討した．図4は症例3．60歳男性，IIc+III, m, por症例のDNAヒストグラムである．原発巣はDI値1.42のDNA aneuploidyであり，転移が陽性のリンパ節①，③，④d，⑤，⑥，⑦，⑧，⑧p，⑫aにおいても，DI値は1.40～1.42の間にあり，原発巣と同一のクローンと考えられた．図5は症例4，70歳男性，IIa+IIc, sm, pap症例である．原発巣のDI値は1.35のDNA aneuploidyであり，転移陰性の①，④d，⑤，⑭cでは単峰性のヒストグラムであったが，転移陽性の

図5　DNA histogram of Case 4 70y male (IIa+IIc, sm, pap.)

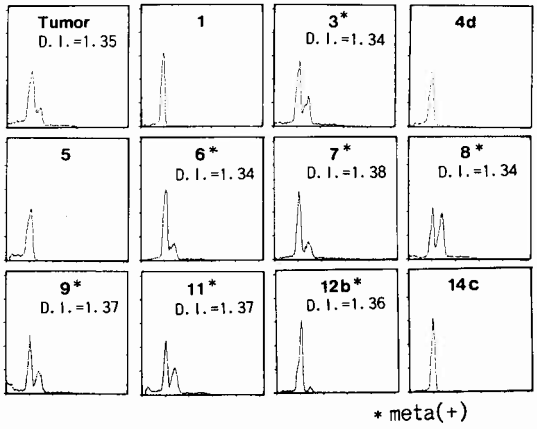
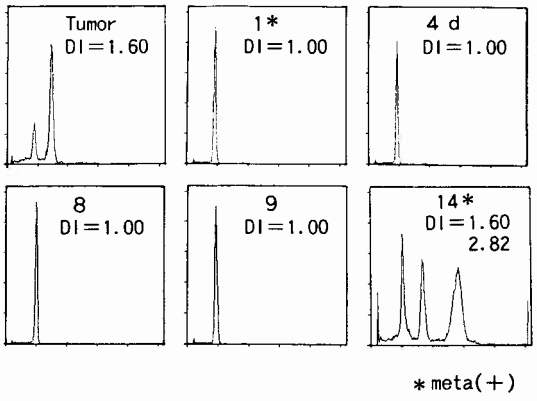


図6　DNA histogram of Case 5 63y male (IIa+IIc, sm, tub_2)



③, ⑥, ⑦, ⑧, ⑨, ⑪, ⑫bではDI値は1.34～1.38の間に分布していた．図6は症例5，63歳男性，IIa+IIc, sm, tub_2症例である．原発巣はDI値1.60のDNA aneuploidyであり，転移陰性の④d，⑧，⑨では単峰性のヒストグラムであったが，転移陽性の①においてもDI値1.00のDNA diploidyであり，一方⑭ではDI値1.60，2.82のDNA multiploidyを認めた．

考　察

FCMの発達，普及により迅速かつ客観的な癌細胞核DNA量の測定が可能になった．さらにパラフィン包埋ブロックを用いた測定も可能となり，胃癌，大腸癌，乳癌をはじめとして多くの固形癌へ応用され，retrospectiveな解析によりリンパ節転移や予後と核DNA量との関係について多くの研究がなされてきた．そこで今回われわれは，早期胃癌の中でも予後が不良であった$n_{3(+)}$症例について臨床病理学的な特徴を明らかにするとともに，原発巣と転移リンパ節の核DNA量を測定し，以下の2点について検討した．すなわち第1点は$n_{3(+)}$症例の原発巣における核DNA量を，$n_{(-)}$および$n_{1(+)}n_{2(+)}$の早期胃癌症例の原発巣と比較検討することにより，$n_{3(+)}$早期胃癌の原発巣における核DNA量の特徴を明らかにした．第2点は，原発巣と転移リンパ節の核DNA量の変化を，$n_{1(+)}n_{2(+)}$早期胃癌症例と$n_{3(+)}$早期胃癌症例で比較検討した．早期胃癌のリンパ節転移の頻度は，報告者によりほぼ一定の傾向が認められた．教室の三浦ら[1]は328例中47例(14.3%)に転移陽性であり，そのうちm癌で7.2%，sm癌で20.5%であったと報告している．吉野ら[2]もm癌で5.3%，sm癌で14.9%，合計10.5%，榊原[3]もm癌で5%，sm癌で20%と報告している．またリンパ節転移の程度については，廣田ら[6]は$n_{1(+)}$6.1%，$n_{2(+)}$2.1%，$n_{3(+)}$ 0%，榊原ら[3]も$n_{3(+)}$症例はなかったと報告し，大原ら[7]の報告においても$n_{3(+)}$はわずかに0.3%であったのに対し，今回の検討では370例中5例(1.4%)と高率であった．

早期胃癌$n_{3(+)}$症例の予後はいちじるしく不良であり，今回の検討でも5例中4例が術後5か月から1年11か月の間に再発死亡した．この中で3例は脳転移，肺転移，肝転移と血行性転移のために死亡しており，かかる症例においては術中の血行遮断とともに，術後の補助化学療法などの工夫が必要であると考えられた．また症例4は後腹膜リンパ節転移の症例であり，⑧⑪⑫の転移が陽性であり，R_3の手術を施行したが，なお⑯への転移の可能性も否定できず，⑧⑪⑫から連続した後腹膜への転移が疑われた．術中におけるリンパ節転移の肉眼診断が困難である現在，このような広範なリンパ節転移症例に対する外科治療においては，早期胃癌といえども進行癌に準じた術式の選択が必要であると考えられた．

早期胃癌$n_{3(+)}$症例のリンパ節転移の分布を検討すると，占居部位がA領域にある4例中3例に①の転移が陽性であり，しかも深達度がmである症例2，3の2例においても陽性であった．吉川ら[8]もA(AM)の早期胃癌症例においては，第2群リンパ節である①は転移が比較的高率に認められるため，⑦同様R_1手術の際にも郭清すべきリンパ節群であると述べている．第2群リンパ節では⑦⑧⑨に転移の頻度が高く，症例5以外は全例⑦⑧⑨のうち2か所以上に転移が認められた．榊原[3]は，転移陽性の第2群リンパ節をみたとこ

ろ，m，sm癌ともに⑦であったと報告し，さらに神前ら[9]も早期胃癌で第2群リンパ節転移は⑦⑧に多いことを示唆している．第3群リンパ節では⑫を郭清した全例において転移陽性であり，その転移頻度の高いことが示唆された．佐々木ら[10]，岡島[11]も低率ながら⑫に転移を認めた症例を報告している．榊原[3]は早期胃下部癌において，術中に胃下部のリンパ流を色素注入法で観察したところ，第1群リンパ節である⑤を介さないで直接第3群リンパ節である⑫へ流入する経路がみられたと報告している．すなわち，第3群と分類されるリンパ節も胃癌占拠部位によっては第1群リンパ節になりうることを念頭におき，より合理的なリンパ節郭清術式の確立が要望される．したがって解剖学的な特徴を考えると，佐々木ら[10]，岡島[11]も強調するように⑫の郭清の意義は大であると考えられた．

次に早期胃癌$n_{3(+)}$症例の原発巣と各転移リンパ節の核DNA量を測定し，早期胃癌$n_{(-)}$，$n_{1(+)}n_{2(+)}$症例と比較検討した．今回使用したパラフィン包埋ブロックを用いた核DNA測定法は，1983年Hedleyら[12]によって報告され，検体としてホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを用いるために，過去の症例に対するretrospectiveな研究が可能であり，またFCMによる解析のため迅速かつ客観的なデータを得ることが可能である．結果における信頼性についても著者[13]が詳細に検討しているごとく，新鮮非固定材料を用いた時と高い相関が認められている．

原発巣の核DNA量について検討すると，早期胃癌$n_{(-)}$症例ではDNA diploidy 9例（69%）に対しDNA aneuploidy 4例（31%）であり，$n_{1(+)}n_{2(+)}$症例ではおのおの5例ずつであり，$n_{3(+)}$の3例はいずれもDNA aneuploidyであった．すなわち，リンパ節転移の程度が進行するにしたがって，DNA aneuploidyの頻度が増加する傾向が認められた．佐々木[14]も44例の胃癌症例をFCMで解析し，DNA aneuploidyを呈する症例では癌の深達度が同じでもリンパ節転移の頻度が高かったと述べている．

次に原発巣と転移リンパ節の核DNA量について検討した．$n_{1(+)}n_{2(+)}$の早期胃癌10例においては，9例で原発巣と転移リンパ節のDI値は一致した．原発巣がDNA aneuploidyであり，転移リンパ節がDNA diploidyを示した1例は，転移リンパ節のH.E.染色による組織所見から，辺縁洞の一部に転移を認めたのみで，その割合が5%以下と考えられた症例であり，かかる場合にはFCMにおけるDNA aneuploidyの検出は困難であると考えられた．

一方，$n_{3(+)}$の3症例におけるDNAヒストグラムでは，症例3，4は原発巣と転移リンパ節のDI値は一致していたが，症例5では原発巣がDI値1.60のDNA aneuploidyであり，転移陽性の①はDNA diploidyであった．この場合もH.E.染色による組織所見より，転移陽性の部分は5%以下であり，FCMによりDNA aneuploidyが検出不能であったものと思われた．また⑭ではDI値1.60のピークの他に2.82のピークが検出されmultiploiyを示した．

ヒト固形腫瘍について，原発巣と転移巣の核DNA量を比較した報告としては，Hattoriら[15]が胃癌9例中8例において原発巣とリンパ節転移のDNA分布パターンが一致したと報告している．また古田ら[16]は，胃癌のリンパ節転移9病巣中8病巣（89%）において原発巣と同じDNA stemlineを示し，残りの1病巣は，原発巣より有意に高値のDNA stemlineであったと述べている．以上のように固形腫瘍の原発巣とリンパ節転移巣における核DNA量は，DNA分布パターンまたはDNA stemlineとして評価した時一致したという報告が多いが，逆に変化したという報告も散見される．転移巣において核DNA量が変化する原因としては，第1に細胞数の少なさに起因したFCMによる検出能の限界が考えられる．われわれの基礎的検討によると，パラフィンブロックを用いたFCMによる解析では少なくとも10%以上のaneuploid cellが存在しないと，DNAヒストグラム上でDNA aneuploidyの検出は不可能であった．第2には腫瘍は性状の均一な細胞から成っているのではなく，染色体の数や形態，他の性質においてもheteroな集団であることが知られている．教室のFukuda[17]は，胃癌による癌性腹膜炎患者の腹水より採取した癌細胞をin vitroにて培養後，クローニングしたところ，その染色体数は90～98の間に分布し，DNAピーク値も53～60に分布していたと述べている．またHattoriら[15]も，ヒト胃癌について57例中9例（16%）に複数のDNA stemlineを認めている．したがってリンパ節転移という過程においては，複数のDNA stemlineのなかから，より均一な細胞集団が選択されて転移巣が形成されることが推定されるし，逆に原発巣においては，少数ながら存在したクローンが転移という過程を経ることで転移巣で優位になることも考えられる．

第3には原発巣の部位によるheterogeneityが考えられる．古田ら[16]は胃癌の原発巣の深達度の異なる2

か所について癌細胞中のDNA量を測定し，16例中11例（69%）で2か所とも同一のDNA stemlineであったと述べている．今回の検討では，$n_{1(+)}n_2$)の早期胃癌10例中9例（90%）において，原発巣と転移リンパ節の核DNA量が一致し，$n_{3(+)}$早期胃癌の3例中2例においても一致した．しかしながら，，転移リンパ節においてmultiploidyを示した症例5では，原発巣にも少数ながら存在していたDI値2.82の細胞集団が転移の過程において選択されることにより転移巣で優位に発現したか，または粘膜内と粘膜下層において異なるDNA量の癌細胞集団が混存し，転移巣においてはよりリンパ管の発達した粘膜下層の細胞集団が転移を引き起こしたものと考えられたが，今回の材料が腫瘍の全割面をトリミングした検体であることを考慮すると，部位によるheterogeneityと考えるよりは，転移の過程における細胞集団の選択と考えた方が妥当であろう．

以上，述べたごとく，$n_{1(+)}n_{2(+)}$の早期胃癌症例においては，原発巣がDNA aneuploidyで，転移リンパ節がDNA diploidyを示したFCMによるDNA aneuploidyの検出不能例と考えられた1例を除き他の9例はすべて原発巣と転移リンパ節のDNA ploidyは一致したが，$n_{3(+)}$早期胃癌では3例中1例に，転移リンパ節においてDNA量の大きな細胞集団が認められた．この事実は，癌細胞は正常細胞と比較して遺伝学的に不安定であって，癌の成長とともに転移能を獲得した変異細胞が出現するというtumor progressionの概念[18]や，Fidlerら[19]の高い転移能を有する細胞は高頻度に突然変異を起こした実験結果からも容易に説明が可能であり，興味深いところである．今後転移を起こしたクローン，特に症例5のように転移の過程で選択がみられたと考えられる細胞集団について，sortingなどの技術を併用することにより，その細胞生物学的な解析が望まれるところである．

まとめ

$n_{3(+)}$早期胃癌の5例について，臨床病理学的に検討するとともに，原発巣と転移リンパ節の核DNA量を測定し，その特徴を明らかにした．

1. $n_{3(+)}$早期胃癌と$n_{3(-)}$早期胃癌を比較すると，臨床病理学的に有意差は認められなかったものの，$n_{3(+)}$早期胃癌には深達度sm，占居部位A，肉眼型IIa＋IIcが多い傾向が認められた．

2. $n_{3(+)}$早期胃癌の予後は著しく不良であり，5例中4例が術後5か月から1年11か月の間に再発死亡した．

3. $n_{3(+)}$早期胃癌においては，①⑦⑧⑨に転移の頻度が高く，第3群リンパ節では⑫に転移の頻度が高かった．

4. 原発巣の核DNA量はn-numberの増加に伴い，DNA aneuploidyが優位となり，$n_{3(+)}$症例では3例すべてDNA aneuploidyであった．

5. $n_{3(+)}$症例において，3例中2例は原発巣と転移リンパ節のDI値は一致したが，1例では，転移リンパ節においてmultiploidyを示した．

文　献

1) 三浦敏夫，石井俊世，下山孝俊ほか：早期胃癌の外科的治療．Modern Physic 7：555—558，1987
2) 吉野肇一，平畑　忍，片井　均ほか：早期胃癌に対する縮小手術の妥当性—手術成績，再発形式，診断能力などからみて—．日外会誌　89：1509—1512，1988
3) 榊原　宣：早期胃癌のリンパ節郭清範囲．日外会誌　88：133—137，1987
4) Schutte B, Reynders MMJ, Bosman FF et al: Flow cytometric determination of DNA ploidy lebel in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. Cytometry 6：26—30，1985
5) Vindelφv LL, Christensen IJ, Nissen NI: A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. Cytometry 3：323—327，1983
6) 廣田映五，海上雅光，板橋正幸ほか：早期胃癌の病理，病理形態と予後．消外　4：295—300，1981
7) 大原　毅，城島嘉昭，定月英一ほか：早期胃癌に対する縮小手術の可能性．消外　8：15—19，1985
8) 吉川時弘，北村正次，荒井邦佳ほか：リンパ節転移からみた早期胃癌の縮小手術．日外会誌　89：1506—1508，1988
9) 神前五郎，小川道雄：早期胃癌に対する幽門側切除の標準手術術式．消外　4：301—308，1981
10) 佐々木廸郎，市川健寛，宮川　明ほか：早期胃癌のリンパ節郭清と手術成績．日臨外医会誌　43：642—649，1982
11) 岡島邦雄：癌のリンパ節郭清をどうするか—胃—．臨外　35：635—642，1980
12) Hedley DW, Friedlander ML, Taylar IW et al: Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological materials using flow cytometry. J Histochem Cytochem 31：1333—1335，1983
13) 石川　啓：パラフィン包埋ブロックを用いたフローサイトメトリーによる核DNA定量の基礎的検討．日臨細胞会誌　27：910—918，1988
14) 佐々木功典：消化器癌のDNA解析．最新医

40：85—87, 1985
15) Hattori T, Hosokawa Y, Fukuda M et al: Analysis of DNA ploidy patterns of gastric carcinomas of Japanese. Cancer **54**: 1591—1597, 1984
16) 古田雄一, 小堀鷗一郎, 森岡恭彦ほか：ヒト胃癌原発巣と転移巣の癌細胞核DNA量についての検討. 癌の臨 33：1777—1782, 1987
17) Fukuda Y: Clonal heterogeneity in gastric cancer cells. Acta Med Nagasaki **31**：346—360, 1986
18) Nowell PC: The clonal evolution of tumor cell populations. Science **194**：23—28, 1976
19) Cifone MA, Fidler IJ: Increasing metastatic potential is associated with increasing genetic instability of clones isolated from murine neoplasma. Proc Natl Acad Sci USA **78**: 6949—6952, 1981