

胃癌の組織型と核 DNA 量に関する臨床病理学的検討

福島県立医科大学第2外科

関川 浩司 土屋 敦雄 佐藤 尚紀
鬼満 圭一 菊地 洋一 石井 芳正
安藤 善郎 吉田 典行 阿部 力哉

HISTOLOGICAL FEATURES OF GASTRIC CANCER AND NUCLEAR DNA CONTENTS

Koji SEKIKAWA, Atsuo TSUCHIYA, Naoki SATO,
Keiichi KIMAN, Yoichi KIKUCHI, Yoshimasa ISHII,
Yoshiro ANDO, Tsuneyuki YOSHIDA and Rikiya ABE

Department of Surgery II, Fukushima Medical College

原発胃癌340例について組織型と臨床病理の各因子、予後、核 DNA 量との関連性について検討した。年齢・性と組織型では高齢層になるに従い分化型癌が多かった。また男性は女性に比べ分化型癌が多かった。病期進行癌と組織型の間には関連性は認められなかった。DNA ploidy パターンと組織型の間には関連性は認められずお互い生物学的に独立した因子と考えられた。組織型別の5生率は乳頭腺癌 papillary adenocarcinoma (pap), 高分化型管状腺癌 well differentiated tubular adenocarcinoma (tub₁), 中分化型管状腺癌 moderately differentiated tubular adenocarcinoma (tub₂), 低分化腺癌 poorly differentiated adenocarcinoma (por), 印環細胞癌 signet-ring cell carcinoma (sig), 膠様腺癌 mucinous adenocarcinoma (muc)それぞれ50%, 76%, 72%, 58%, 27%, 46%であった。さらに tub₁/tub₂でかつ diploid を示した群と por でかつ aneuploid を示した群の5生率は68%, 22%と2群間に有意の差をみ(p<0.05), 組織型と ploidy パターンを組み合わせることにより予後を推定しうらうと思われた。

索引用語：胃癌，胃癌組織型，胃癌核 DNA 量

緒 言

癌細胞の生物学的特性を示す手段の1つとして、従来から形態の面からとらえた組織型が主として用いられてきた。最近病理組織学以外でも生物学的悪性度を評価する方法が種々試みられている。胃癌における組織型分類は以前から種々^{1)~3)}の方法により分類されてきたが、その中で Lauren²⁾は癌の発生母地の観点から胃底腺に発生する低分化型腺癌 diffuse type, 幽門側に多い腸上皮化生粘膜から発生する分化型腺癌 intestinal type と組織型を2分しており、この分類が欧米では広く使われている。一方、我が国では1962年、

胃癌研究会により胃癌取扱規約⁴⁾が定められて以来主にこの規約にそった組織分類が用いられている。

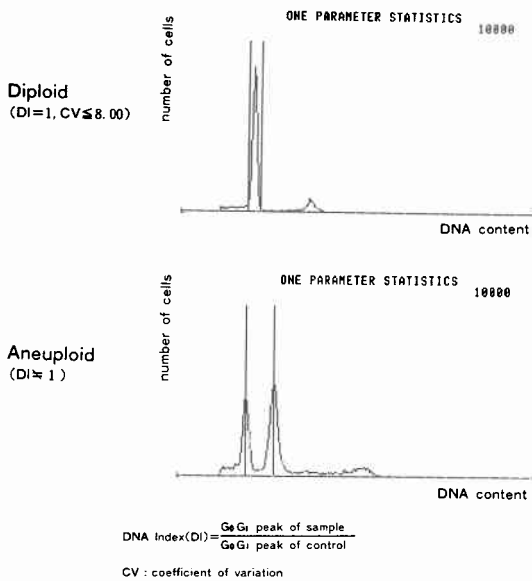
今回、胃癌の性格をより明らかにすることを目的に、切除胃癌340例について各組織型と臨床病理学的各因子との関連について検討するとともに、パラフィン包埋ブロックより測定した核 DNA 量との関係について検討した。

対象と方法

福島県立医大第2外科において1977年から1988年までに胃切除術を施行した原発胃癌340例(男213例, 女127例, 26歳~84歳, 平均年齢59.7歳)を対象とした。組織型および病期進行度は胃癌取扱規約によった。年齢は39歳以下, 40~49歳, 50~59歳, 60~69歳, 70歳以上の5群にわけ、さらに組織学的病期進行度、リン

<1989年9月19日受理>別刷請求先：関川 浩司
〒960-12 福島市光が丘1 福島県立医科大学第2外科

図1 Ploidy パターン



パ節転移, 肝転移, 腹膜転移, DNA ploidy などの臨床病理学的因子と各組織型の出現頻度との関連性について検討した。なお, 本研究では乳頭腺癌 (pap), 管状腺癌の高分化型 (tub₁), 中分化型 (tub₂) を分化型癌とし, 低分化腺癌 (por), 印環細胞癌 (sig) を低分化型癌とした。核 DNA 量の測定は Schutte ら⁵⁾の方法に準じ, 既にわれわれが報告した方法によった⁶⁾。すなわち40 μ m パラフィン包埋ブロック 3 切片を脱パラフィン後, 0.25%トリプシンにて37 $^{\circ}$ C約15時間インキュベーションし, 単離細胞とし, これを Vindel ϕ v の方法を用いて propidium iodide (P.I.) で核染色し, EPICS751フローサイトメーター (Coulter 社, USA) にて測定した。ploidy パターンは G₀G₁ピークが1つのものを diploid, それ以上のものを aneuploid とした (図1)。なお, coefficient of variation (CV) 値 8% 以下のものを評価可能対象例とした。胃癌の核 DNA 量は235例について測定した。臨床病理の各因子と組織型との関連性については χ^2 検定を用いて有意差検定を行った。生存率は Kaplan-Meier 法による累積生存率を求め, ploidy パターン別に比較するとともに, 比較的進行しておりかつ治療手術が施行された stage II・III 症例 (81例) における組織型別生存率, および ploidy パターンと組織型の組み合わせによる生存率を比較した。尚, これらは Logrank test, Wilcoxon test にて, 有意差検定を行った。

図2a 年齢と組織型

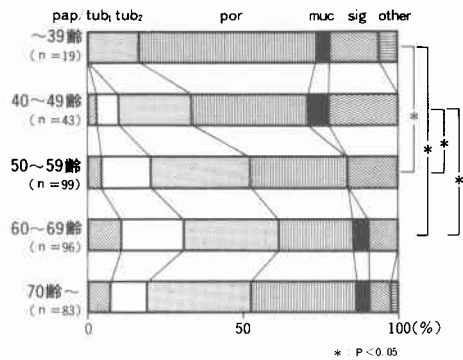
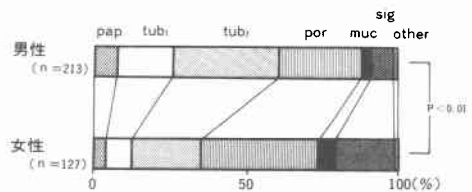


図2b 性別と組織型



結果

1. 年齢・性と組織型

年齢と組織型との関係では高年齢層になるに従い, pap, tub₁, tub₂の出現頻度が高く, 一方, por は若年者群に多くみられた。とくに39歳までの群と50代および60代群, 40代群と50代および60代群の間には組織型の出現頻度に有意の差をみた (p < 0.05) (図2a)。また性別では男性における pap, tub₁, tub₂の出現頻度が 60.2%であったのに対し, 女性では35.7%にすぎなかった。これに対して por は男性で28%, 女性で38.9%であり, sig は男性9.5%, 女性20.6%であった。以上より分化型癌は男性に多く, 低分化型癌は女性に多いといえた (図2b)。

2. 組織学的病期進行度と組織型

病期進行度と組織型については stage I では他の stage に比べ tub₁, tub₂の割合が多く, por が少ない傾向にあったが, 各病期間における組織型の出現頻度に有意の差は認められなかった (図3)。

3. 転移部位と組織型

リンパ節転移, 肝転移, 腹膜転移と組織型との関係については, それぞれの間に有意な関連性は認められなかった。しかし, リンパ節転移陰性群で tub₁, tub₂ が50%であったのに対し, 陽性群では37.4%であった。por は陰性群で27.4%であるのに対し, 陽性群では

図3 組織学的病期進捗度と組織型

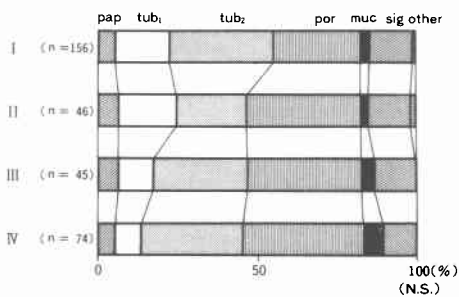


図4a リンパ節転移と組織型

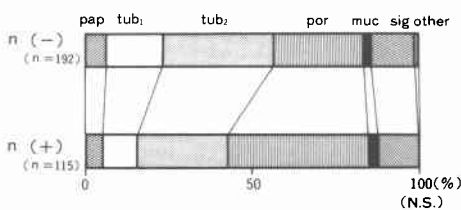


図4b 肝転移と組織型

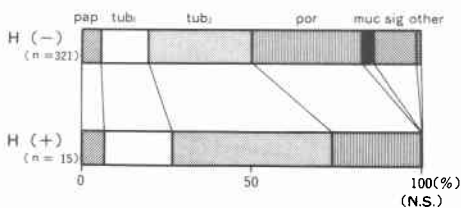
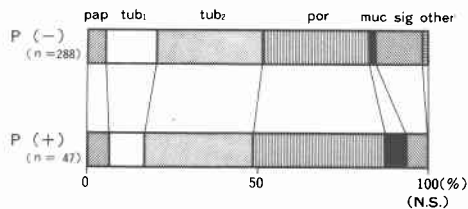


図4c 腹膜転移と組織型



41.7%と、リンパ節転移陰性群に分化型癌が多くみられる傾向にあった(図4a). 肝転移の有無との関係については陰性群で tub₁, tub₂の頻度が併せて44.2%であったのに対し、陽性群では66.7%であり、一方、por, sigは、陰性群で46.9%であったのに対し陽性群では26.7%にすぎなかった(図4b). 腹膜転移の有無と組織型との間にはほとんど頻度の差がみられなかった(図4c).

4. DNA ploidy パターンと組織型

図5 DNA ploidy パターンと組織型

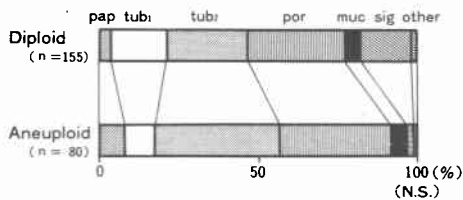


図6 stage II, III 胃癌における組織型別生存率

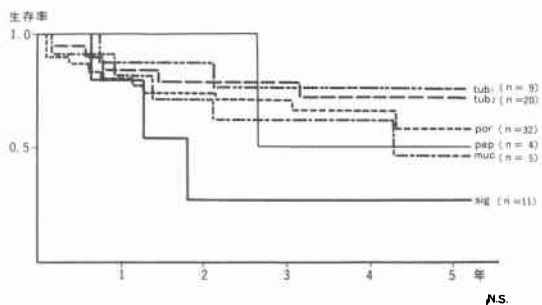
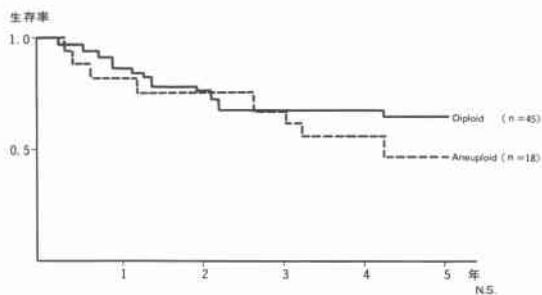


図7 stage II, III 胃癌における DNA ploidy パターン別生存率



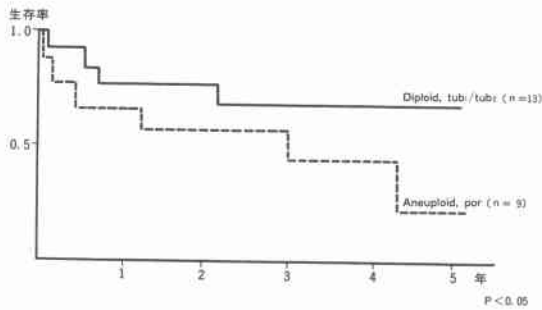
測定対象例235例のうち diploid は155例 (66%) aneuploid は80例 (34%)であり胃癌細胞の核 DNA 量は diploid を示すものが多かった。この DNA ploidy パターンと各組織型の出現頻度を比較してみると両者の間に有意な相異は認められなかった(図5).

5. stage II・III 胃癌における組織型別予後

stage II・III 胃癌の各組織型別についての生存曲線は図6に示した。5生率については pap, tub₁, tub₂, por, muc, sig はそれぞれ、50%, 76%, 72%, 58%, 46%, 27%であった。分化型癌に比べ低分化型癌に予後が悪い傾向にあったが、それぞれの間には有意差はなかった。

6. stage II・III 胃癌における ploidy パターンと組織型の組み合わせによる予後

図8 stage II, III 胃癌における Diploid, tub₁/tub₂症例と Aneuploid, por 症例の生存率



ploidy パターンによる 5 生率は diploid で 64%, aneuploid で 46% であり, diploid が予後良好な傾向を示したが有意の差ではなかった(図 7). そこで組織型で比較的良好な予後の tub₁/tub₂ かつ diploid を示した群と, 組織型で比較的低い生存率の por で aneuploid を示した群とを比較したのが図 8 である. 5 生率は前者が 68%, 後者が 22% であり, 両者間には有意の差をみた ($p < 0.05$).

考 察

現在, 胃癌の治療法は外科的療法が主であり, 診断技術の進歩により早期癌症例がふえ, 早期胃癌の治療成績は満足すべきものが得られている. しかしながら, 進行胃癌の治療成績はいまだ不十分であるといわざるをえない. この癌を制圧するために臨床面では早期発見・早期治療, 手術法の工夫, 適切な補助療法の開発, 薬剤投与法の選択などの面から多くの努力がなされ, 一方基礎的研究の面では癌の生物学的特性をより明らかにする試みがなされている. すなわち, 癌を病理形態学的な面からのみならず, 遺伝子, 核 DNA 量, 各種形質表現の面からみることにより, その悪性度を評価し, さらに高浸潤能, 高転移能を有する細胞を選択し, より詳しく癌の成長様式を把握することにより治療法の選択の一助とするものである. 癌の組織型は形態面からとらえた癌の性格づけの主たる手段であり, 従来からこの組織型と臨床病理因子との関係, 予後との関係, さらに発生母地との関係について多くの報告がなされてきた²⁾⁷⁾⁸⁾. しかし, 胃癌の組織型分類には多くのものがあり, わが国においても種々の分類が使用されてきた. 1962年, 胃癌研究会により胃癌取扱い規約が定められて以来⁴⁾, 広くこの規約による組織型が使われるようになったが細胞のもつ機能的分化度と現在使われている形態学的分化度はかならずしも一致しな

いことがある.

今回われわれは, 胃癌の特性を表す指標の 1 つとしての組織型と臨床病理学的諸因子との関連性についての検討にくわえて, 細胞のもつ機能的分化度を示すと思われる核 DNA 量との関連性について検討した.

Lauren²⁾は胃癌の組織発生について病理組織型学的に検索し, 胃底腺からは低分化腺癌 (diffuse type) がまた腸上皮化生からは分化型癌 (intestinal type) が発生すると述べており, 腸上皮化生は加齢とともに高度となることから高齢者になる程, 分化型癌が多いと結論づけている. このように年齢と組織型に関しては, 一般に若年齢では低分化型腺癌が多く, 高齢者では高分化型腺癌が多いとする報告がみられるが^{2)8)~10)} 今回の検討でも高齢者になるに従い, pap, tub₁, tub₂ の出現頻度が高くなり, 一方, 若年者では por の割合が多い結果が得られた. 性別と組織型に関しては女性が男性に比べて低分化型癌が多い傾向を示したこともこれまでの報告と同様であった⁷⁾¹¹⁾. 予後と密接な関係にある病期と組織型については関連性は認められなかった. 組織型と転移との関係については, 一般にリンパ節転移の有無は予後に大きな影響を及ぼす因子とされており, 高分化型での転移率は低く低分化型, 膠様癌で高い傾向にあるとされている⁷⁾. 今回の検討ではリンパ節転移陰性群に比較し, 陽性群で tub₁/tub₂ の頻度が低く por の出現頻度が高い傾向を示した. 肝転移に関しては高・中分化型癌に肝転移が多いとする報告が多く, 特に紀藤ら⁷⁾は硬性癌では腹膜再発が半数以上あるのに対し, 肝再発は 1 例もなく, 髄様癌では肝再発が半数以上を占め腹膜再発はなかったことから胃癌病巣の間質の変化が転移再発様式に重要であると述べている. 自験例でも H(-) 群での tub₁/tub₂ の占める割合は 44.2% であったのに対し, H(+) 群での tub₁/tub₂ の占める割合は 66.7% であり, H(-) 群での por/sig の占める割合は 46.9% であったのに対し H(+) 群では por/sig は, わずか 26.7% であった.

近年, 癌の悪性度を示す指標の 1 つとして細胞核 DNA 量が注目されている. また 1983年 Hedley ら¹²⁾により, パラフィン包埋ブロックからの核 DNA 量測定の有用性が報告されて以来, この材料を用いた retrospective study が容易になされるようになった. 種々の癌において ploidy パターンと予後との関連性が報告されているが, aneuploid を示す癌の予後は diploid を示す癌に比較し悪いという点で, 多くの報告は一致している^{12)~14)}. 今回の核 DNA 量と組織型との関連に

についての検討では, ploidy パターン別の組織型出現頻度には差は認められず, 組織型と核 DNA 量はお互い生物学的に独立した因子であると考えられた。組織型, ploidy パターンと予後との関連については, 比較的進行しかつ治癒切除術を施行された stage II・III 症例について検討したところ, 組織型や ploidy パターンのみの因子では有意な生存率の差はみられなかった。次にお互い生物学的に独立した2つの因子を組み合わせ, 予後の検討を行った。すなわち, stage II・III 胃癌の中で diploid かつ tub_1/tub_2 の症例と, aneuploid かつ por の症例の2群間での生存率を比較した。この結果5生率において有意の差を持って前者の予後が良好であった($p < 0.05$)。このことから組織型と核 DNA 量を組み合わせる方が, それぞれ単独よりも予後を推知することができると思われる。今後は症例を重ねさらに検討するとともに, 組織型と ploidy パターンにより治療法を選択する prospective study も行っていく予定である。

本論文の要旨は第51回胃癌研究会(1989年熊本)で発表した。

なお, 本研究の一部は文部省科学研究費一般研究 No. 63570602より援助を受けた。

文 献

- 1) Mulligan RM, Rember RR: Histogenesis and biological behavior of gastric carcinoma study of one hundred thirty eight cases. Arch Pathol 58: 1-25, 1954
- 2) Lauren P: The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so called intestinal-type carcinoma. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 64: 31-49, 1965
- 3) 太田邦夫: 胃癌の発生. 日病会誌 53: 3-16, 1964
- 4) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約, 改訂第11版. 金原

出版, 東京, 1962

- 5) Schutte B, Reynders MMJ, Bosman FT et al: Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. Cytometry 6: 26-30, 1985
- 6) 関川浩司, 土屋敦雄, 佐藤久芳ほか: 乳癌パラフィン包埋切片を用いた flow cytometry による核 DNA 量の測定. 医のあゆみ 145: 187-189, 1988
- 7) 紀藤 毅, 山田榮吉, 宮石成一ほか: 進行胃癌における組織型からみた手術成績. 外科 43: 1041-1046, 1981
- 8) 加藤道男, 南 正樹, 井上和則ほか: 胃癌の年齢特異性に関する臨床的病理学的検討. 日消外会誌 12: 832-843, 1979
- 9) 西岡文三, 藤田佳宏, 徳田 一ほか: 若年者胃癌の検討. 癌の臨 24: 1045-1049, 1978
- 10) 大原 毅, 御手洗義貴, 定月英一ほか: 高齢者(70歳以上)の胃癌の特徴と手術の予後. 癌の臨 28: 1603-1607, 1982
- 11) 中村恭一: 胃癌の構造. 医学書院, 東京, 45-51, 1982
- 12) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW et al: Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. J Histochem Cytochem 31: 1333-1335, 1983
- 13) Jones DJ, Moore M, Schofield PF: Prognostic significance of DNA ploidy in colorectal cancer: A prospective flow cytometric study. Br J Surg 75: 28-33, 1988
- 14) Lundberg S, Carstensen J, Rundquist I: DNA Flow cytometry and histopathological grading of paraffin-embedded prostate biopsy specimens in a survival study. Cancer Res 47: 1973-1977, 1987