

胃癌の DNA ploidy pattern と臨床病理学的所見の関連について —分化型腺癌と未分化型腺癌の比較—

浜松医科大学第2外科 (指導: 馬場正三教授)

田 中 雄 二

1978年から83年に浜松医科大学第2外科で切除した胃癌89例について、フローサイトメトリーによる DNA ploidy pattern を解析した結果、分化型胃癌47例では、diploid 22例 (47%), aneuploid 25例 (53%) と半数ずつ占めるのに対し、未分化型胃癌42例では、diploid 29例 (69%), aneuploid 13例 (31%) で、diploid の多い傾向を認めた。分化型胃癌では、進行度に対応して aneuploid の頻度が増し、さらに生存率の検討でも aneuploid 症例は有意 ($p < 0.05$) に不良であり、DNA ploidy pattern と予後との間に関連のあることが示唆された。一方、未分化型胃癌では、このような関連は認められなかった。これは、実質と間質の量比および浸潤増殖様式の因子などにより規定されるためと考えられた。以上より、胃癌細胞核 DNA 量の測定は、分化型胃癌において、生物学的悪性度を反映するよい指標と考えられる。

Key words: DNA ploidy pattern, flow cytometry, histopathology of the gastric cancer

緒 言

近年、癌細胞核 DNA 量と生物学的特性との関連が明らかにされて以来¹⁾²⁾、従来の病理組織学では得られない癌の悪性度に関する新しい知見が積み重ねられている。しかし、胃癌の分野においては、組織型の多様性や硬性型胃癌の処理に対する問題等があり、いまだ十分な統一見解はもたらされていない^{3)~5)}。

本研究は、DNA ploidy pattern による胃癌の生物学的悪性度の解明を目的とし、とくに、胃癌組織の分化度別に見た DNA ploidy pattern と臨床所見との関連およびフローサイトメトリーによる胃癌細胞核 DNA 量測定の問題点について明らかにすることを目標とした。

研究対象および研究方法

I. 研究対象

1978年7月より1983年8月までの6年間に、浜松医科大学第2外科で切除された胃癌症例89例 (早期癌33例、進行癌56例) を対象とした。胃癌取扱い規約⁶⁾による乳頭腺癌 (pap)、管状腺癌高分化型 (tub1)、同中分化型 (tub2) を分化型に分類し、さらに、低分化腺癌 (por)、印環細胞癌 (sig) を未分化型とし、以上の2大

別とした。膠様腺癌 (muc) については進展部の優勢像によって分化あるいは未分化型に分類した⁷⁾。その結果、対象症例は分化型47例、未分化型42例となった。1990年5月現在、消息判明率は、95.2% (87/89) である。

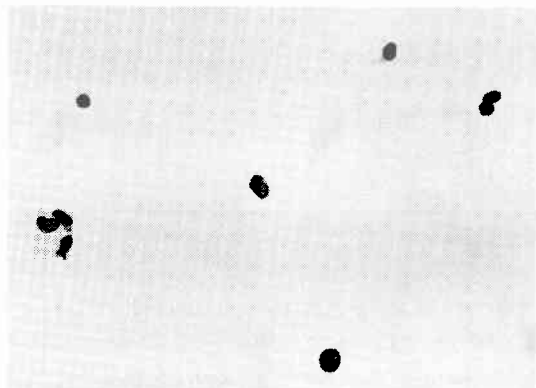
II. 研究方法

1. フローサイトメトリーによる DNA ploidy pattern の解析

a. 単離細胞核の作製

ホルマリン固定後のパラフィンブロックから Hedley らの方法⁸⁾に準じて、単離細胞核を作製した。すなわち、病巣中心部および非癌部上皮のパラフィンブロックから厚さ30 μ mの切片を3枚ずつ切り出し、スライドグラフ上に展開した。キシレン、エタノールにより脱パラ・再水化の後、隣接部の HE 標本を参考に、目的とする部位のトリミングを行った。次に、トリミング部分を、pH 1.5に調整した0.5%ペプシン (Sigma Chemical Co., USA) にて、37 $^{\circ}$ C、30分間インキュベートした。次に、0.01%EDTA液を加え、再生ガーゼを用いて濾過後、0.01Mのリン酸緩衝液 (phosphate buffer solution, PBS) で洗浄した。次に、以上の操作で得られた核浮遊液に1mg/mlのRNase (Sigma Chemical Co.,) を加え、37 $^{\circ}$ C、30分間インキュベートした。これをPBSで洗浄後、70%エタノールで

Fig. 1 Separated cancer cell nuclei of the stomach (papanicolaou stain, $\times 134$)



固定し、 -20°C で保存した。

b. 細胞核 DNA 量の測定

保存した検体を PBS で洗浄後、内部標準としてニワトリ赤血球を加え、その後、propidium iodide ($50\ \mu\text{g}/\text{ml}$)を室温下、30分間反応させ、DNA 染色を行った (Fig. 1)。次に、 $32\ \mu\text{m}$ のナイロンメッシュで濾過後、フローサイトメトリー (EPICS-V, Coulter Electronics, USA)を用いて、 10^4 個の細胞核 DNA 量を測定した。

c. DNA ヒストグラムの解析

大きさと内部構造でゲートをかけ、検体内のデブリスを除いた後、ヒストグラムを作製した。外部標準は、非癌部上皮とした。一方、非癌部上皮および癌巣における核内 DNA 量のピーク・チャンネルを求める際の基準としてニワトリ赤血球を利用し、DNA index を算出した⁹⁾。以上より、DNA ploidy は、ヒストグラムパターンおよび DNA index により決定した。

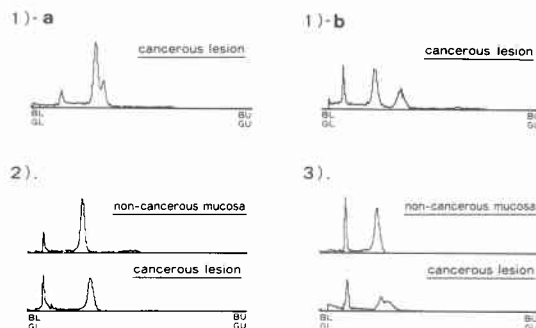
d. DNA ploidy pattern の定義

DNA ploidy pattern を、次のように定義した。すなわち、aneuploid pattern は、1) 分裂周期上の G₀-G₁ と G₂-M 以外に明らかなピーク (測定細胞数の10%以上)を示す場合、2) DNA index が0.9以下か、1.1以上の場合、3) 癌巣での CV 値が非癌部上皮に比較し3倍以上、の3条件のうちひとつ以上を満たすものとし (Fig. 2)、この条件からはずれるものを diploid pattern とした。

2. フローサイトメトリーによる測定上の問題点に関する基礎的検討

a. DNA ploidy pattern と癌細胞比率についての検

Fig. 2 DNA aneuploidy pattern, 1)-a. 1)-b: A peak was observed outside G₂-G₁ peak; 2): DNA index (DI) was under 0.9 or over 1.1; 3): Coefficient of variation (CV) in the cancerous lesion was over three times higher than that of the non-cancerous mucosa.



討

対象となるサンプルは癌細胞と間質細胞が混在しており、間質細胞の量的相違が核 DNA ploidy pattern の決定に種々の影響を与えることが予想される。とくに胃癌の組織型は多様であり、組織型の相違による間質細胞の影響を検討する必要がある。そこで、深達度 pm 以上の55症例 (分化型26例、未分化型29例)を対象として、トリミングした癌巣部における間質細胞を含めた全細胞 10^3 個あたりの癌細胞の割合を癌細胞比率として定義し、測定した。

b. フローサイトメトリーと顕微蛍光測光法の比較

核 DNA ploidy の測定には、フローサイトメトリーと顕微蛍光測光による2つの手段がある。とくに、未分化型胃癌を対象とした場合、両者の方法論上の相違が ploidy pattern の決定に影響をもたらす可能性がある。そこで、方法論上の相違を明らかにする目的で、5例の同一検体を、フローサイトメトリーおよび顕微蛍光測光法の2つの方法にて測定した。顕微蛍光測光法は、諸富らの方法⁴⁾に準じた。

3. DNA ploidy pattern と臨床所見の対比

以上の検討の後、胃癌症例89例 (分化型47例、未分化型42例)の DNA ploidy pattern を決定し、以下の臨床所見との関連について検討した。

すなわち、1) 平均年齢、2) 男女比、3) 腫瘍占居部位、4) 肉眼的分類、5) 実質と間質の量比、6) 浸潤増殖様式、7) 深達度、8) リンパ節転移、9) 組織学的進行度、10) 生存率、11) 再発形式の11項目である。

4. DNA ploidy pattern と宿主免疫能の検討

胃癌症例15例(分化型胃癌6例, 未分化型胃癌9例)を対象に, FITC 標識のモノクローナル抗体 (Becton Dickenson Co.,) を用いて, フローサイトメトリーによる末梢血 leu7陽性細胞比率を求め, 担癌宿主免疫能を示す一つの指標として DNA ploidy pattern との関連を検討した。

統計解析は, Student-t test および χ^2 検定を使用し, $p < 0.05$ を有意と判定した。

研究結果

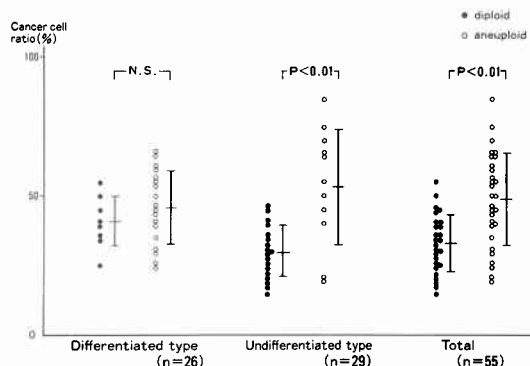
1. DNA ploidy pattern と癌細胞比率についての検討

分化型26例では DNA ploidy pattern と癌細胞比率の間に有意の関連は認めなかった。一方, 未分化型29例での癌細胞比率の平均値は, diploid 29.7%, aneuploid 53.6%であり, diploid pattern を示すものに癌細胞比率の有意の低下を認めた ($p < 0.01$) (Fig. 3)。

2. フローサイトメトリーと顕微蛍光測光法の比較

顕微蛍光測光法で, polyploid 細胞をほとんど認めない I 群⁴⁾に属する症例は5例中4例で, その組織型はすべて adenocarcinoma mucocellulare scirrhosum, 浸潤様式 INF γ であった。この4例は, フローサイトメトリーで全例 diploid を示し, 顕微鏡蛍光測光法による結果と一致した。一方, 種々の程度に poly-

Fig. 3 Relationship between DNA ploidy patterns and the cancer cell ratio (percentage of the cancer cells in all 1,000cells) in stomach



ploid 細胞を認める II 群⁴⁾に属する症例は1例あり, 組織型は膠様細胞癌と印環細胞癌が混在し, 浸潤様式は INF β であった。本症例は, フローサイトメトリーでは aneuploid を示し, 顕微鏡蛍光測光法の結果と一致した (Table 1)。

3. DNA ploidy pattern と臨床所見

胃癌89例の DNA ploidy pattern を検討した結果, diploid 51例 (57%), aneuploid 38例 (43%) であっ

Table 1 Relationship between cytofluorometric and flow cytometric DNA analysis in the gastric cancer

Cytofluorometric DNA analysis	Flow cytometric DNA analysis	Histological type	INF	Depth of invasion	Lymphnode dissection	Histological stage
	 diploid	mucocellulare scirrhosum	γ	ss- γ	n(-)	II
	 diploid	mucocellulare scirrhosum	γ	sei	n ₂ (+)	IV
	 diploid	mucocellulare scirrhosum	γ	pm	n ₁ (+)	II
	 diploid	mucocellulare scirrhosum	γ	se	n(-)	III
	 aneuploid	muconodulare	β	se	n(-)	III

Table 2 Background in DNA ploidy patterns

		diploid	aneuploid
Aver. age (Mean±SE)	Diff. type	59.9±10.6*	65.3±9.2*
	Undiff. type	51.9±10.3	56.8±9.2
	Total	55.3±11.1**	62.4±10.0**
Sex distribution (M:F)	Diff. type	18 : 4	20 : 5
	Undiff. type	18 : 11	5 : 8
	Total	36 : 15	25 : 13

diploid vs aneuploid (** : P<0.01, * : P<0.05)

た。分化度別に検討すると、分化型47例では diploid 22例 (47%)、aneuploid 25例 (53%) とほぼ半数ずつであるのに対し、未分化型では、diploid 29例 (69%)、aneuploid 13例 (31%) と、diploid が多い傾向を認めた。以下に、臨床所見との関連について検討を加えた。

1) 平均年齢：aneuploid の発生は高齢者に有意に高かった ($p<0.01$)。この傾向は分化度の相違に関わらず認められた。

2) 男女比：ploidy pattern に性差の影響は見られなかった。しかし、未分化型で aneuploid を呈するのは女性に多い傾向を認めた (Table 2)。

3) 占居部位：C 領域25例については ploidy pattern の相違を認めなかった。M 領域39例では、diploid の発生を多く認めた (27例, 68.4%；うち18例が未分化癌)。一方、A 領域25例では、分化度の相違に関わらず aneuploid の発生を多く認めた (15例, 60%)。以上より、占居部位により ploidy pattern の相違があることを認めた。

4) 肉眼的分類：0型で diploid の多い傾向を認めた。進行癌では、2型で分化度にかかわらず aneuploid の多い傾向を認めた。しかし、他の型では ploidy pattern の相違を認めない。

5) 実質と間質の量比：深達度 sm 以上の70例 (分化型35例、未分化型35例) について、分化度別に細分して検討すると、髄様型では、分化型は diploid、未分化型は aneuploid に偏在した。一方、硬性型では、未分化型の症例が多いために diploid の発生が多く見られた。以上より、癌の間質結合織の多寡に対応して、分化度による ploidy pattern の相違を認めた。

6) 浸潤増殖様式：前項と同様に深達度 sm 以上を対象として検討した。全体では、浸潤様式の相違と ploidy pattern との間に一定の関係を認めなかった。しかし、分化度別に検討すると INF γ は未分化癌に多く、その優勢な ploidy pattern は diploid であった

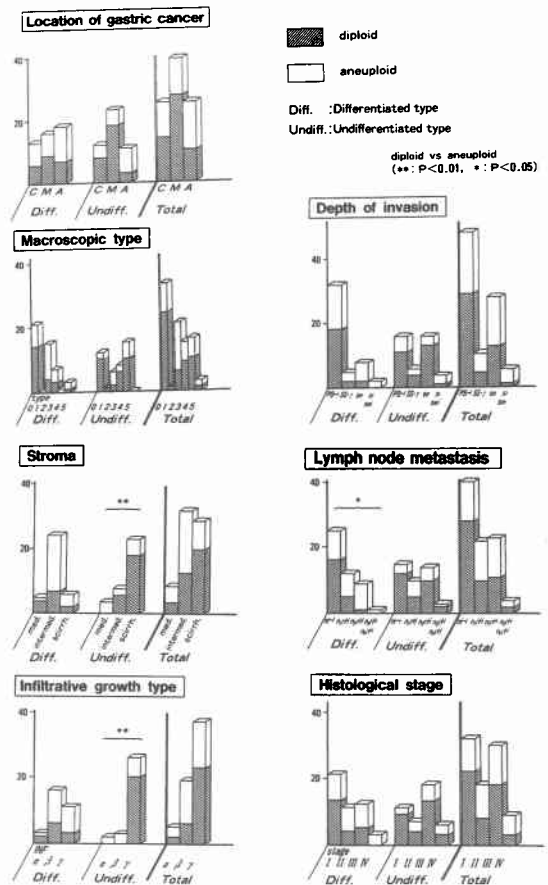
($p<0.01$)。

7) 深達度：ps(-)では、分化度に関わらず diploid が多かった。一方、ps(+)では、とくに si および sei で aneuploid が圧倒的に多かった。

8) リンパ節転移率：n(-)例では、diploid が多いが、n(+)例では、ploidy pattern はほぼ同数となり、相違を認めなかった。これを、分化度別に細分して検討すると、分化型では、n(-)例では diploid が優勢であるのに対して、n(+)例で aneuploid が増加しており、明らかな傾向として認められた ($p<0.05$)。一方、未分化型ではこのような傾向はみられなかった。

9) 組織学的進行度：stage I では diploid が多いのに対し、stage の進行に対応して aneuploid が増加した。分化度別に検討すると、この傾向は分化型胃癌で一層明らかであった (Fig. 4)。

10) 生存率：治癒切除のなされた85例中、他病死5

Fig. 4 Relationship between DNA ploidy patterns and pathological findings in the gastric cancer

例を除く80例(分化型43例; pap2, tub₁ 24, tub₂ 17, 未分化型37例; por 36, muc 1)について, DNA ploidy pattern と生存率の関連を検討した. その結果, 5 生率では diploid 63.8% (30/47), aneuploid 54.5% (18/33)で, 両者の間に有意差はみられなかった(Fig. 5). しかし, 分化度別に細分して検討すると, 分化型では, diploid 85.0% (17/20), aneuploid 52.2% (12/23)で, 有意に diploid 症例の予後が良好であった ($p < 0.05$). 一方, 未分化型では diploid 48.1% (13/27),

Fig. 5 Relationship between DNA ploidy patterns and the post-operative survival rate in the gastric cancer

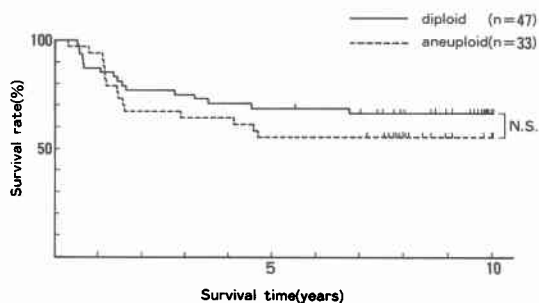
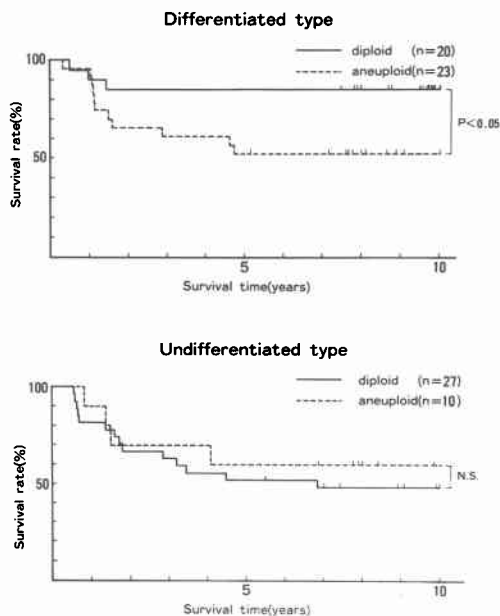


Fig. 6 Relationship between DNA ploidy patterns and the post-operative survival rate in the differentiated type and the undifferentiated type of the gastric cancer



aneuploid 60.0% (6/10)であり, ploidy pattern の相違により予後に差を認めなかった (Fig. 6).

11) 再発形成: 生存率の項で対象とした80例中34例 (tub₁ 9, tub₂ 6, por 19)に再発を認め, DNA ploidy pattern と再発形式の関連を検討した. その結果, 全体での再発率は diploid 38.3% (18/47), aneuploid 48.5% (16/33)で aneuploid に高い傾向を認めたが, 再発形式に差を認めなかった. しかし, 分化度別に細分して検討すると, 腹膜播種に関しては, 分化型で aneuploid, 未分化型で diploid に有意に高率であった ($p < 0.01$). また, 未分化型においては, aneuploid 症例でリンパ節再発率が75.0% (3/4)と高いのに対し, diploid 症例では腹膜再発率が73.3% (11/15)と高く, 異なるパターンを示した (Fig. 7).

4. DNA ploidy pattern と末梢血 leu7比率の検討
分化型 6例では DNA ploidy pattern と末梢血 leu7

Fig. 7 Relationship between DNA ploidy patterns and the recurrent patterns in the gastric cancer

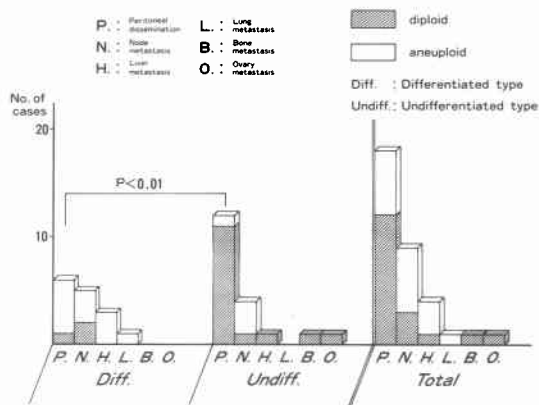
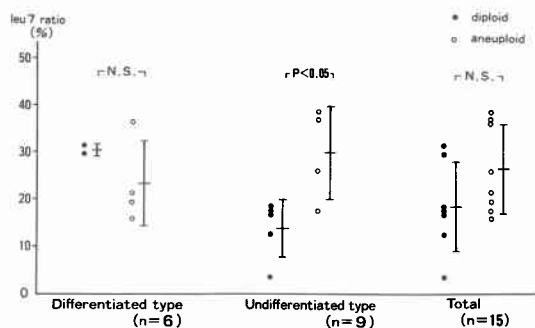


Fig. 8 Relationship between DNA ploidy patterns in the gastric cancer and the percentage of leu7 cells in the peripheral blood



比率の間に有意の関連は認めなかった。一方、未分化型9例でのleu7比率の平均値は、diploid 13.8%, aneuploid 29.8%であり、diploid patternを示すものにleu7比率の有意の低下を認めた($p < 0.05$) (Fig. 8)。

考 察

癌細胞核DNA量と生物学的特性との関連が示唆されて以来、種々の部位の癌について検討がなされてきた。胃癌の病理組織学的特徴の1つとしてその多様性があげられるが、細胞核DNA量の評価は、それらの多様性に1つの統一した観点を与えるものとして意義がある。

1. 測定法の問題点

胃癌細胞核DNA量に関する報告はすでに多くなされているが^{10)~12)}、本邦ではその測定に顕微蛍光測光法を用いている場合が多い。その理由として、未分化型胃癌を測定する際、サンプルから間質細胞の影響を除去し得る点で、顕微蛍光測光法が有利であるためである¹³⁾¹⁴⁾。しかし、本法は測定精度および信頼性を高めるための種々の工夫が必要とされ、そのため、DNA量測定の煩雑さが、臨床へのルーチン検査に組み込みにくい原因となっている。一方、フローサイトメトリーによる測定は、精度の高さと同時に、方法上の簡便さが挙げられ、容易に多数の臨床症例に応用しえることが大きな特徴である。従って、サンプル上の問題が解決されるならば、フローサイトメトリーによる測定が今後は主流になると考えられる^{15)~19)}。

本研究では、Hedleyらの方法⁸⁾に準じて単離細胞核群を作製し、フローサイトメトリーによる核内DNA量の測定を行ったが、未分化型胃癌における間質細胞の影響について、顕微蛍光測光法と対比した結果、2者の間に相違はみられなかった。癌細胞比率の検討において、未分化型胃癌では、形態上、癌細胞と鑑別しにくい間質細胞の影響を強く受ける可能性が示唆されたが、これは、測定の方法論上の相違による結果ではないと考えられる。すなわち、癌細胞比率が同程度であっても、分化度の相違がploidy patternの鑑別を困難にするとは考えられない。ただし、フローサイトメトリーにおいては、10%未満の測定値が切り捨てられるため、癌細胞比率の低い未分化型胃癌を対象とする場合は、検体の処理およびゲートの設定にさらに工夫が必要と思われる。

2. DNA ploidy patternと臨床所見の対比について

以上の基礎的検討を行った後、予後の判明している胃癌切除例89例を対象にDNA ploidy patternの解析

を行った。本研究では、とくに、病理組織学に基づく分化度と対比しながら、DNA ploidyがどの程度、臨床における生物学的悪性を反映しているのかについて検索した。

まず、年齢因子では、未分化型胃癌での有意差はないものの、全体では加齢によるaneuploidの増加が見られた。年齢によるploidy patternの相違については、従来、ほとんど報告がない。

性差については、未分化型胃癌でaneuploidを示すものは、男女比が逆転し、女性に多い傾向を認めた。若年女性における内分泌環境とスキルス胃癌との関連が報告されており²⁰⁾、同じ分化度であっても性別により癌の悪性が異なる可能性が示唆された。

腫瘍占居部位については、M領域でdiploid、A領域でaneuploidの発生が多かった。蒲池ら²¹⁾による検討では、胃の上部ではpolyploidを示さない群、中部から下部にかけてはpolyploidを示す群が多い傾向を認めており、本研究と一致する結果であった。この傾向は、分化度の相違にかかわらず認められた。一方、BrdUを用いた細胞動態の解析では、胃底部粘膜は幽門部粘膜に比べ細胞回転が早いとする報告がある²²⁾。したがって、DNA ploidy patternは、単に、分裂回数多寡だけで決定されるのではなく、胃固有粘膜や腸上皮化生粘膜という発生母地の相違によって影響を受ける可能性を示している²³⁾。すなわち、腸上皮化生粘膜から発生する比較的分化度の高いものと、主に胃固有粘膜に発生する比較的分化度の低いものは、それぞれ、aneuploidおよびdiploid patternとの対応が考えられる。

肉眼分類では、早期癌は分化度にかかわらずdiploidが多かった。しかし、進行癌においては、ploidy patternとの関連を認めなかった。

癌の実質と間質の量比では、分化度の相違によりploidy patternに変化がみられた。すなわち、硬性型では、分化型がaneuploid、未分化型がdiploidの傾向であったが、髄様型では、分化型がdiploid、未分化型がaneuploidを呈し、全体の傾向と相反する結果を得た。今回の検討では、未分化型胃癌で髄様型を呈するものは4例と少なく、直ちに結論づけることはできないが、未分化型胃癌における癌細胞比率の問題も含め、髄様型における判定は慎重に行うべきものと思われる。

浸潤増殖様式については、分化度の相違により、浸潤様式が同じでも優勢なDNA ploidy patternが異なる傾向を認めた。このことは、DNA量解析が、従来か

らの病理組織学的な分類では区別できない相違点をより明確にする可能性を示す所見と思われる。

癌の深達度についての検討では、従来より、分化型・未分化型ともに進行症例では、aneuploidの割合が増し、したがって、生物学的悪性度も高くなるとする報告が多い²⁴⁾²⁵⁾。われわれの検討では、分化度に関わらず、ps(-)ではdiploidが多い傾向であったが、深達度の増加に対応してaneuploidの割合が増加し、とくにsi・seiではaneuploidが6例中5例を占めた。Stageの進行とploidy patternの関係についても同じ傾向がみえる。蒲池ら²¹⁾は、胃癌42例を、深達度とployploid化との間に関連を認めない群と、深達度とともにpolyplod化が進む群の2群に分け、それぞれの群は、中村ら⁷⁾のいう未分化型胃癌および分化型胃癌にほぼ対応すると報告しており、この見解は本研究の結果とよく一致する。

リンパ節転移については、分化型胃癌では転移リンパ節群の次数の増加に対応してaneuploidの割合も増加するのに対し、未分化型では、このような傾向は認められなかった。

組織学的進行度についても、深達度やリンパ節転移においてみられた傾向を反映し、分化度別に異なる結果を得た。以上より、癌の進行にともなって、分化型胃癌と未分化型胃癌では、異なるDNA ploidy patternを示しており、従来からの病理組織学的分類では区別できない相違点を明らかにするものと考えられる。

今日まで、aneuploid patternは悪性度が高いとする報告が多い^{26)~28)}。その根拠は、脈管侵襲の強い例や遠隔転移を認める例など進行癌症例でaneuploidの割合が高いこと、diploidとの比較で生存率が低いことなどである。本研究では、分化度別に細分して生存率を比較した結果、分化型胃癌ではaneuploidの予後が不良であり、ploidy patternによる予後の予測が可能と思われる。すなわち、分化型胃癌に関しては、フローサイトメトリーによるploidy patternが、より客観的に生物学的悪性度を反映する指標と考えられる。ちなみに、分化型胃癌をさらに各組織型に分けて検討すると、 tub_2 に比べ、 $pap \cdot tub_1$ で予後が強く反映されており、分化型胃癌の中でも分化度の高い症例ほど強い関連性を示した。一方、未分化型胃癌では、予後とploidy patternとの間に明かな傾向は認められなかった。

再発形式に関しても、分化度により異なるパターンを認めた。とくに、未分化型胃癌では、diploidで高率に認められる腹膜再発がaneuploidでは少なく、この

ことが生存率に影響を与えた可能性がある。

以上より、胃癌におけるploidy patternに関しては、分化度別に細分して解釈する必要があると思われるが、とくに、未分化型胃癌での上記のような見解は、現在までの報告ではなされておらず、以下にその理由を検討したい。

第1に、分化度の相違による細胞増殖能の差異が考えられる。DNA ploidy patternの変化は、癌細胞が分裂・増殖を繰り返す過程に生ずる正常からの逸脱現象である。したがって、癌の進行に応じてその逸脱の機会は増加するものと思われる。しかし、 H^3 -thymidineやBrdUを用いた細胞動態の解析による分化度別の細胞増殖能に関して、統一した見解はいまだ得られておらず²⁹⁾³⁰⁾、細胞増殖能の差のみに帰因する現象と断定することは困難である。Ploidy patternによる悪性度の判定には、分化度の判断が前提条件になると思われるが、未分化型胃癌においては、多様なploidy patternをさらに深く解析する必要があると思われる。

第2に、分化度の相違による宿主側要因の変化である。癌細胞の増殖能については、細胞自体の生物学的特性に加えて、宿主側の条件も考慮されなければならない。その1つとして、分化度により占居部位が異なる問題が挙げられる。本研究では、胃前庭部の腸上皮化生の進んだ背景粘膜は、固有胃腺の背景粘膜に比べ、aneuploid patternをとりやすい傾向を認めた。また、末梢血leu7比率の検討では未分化型のdiploid症例において低値であり、腫瘍に対する免疫能の低下が示唆された。未分化型胃癌が分化型胃癌ほど予後とploidy patternとの間に相関を認めないのは、分化度によりaneuploidへの変化の度合いが異なることに加え、宿主側要因の関与が考えられる。

以上より、フローサイトメトリーを用いた胃癌細胞核DNA量の測定は、癌の生物学的特性を示す、客観的かつ簡便な方法と考えられるが、とくに、分化型胃癌において有用と考えられる。

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を頂いた浜松医科大学外科学第2講座馬場正三教授、同病理学第1講座喜納勇教授、ならびに、京都府立医科大学病理学第1講座芦原可教授、諸富直文博士に深謝致します。

文 献

- 1) Böhm N, Sandritter W: DNA in human tumors: A cytophotometric study. *Curr Top Pathol* 60: 151-219, 1975
- 2) Barlogie B, Raber M, Schumann J et al: Flow cytometry in clinical cancer reserch. *Cancer*

- Res 43 : 3982—3996, 1983
- 3) 蒲池正浩, 諸富直文, 藤本高久ほか: DNA-RNA 顕微蛍光法による進行胃癌の解析. 癌の臨 30 : 1759—1788, 1984
 - 4) 諸富直文, 蒲池正浩, 橋本敏和ほか: DNA-RNA 顕微蛍光測光法による進行期胃癌の解析. 癌の臨 32 : 1540—1548, 1986
 - 5) 伊藤良治: 顕微蛍光測光法を用いたヒト胃印環細胞癌の研究. 京都府医大誌 97 : 641—650, 1988
 - 6) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約. 改訂第11版. 金原出版, 東京, 1985
 - 7) 中村恭一: 胃癌の構造. 医学書院, 東京, 1982, p5—30
 - 8) Hedley D, Friedlander M, Taylor I et al: Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. J Histochem Cytochem 31 : 1333—1335, 1983
 - 9) 小里俊幸, 馬場正三, 小沢享史: フローサイトメトリーによる大腸癌のDNAパターンと臨床病理学的所見, 予後との関連について. 日消外会誌 21 : 1081—1085, 1988
 - 10) Deinlein E, Schmidt H, Riemann J et al: DNA flow cytometric measurements in inflammatory and malignant human gastric lesions. Virchows Archiv 402 : 185—193, 1983
 - 11) Hattori T, Hosokawa Y, Fukuda M et al: Analysis of DNA ploidy patterns of gastric carcinomas of Japanese. Cancer 54 : 1591—1597, 1984
 - 12) Sowa M, Yoshino H, Kato Y et al: An analysis of the DNA ploidy patterns of gastric cancer. Cancer 62 : 1325—1330, 1988
 - 13) Hattori T, Sugihara H, Fukuda M et al: DNA ploidy patterns of minute carcinomas in the stomach. Jpn J Cancer Res 77 : 276—281, 1986
 - 14) 広瀬和郎, 中川原儀三: 胃癌のDNA Ploidy Patternと組織型, 浸潤形式との関連性. 日外会誌 91 : 348—353, 1990
 - 15) Sugihara H, Hattori T, Fujita S et al: Regional ploidy variations in signet ring cell carcinomas of the stomach. Cancer 65 : 122—129, 1990
 - 16) 杉山和夫, 米村 豊, 西村元一ほか: DNA Ploidy Patternと腫瘍マーカー産生能からみた胃癌の悪性度. 日外会誌 88 : 1430—1436, 1987
 - 17) Sowa M, Chung Y, Nishimura M et al: An immunohistological study of gastric cancer —With special reference to the expression of carbohydrate antigens and nuclear DNA ploidy patterns. Eur J Surg Oncol 15 : 307—315, 1989
 - 18) Wyatt J, Quirke P, Ward D et al: Comparison of histopathological and flow cytometric parameters in prediction of prognosis in gastric cancer. J Pathol 158 : 195—201, 1989
 - 19) Bronzo R, Heit P, Weissman G et al: Implications of flow cytometry in malignant conditions of the stomach. Am J Gastroenterol 84 : 1065—1068, 1989
 - 20) 古河 洋, 岩永 剛, 寺沢敏夫: 胃癌の発生進展に及ぼす女性ホルモンの影響. 日消病会誌 76 : 2376—2381, 1979
 - 21) 蒲池正浩, 諸富直文, 橋本敏和ほか: 深達度よりみた胃癌のDNA-RNA 顕微蛍光測光法による解析. 癌と化療 11 : 2342—2347, 1984
 - 22) 大山繁和, 米村 豊, 津川浩一郎ほか: Migration chase methodによる胃粘膜および残胃粘膜の細胞動態の解析. 日消外会誌 23 : 418—422, 1990
 - 23) 藤田哲也: 慢性胃炎と癌. 協和発酵工業, 東京, 1982, p25—42
 - 24) Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimura T et al: Correlation of DNA ploidy and Proliferative activity in human gastric cancer. Cancer 62 : 1497—1502, 1988
 - 25) Korenaga D, Haraguchi M, Okumura T et al: DNA ploidy and tumor invasion in human gastric cancer. Arch Surg 124 : 314—318, 1989
 - 26) Inokuchi K, Kodama Y, Sasaki O et al: Differentiation of growth patterns of early gastric carcinoma determined by cytofluorometric DNA analysis. Cancer 51 : 1138—1141, 1983
 - 27) Armitage N, Robins R, Evans D et al: The influence of tumor cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. Br J Surg 72 : 828—830, 1985
 - 28) Kokai W, Sheibani K, Terz J et al: Tumor DNA content in the prognosis of colorectal carcinoma. JAMA 255 : 3123—3127, 1986
 - 29) 井上和則: Autoradiographyによるヒト胃癌細胞の核酸合成能に関する研究. Arch Jpn Chir 51 : 315—326, 1982
 - 30) 米村 豊, 杉山和夫, 鎌田 徹ほか: 胃癌におけるDNA Ploidy Patternと増殖活性. 医のあゆみ 146 : 753—754, 1988

**Flow Cytometric DNA Analysis in Gastric Cancer and its Relationship to the
Clinicopathological Findings —Comparison between Differentiated
and Undifferentiated Adenocarcinoma—**

Yuji Tanaka

The Second Department of Surgery, Hamamatsu University School of Medicine

To determine the biological characteristics of tumor cells, the DNA ploidy pattern was analyzed by flow cytometry in 89 gastric cancers initially resected in our unit between 1978 and 1983. Among the 47 differentiated gastric carcinomas, 22 (47%) were diploid, and the remaining 25 (53%) were aneuploid; therefore this group was almost evenly divided into two types. However of the 42 undifferentiated carcinomas, 29 (69%) were diploid, and 13 (31%) were aneuploid; there tended to be more diploid tumors among the undifferentiated carcinoma. Among the differentiated carcinomas, the aneuploid frequency increased with increase in the clinicopathological stage of cancer, and the survival rates demonstrated that patients with aneuploid tumors had a significantly poorer outcome than those with diploid tumors ($p < 0.05$). A strong correlation was noted between the DNA ploidy pattern and the outcome in the differentiated carcinomas. Measurement of the amount of nuclear DNA by flow cytometry appears to be a good indicator for estimating the degree of biological malignancy, and this seems to be especially true for differentiated gastric carcinoma.

Reprint requests: Yuji Tanaka Department of Surgery, Tenryu Byoin National Sanatorium
4201-2 Oro, Hamakita, 434 JAPAN
