

# 胃癌, 大腸癌における腫瘍増殖率の推測および腫瘍マーカー ダブリングタイムの比較検討

金沢大学第2外科

加治 正英 米村 豊 大山 繁和 小坂 健夫  
山口 明夫 三輪 晃一 宮崎 逸夫

腫瘍増殖率推測値 (S 期細胞比率/DNA 指標) の臨床的有用性を検討する目的で, 進行胃癌87例と大腸癌11例を対象に腫瘍マーカーダブリングタイムの測定を行い, 両者の相関を検討した。その結果, 腫瘍マーカーダブリングタイム測定可能症例は, 胃癌13.8%, 大腸癌45.5%で, 若年者, 低分化型腺癌において有意に短かった。また, 再発期間との間に有意な相関を認めた。腫瘍増殖率推測値と CEA ダブリングタイムは,  $r=0.65$ ,  $p<0.05$  で有意に相関し, 腫瘍マーカー陰性例における悪性度の指標になりうる可能性が示唆された。この腫瘍増殖率推測値は, 生検材料よりも測定可能であり, 早期胃癌における悪性度診断にも応用可能であると考えられた。

**Key words:** proliferation rate of the gastric and colorectal cancer, carcinoembryonic antigen, doubling time of the gastric and colorectal cancer, gastric cancer, colorectal cancer

## はじめに

悪性腫瘍における予後規定因子として転移度, 浸潤度, 発育速度などが挙げられる。転移は最も予後を左右する因子であり, 転移の成立には標的臓器での増殖が必要であり, その意味で腫瘍の増殖能を把握することは重要である。

従来, 腫瘍増殖能の把握には, computed tomography (CT scan) などの画像診断によるもの<sup>1)~4)</sup>, carcinoembryonic antigen (CEA) などの血中腫瘍マーカーによるもの<sup>5)6)</sup>, さらにはヌードマウスを用いる方法<sup>7)</sup>などが報告されてきている。

そのうち, 腫瘍マーカーダブリングタイムの測定は, 現在最も臨床的に繁用されている。しかし, 胃癌では腫瘍マーカー陰性例も多々あり, 治療上, 腫瘍マーカーダブリングタイムの測定に難渋することも多い。また, 早期例では, ほとんど正常範囲であり, 治療方針の決定には役立つ<sup>8)</sup>。

われわれは胃癌の増殖活性の検討により, 増殖活性が, 転移と密接に関連していることを報告した<sup>9)~12)</sup>。さらに時間的要素を加味した解析の結果, 増殖活性としては, 従来の S 期細胞比率よりも S 期細胞比率/

DNA 指標の比が重要であることを報告してきた<sup>12)13)</sup>。

そこで, 今回, 胃癌, 大腸癌を対象に, 腫瘍マーカーダブリングタイムの測定を行い, その臨床的有用性を検討するとともに, 細胞動態解析より求められた S 期細胞比率/DNA 指標という増殖能の指標との相関を検討したので報告する。

## I. 対象および方法

### 1. 対象

対象は, 1986年6月から1989年10月までに切除された進行胃癌87例と肝転移を伴う大腸癌11例である。

### 2. 方法

全例において, CEA,  $\alpha$ -fetoprotein (AFP), carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) などの血清腫瘍マーカー値を経時的に片対数グラフにプロットし, 指数関数的変化 (片対数グラフ上, 直線を示す) を示す期間においてその値が2倍になるのに要した時間より腫瘍マーカーダブリングタイムを測定した。また, CEA ダブリングタイムの臨床病理学的意義を検討する目的で胃癌を対象に手術から再発診断時までの再発時間, 再発診断時から死亡までの時間, 手術から死亡までの時間などと腫瘍マーカーダブリングタイムとの関連を検討した。

腫瘍増殖率推測値 (S 期細胞比率/DNA 指標 (BrdU

labeling index/DNA index)) (以下腫瘍増殖率推測値)の算出は, in vitro BrdU labeling 法より算出した<sup>14)</sup>. すなわち Sasaki らの方法に準じ, 切除標本より約1mm角の腫瘍組織片を採取し BrdU 400 $\mu$ M を添加した RPMI 1640 (GIBCO 社) 2ml 内に 3 気圧下 1 時間培養し, アルコール固定後, avidin-biotin-peroxidase complex method (ABC 法) にて抗 BrdU 染色を行い, BrdU labeling index の算出を行った. DNA index は, 組織片の一部を pepsin 処理にて単離細胞とした後, flow cytometry を用いて解析した. BrdU labeling index を DNA index で割った値を腫瘍増殖率推測値とした.

有意差の検定は, t 検定にて行った.

**Table 1** The tumor marker doubling time in gastric and colorectal cancer

	CEA	AFP	CA19-9
Gastric cancer	31.8 $\pm$ 26.3 days	20.5 $\pm$ 6.4 days	28.8 $\pm$ 30.6 days
	12/87 (n = 11)	(n = 2)	(n = 5)
Colorectal cancer	68.0 $\pm$ 67.4 days	-	-
	5/11 (n = 5)		

MEAN  $\pm$  SD

**Table 2** Clinicopathologic factors and CEA doubling time on 11 patients with gastric cancer

Age	60 years >	18.2 $\pm$ 7.5 days	(n = 5)	] *
	60 years <	43.2 $\pm$ 31.5 days	(n = 6)	
Sex	Male	40.3 $\pm$ 30.9 days	(n = 6)	
	Female	21.6 $\pm$ 17.2 days	(n = 5)	
Location	A	95.0 $\pm$ 15.3 days	(n = 2)	
	MC	23.8 $\pm$ 14.7 days	(n = 9)	
Gross type	Borr 1.2	43.0 $\pm$ 39.1 days	(n = 4)	
	Borr 3.4	25.4 $\pm$ 16.0 days	(n = 7)	
Histologic type	Well differentiated	51.5 $\pm$ 35.9 days	(n = 4)	] **
	Poorly differentiated	20.6 $\pm$ 9.9 days	(n = 7)	
Hepatic metastasis	Negative	34.0 $\pm$ 5.7 days	(n = 2)	
	Positive	31.3 $\pm$ 29.3 days	(n = 9)	
Peritoneal metastasis	Negative	45.0 $\pm$ 31.5 days	(n = 5)	
	Positive	20.8 $\pm$ 16.4 days	(n = 6)	
Lymph node metastasis	Negative	-	(n = 0)	
	Positive	31.8 $\pm$ 31.8 days	(n = 11)	

MEAN  $\pm$  SD      \* p < 0.05      \*\* p < 0.01

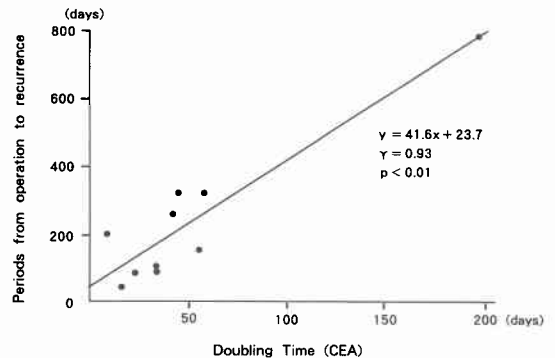
**II. 結 果**

腫瘍マーカーダブリングタイム測定可能症例は胃癌 87例中12例 (13.8%), 大腸癌11例中5例 (45.5%) であり, CEA ダブリングタイムの平均値は, 胃癌で 31.8  $\pm$  26.3日 (7~95日), 大腸癌で68.0  $\pm$  67.4日 (20~185日) であった (Table 1).

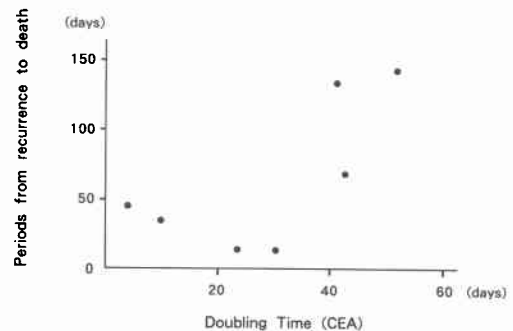
胃癌における CEA ダブリングタイムと臨床病理学的因子との比較検討では, 年齢において60歳未満が60歳以上に比べ有意 (p < 0.05) に短かった. 組織型でも低分化型腺癌 (muc, por, sig) と分化型腺癌 (pap, tub 1, tub 2) の間に有意差 (p < 0.01) を認めた. しかし, ほかの諸因子においては, 有意差は認められなかった (Table 2).

CEA ダブリングタイムと再発期間については, 相関係数 r = 0.93, p < 0.01で示される相関関係が得られた (Fig. 1). しかし, CEA ダブリングタイムと再発診断

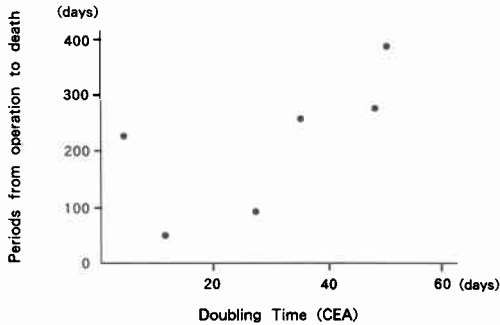
**Fig. 1** Correlation between CEA doubling time and the periods from operation to recurrence in gastric cancer and colorectal cancer



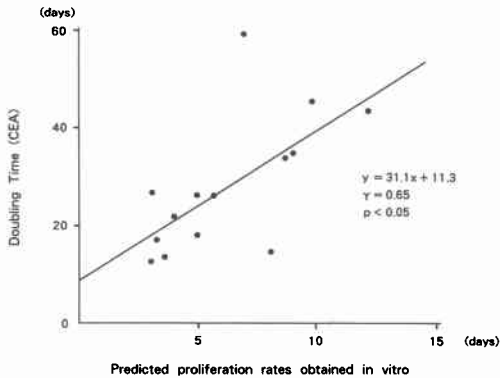
**Fig. 2** Correlation between CEA doubling time and the periods from recurrence to death in gastric cancer and colorectal cancer



**Fig. 3** Correlation between CEA doubling time and the periods from operation to death in gastric cancer and colorectal cancer



**Fig. 4** Correlation of CEA doubling time with the predicted proliferation rates in gastric cancer and colorectal cancer



時から死亡までの時間、CEA ダブリングタイムと手術から死亡までの時間については有意な相関が得られなかった (Fig. 2, 3)。

BrdU labeling index/DNA index より求められた腫瘍増殖率推測値と CEA ダブリングタイムとの相関を検討した (Fig. 4)。その結果、回帰式  $Y=31.1X+11.3$ ,  $r=0.65$ ,  $p<0.05$  と有意な相関関係が得られた。

#### 考 察

腫瘍の発育速度の測定法には腫瘍マーカー値によるものや、CT scan などの画像診断によるものがある。胃癌、大腸癌、肝細胞癌などにおいては、CEA, AFP, CA19-9 など各種の腫瘍マーカーの血清値と腫瘍体積の変化が、個々の症例で良く相関し、腫瘍マーカーが腫瘍増殖の優れた指標であることが知られている<sup>2)3)15)16)</sup>。

今回の検討では胃癌の CEA ダブリングタイムは

31.8±26.3日、大腸癌で68.0±67.4日であり諸家の報告と一致していた<sup>5)15)17)</sup>。また、癌の発育速度に影響を与えると思われる年齢、組織型において有意差がみられ、性別でも、女性の方が短い傾向がみられた。これらの結果は、retrospective にみた予後に関する臨床病理学的検討結果<sup>18)19)</sup> とほぼ一致している。

また、腫瘍マーカーダブリングタイムは、生存期間とも有意な相関を示すといわれ<sup>15)17)20)</sup>、今回の検討においてもダブリングタイムと手術からの再発診断時までの時間との間に相関関係がみられたが、再発診断時から死亡までの時間や手術から死亡までの時間間には有意な相関関係が得られなかった。これは、末期患者のダブリングタイムが、一般に短縮する傾向があること<sup>17)</sup>と関係していると考えられた。

これらのことは、腫瘍マーカーや画像診断により示される発育速度が、癌の悪性度を示すすぐれた因子であることを示唆している。しかし、これらの方法では測定病変に限られ、またある一定期間以上の経時的観察を必要としてきた。今回の検討においても、腫瘍マーカーダブリングタイム測定可能症例は、胃癌13.8%、大腸癌45.5%にすぎなかった。

腫瘍組織では、cell lossが多いため、必ずしも、腫瘍の増殖と生長は相関しないが、腫瘍の増殖は、より本質的な癌細胞の増殖を反映するものと考えられ、重要な意義を有する<sup>21)22)</sup>。

胃や大腸などの正常粘膜では、DNA 合成時間がほぼ一定であり、S 期細胞比率が増殖活性の指標となりうるが、癌では種々の程度で DNA 合成時間が延長しており、しかもそれは S 期細胞の多い腫瘍や DNA aneuploidy でより顕著である<sup>9)~12)</sup>。一般に、DNA aneuploid tumor は、S 期細胞比率も多く、DNA 合成速度が延長しており、その増殖活性をかなり補正する必要がある。その意味で、かならずしも S 期細胞比率は、増殖活性を正確に表現せず、われわれは、S 期細胞比率と DNA 指標の比が、腫瘍増殖能を最も表現する因子であることを報告してきた<sup>12)13)</sup>。

今回の検討により、腫瘍増殖率推測値が腫瘍マーカーダブリングタイムと相関することが明らかとなった。腫瘍マーカーダブリングタイムは、癌細胞の蛋白産生能を指標としたもの<sup>23)</sup>であり、一方腫瘍増殖率推測値は、細胞増殖動態から求めたものである。この両者が相関したことは、腫瘍マーカー陰性例における増殖能・悪性度の指標として腫瘍増殖率推測値が応用可能であることを意味している。また、この腫瘍増殖率

推測値は、生検材料よりも測定可能であり、早期胃癌における悪性度診断<sup>24)</sup>にも応用可能であり、その臨床的有用性が示唆された。

#### 文 献

- 1) 高橋 豊, 磨伊正義, 秋本龍一ほか: 腫瘍マーカーを用いた肝転移巣の発育速度とその臨床的意義. 日消外会誌 18: 927-931, 1985
- 2) Mizuno T, Masaoka A, Niwa H et al: Comparison of actual survivorship after treatment with survivorship predicted by actual tumor volume doubling time from tumor diameter at first observation. *Cancer* 46: 2716-2720, 1984
- 3) 辻仲康伸, 土屋周二: 大腸癌肝転移巣の発育速度. 日消外会誌 14: 1346-1350, 1981
- 4) 草島康夫, 江見泰介, 酒井輝文ほか: 超音波診断法による肝細胞癌の発育速度とその臨床的意義. 肝臓 25: 754-765, 1984
- 5) Staab HJ, Ander FA, Stumpf A et al: Slope analysis of the postoperative CEA time course and its possible application as an aid in diagnosis of disease progression in gastrointestinal cancer. *Am J Surg* 136: 322-330, 1978
- 6) Staab HJ, Ander FA, Hornung A et al: Doubling time of circulating CEA and its relation to survival of patients with recurrent colorectal cancer. *Br J Cancer* 46: 773-781, 1982
- 7) 中谷勝紀, 渡辺明彦, 宮城信行ほか: ヌードマウスのヒト胃癌移植—発育速度と患者の予後との関係—. 日外会誌 88: 1515-1524, 1987
- 8) 米村 豊, 沢 敏次, 橋本哲也ほか: 胃癌における癌関連抗原発現様式と予後. 日消外会誌 20: 2299-2304, 1987
- 9) Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimura T et al: Correlation of DNA ploidy and proliferative activity in human gastric cancer. *Cancer* 62: 1492-1502, 1988
- 10) 大山繁和, 米村 豊, 鎌田 徹ほか: 早期胃癌におけるリンパ節転移の指標としての細胞増殖活性 in vitro BrdU labeling の臨床応用. 日外会誌 91: 354-359, 1990
- 11) 鎌田 徹, 米村 豊, 杉山和夫ほか: 胃癌におけるBrdU 標識率の検討. 日外会誌 90: 1718-1721, 1989
- 12) 大山繁和, 山口明夫, 米村 豊ほか: 大腸癌の転移と細胞回転. 日外会誌 91: 677-681, 1990
- 13) 大山繁和: 胃癌の増殖能と悪性度. 十全医会誌 99: 680-691, 1990
- 14) Sasaki K, Takahashi M: Reservation of cell cycle characteristics in solid tumor in vitro. *Cancer Res* 40: 4810-4812, 1980
- 15) 高橋 豊, 磨伊正義, 秋本龍一ほか: 腫瘍マーカーを用いた肝転移巣発育速度とその臨床的意義. 日消外会誌 18: 927-931, 1985
- 16) Toshino M: Growth kinetics of hepatocellular carcinoma. *Jpn Clin Oncol* 13: 45-52, 1983
- 17) 梅原靖彦, 宮原 透, 吉田雅行ほか: 血清 CEA 値の経時的推移より解析される胃癌と大腸癌の発育, 悪性度に関する研究. 日外会誌 91: 661-666, 1990
- 18) 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病理学的検討. 日消外会誌 12: 832-843, 1979
- 19) 宮本幸男, 竹下正昭, 大和田進ほか: 進行胃癌治療切除例の組織分化型よりみた臨床病理学的検討. 日消外会誌 22: 2767-2771, 1989
- 20) 草間 悟: 癌の治療と癌の時間学. 癌と治療 9: 559-569, 1982
- 21) Steel GG: Growth Kinetics of tumors. First edition. Oxford University Press, London, 1977, p86-216
- 22) 藤田哲也: 増殖と生長. 現代病理学大系 91 腫瘍 I, 第1版, 1984, p70-111
- 23) Gold P, Freedman SO: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med* 122: 467-476, 1965
- 24) Kamata T, Yonemura Y, Sugiyama K et al: Proliferative activity of early gastric cancer measured by in vitro and in vivo bromodeoxyuridine labeling. *Cancer* 64: 1665-1668, 1989

### Evaluation of the Predicted Proliferation Rate and Its Relation to the Tumor Marker Doubling Time in Gastric and Colorectal Cancer

Masahide Kaji, Yutaka Yonemura, Shigekazu Ohyama, Takeo Kosaka, Akio Yamaguchi,  
Kouichi Miwa and Itsuo Miyazaki

Second Department of Surgery, School of Medicine, Kanazawa University

The tumor marker doubling time was calculated to evaluate the clinical significance of the predicted proliferation rate (S-phase fraction/DNA index) and the two indicators were compared them. Eighty seven patients with gastric cancer and eleven patients with colorectal cancer were studied. Tumor marker doubling time could be

measured in 13.8% of gastric cancers and 45.5% of colorectal cancers. It tended to be short in the young patients and in poorly differentiated carcinomas. CEA doubling time was well correlated with the period from the operation to recurrence. CEA doubling time was significantly correlated with the predicted proliferation rate ( $r=0.65$ ,  $p<0.05$ ). Because the predicted proliferation rate can be determined from biopsied specimens, it is believed that the rate could be a useful indicator of malignancy not only in patients with negative tumor markers but also in patients with early gastric cancer.

**Reprint requests:** Masahide Kaji The Second Department of Surgery, Kanazawa University School of Medicine  
13-1 Takara-machi, Kanazawa, 920 JAPAN

---