

BrdUの染色様式からみた胃癌の悪性度に関する研究

杏林大学第2外科学教室(指導:鍋谷欣市教授)

関原 正

健常者50例と胃癌患者50例に対し, *in vitro* で標識した BrdU を酵素抗体間接法にて検出した。健常者例における組織別 LI は, 萎縮性胃炎 $11.5 \pm 5.3\%$, 表層性胃炎 $7.2 \pm 3.1\%$, 正常胃粘膜 $5.3 \pm 1.0\%$ であり, 領域別でみると, A 領域での萎縮性胃炎が最も高値を示した。胃癌症例の癌部平均標識率は $17.8 \pm 5.8\%$, 非癌粘膜部 $7.2 \pm 3.4\%$, 癌の進行度, リンパ節転移度, リンパ管侵襲, 深達度と相関が認められた。

BrdU 陽性細胞の染色様式別出現率は, 健常者では有意差を認めなかったが, 胃癌症例は顆粒型 35.4% , びまん型 41.2% , 辺縁型 23.4% であり, 進行度別でみると, stage I では3型ともほぼ均等に分布しているのに対し, stage II では顆粒型, stage III, IV ではびまん型の出現率が増加していた。以上のことより, 術前の BrdU を用いた免疫組織化学的方法による S 期の識別は, より詳細な胃癌の進行度の予測ならびに手術方針の決定に対して有用な診断法の1つとなりうることを示唆している。

Key words: gastric cancer, chronic gastritis, BrdU staining pattern, anti-BrdU monoclonal antibody, malignant potency

I. 緒言

癌の悪性度に対する研究は, 最近のモノクローナル抗体の開発に伴い, 細胞生物学的な新しい観点から検討されている¹⁾²⁾。1982年 Gratzner³⁾が開発した thymidine の analogue である Bromodeoxyuridine (以下 BrdU) のモノクローナル抗体は, DNA 合成期(以下 S 期)細胞を特異的に標識し, その標識率(labelling index: 以下 LI) は腫瘍の増殖力を反映し, 癌の病理組織所見や予後と相関があるとされている^{4)~7)}。本研究の目的は, BrdU により免疫組織化学的に標識された細胞を染色様式別に分類し, 細胞回転の S 期における経時的变化および胃癌症例の悪性度との関係について検討することにある。

II. 対象と対法

対象は心窩部痛を主訴に胃内視鏡検査が施行され, 慢性胃炎と診断された50例(19~86歳, 平均年齢50.3歳, 男女比3:2)と胃癌の診断で胃切除手術を受けた50例(39~84歳, 平均年齢63.6歳, 男女比3:1)の100例である。

方法は健常者では経内視鏡的に, 胃癌取扱い規約⁸⁾による A 領域, M 領域, C 領域の各部位より, 胃癌症

例では新鮮切除標本の表層部より約 1mm^3 の癌組織片を異なる5か所, および癌部から十分に離れた非癌粘膜部より採取した。組織片は直ちに, $50\mu\text{M}$, BrdU 添加 Eagle MEM 培地中(ニッスイ社)に浸漬し, 37°C , 3気圧(CO_2 5%, O_2 95%), 1時間培養後, 70%エタノール固定後, パラフィン包埋し, 標本とした。標本は $1\mu\text{m}$ に薄切し, 脱パラフィン後, 以下の方法に従った。下降アルコール(95%, 80%, 70%, 50%, 蒸留水)を行った後, 0.3%過酸化水素加メタノール(室温, 30分間), 過ヨウ素酸ナトリウム(室温, 10分間)にて内因性 peroxidase 反応をブロックした後, 4N 塩酸(室温, 30分間)で, DNA 鎖の単鎖化を行った。0.1M ホウ酸ナトリウム(室温, 1分間)で中和した後, 50% formamide (室温, 30分間), phosphate buffer saline (以下 PBS)を通し, 20倍希釈正常ブタ血清にて非特異的反應のブロックを行った。その後, 40倍希釈抗 BrdU モノクローナル抗体(Becton Dickinson 社)で室温60分間反応させた。PBSにて3回洗浄後, peroxidase 標識抗マウス IgG ラビット血清(Daco 社)で室温60分間反応させた。PBSにて3回洗浄後, 0.005%3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride (以下 DAB)にて褐色に発色された。対染色は Mayer の hematoxylin で薄めに行った(Table 1)。LI は癌細胞100個に対する割合で示し, 無作為に5~10か所より算出し, そ

Table 1 Methods of BrdU-staining

Gastric mucosa tissues from gastroendoscopic biopsies
↓
Medium with 50 μM BrdU added (37°C, 3 atm pre, 1 hr)
↓
Fixed with 70 % cold ethanol, after embedded in paraffin, tissue is cut in 1 μm section, deparaffins
↓
Incubation of endogenous peroxidase in 0.3 % H ₂ O ₂ added methanol solution, 0.1 % Na ₁₀ solution
↓
Denaturation of DNA in 4 N HCl
↓
Neutral ization with 0.1 M Na ₂ B ₄ C ₇ , 50 % HCONH ₂
↓
AntiBrdU monoclonal antibody (Becton Dickinson)
↓
Rinse in PBS 5 minX3
↓
Anti-mouse IgG rabbit serumal labeled peroxidase (DACO)
↓
Rinse in PBS 5 minX3
↓
DAB reation
↓
Stained with Hematoxylin, counted

Fig. 1 Microscopic picture of the three patterns in BrdU-staining (×400). G: Granular type, M: Marginal type, D: Diffused type.

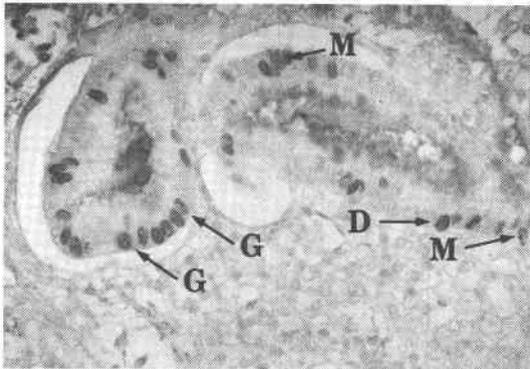
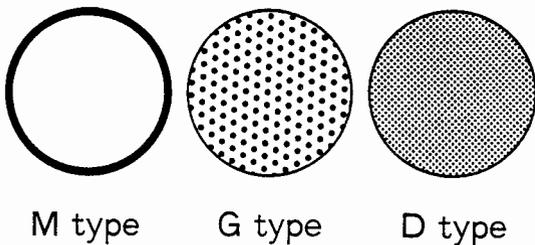


Fig. 2 Schema of the three patterns in BrdU-staining. G: Granular type, M: Marginal type, D: Diffused type.



の平均値とした。また、非癌粘膜の LI 算定部位は腺頸部を中心とした。本法で染色された BrdU 陽性細胞の染色様式は、400倍の検鏡下にて、核内が顆粒状に染色される顆粒型 (G type: 以下 G 型), 核内がびまん性に染色されるびまん型 (D type: 以下 D 型), 核膜のみ染色される辺縁型 (M type: 以下 M 型) の 3 型に分類した (Fig. 1, 2)。慢性胃炎の病理組織分類は Motteram⁹⁾に従った。すなわち、表層性胃炎、萎縮性胃炎の 2 型で、化生性胃炎、その他に属する胃炎は除外した。

得られた結果はすべて平均値±標準偏差で表し、統計解析は多群間の比較の場合には分散分析を行い、各群間の比較には Scheffe の検定、2 群間の比較には Student t 検定を用いて危険率 p<0.05を有意差ありとした。

III. 成 績

1. 健常者における LI の検討

a. 年齢別検討

10歳代5.0±1.1%, 20歳代7.7±1.4%, 30歳代7.4±2.9%, 40歳代8.3±3.1%, 50歳代6.0±1.9%, 60歳代9.1±6.5%, 70歳代5.9±1.9%, 80歳代7.5±2.8%と40歳, 60歳代において比較的高値を示し、若年者、高齢者において低い傾向にあった (Fig. 3)。

b. 領域別検討

A 領域7.3±3.1%, M 領域7.4±1.6%, C 領域8.0±1.8%と C, M, A の順に高い値を示したが、各領域間に有意差は認められなかった (Fig. 4)。

c. 組織別検討

採取した組織片の中で慢性胃炎の分類に該当した 112部位のパラフィン切片 (全体の75.0%)を対象に検討すると、領域別での各組織別出現頻度は、A 領域では正常胃粘膜 (normal gastric mucosa: 以下 N) 14.7%, 表層性胃炎 (superficial gastritis: 以下 SG) 29.4%, 萎縮性胃炎 (atrophic gastritis: 以下 AG) 55.9%, M 領域では、それぞれ28.2%, 30.8%, 41.0%, C 領域では33.3%, 51.3%, 15.4%と N, SGは C 領域に多く、AGは A 領域に多い傾向にあった (Table 2)。組織型別の平均 LI は、AG 11.5±5.3%, SG 7.2±3.1%, N 5.3±1.0%と AG が最も高く、SG, N の順であった (p<0.01)。これを領域別で見ると、A 領域では N 5.3±0.2%, SG 4.7±2.4%, AG 11.9±7.6%, M 領域ではそれぞれ6.0±5.4%, 6.5±1.6%, 9.8±3.3%, C 領域では5.3±2.0%, 7.3±3.1%, 11.5±5.3%であった。AGは A, C 領域, SGは C 領域, N

Fig. 3 Age and labeling index

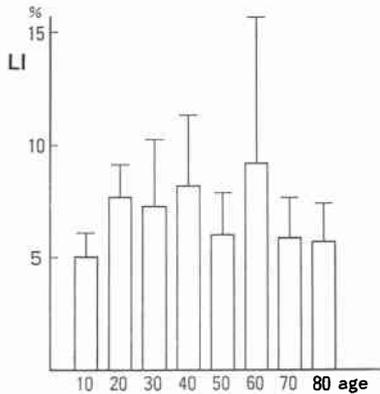


Fig. 4 The area and labeling index. A area : lower third of the stomach, M area : middle third of the stomach, C area : upper third of the stomach.

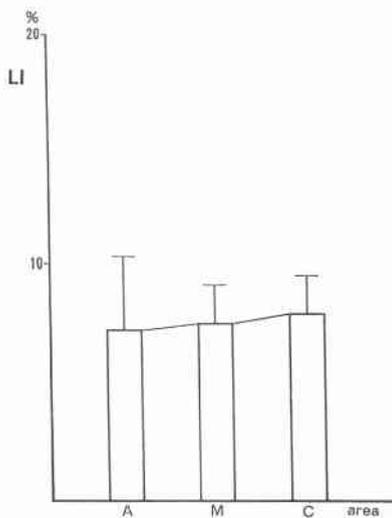


Table 2 Appearance incidence of histological type in the area of stomach

area	N	SG	AG
A (n=34)	5 (14.7)	10 (29.4)	19 (55.9)
M (n=39)	11 (28.2)	12 (30.8)	16 (41.0)
C (n=39)	13 (33.3)	20 (51.3)	6 (15.4)

() %

N : normal gastric mucosa
 AG : atrophic gastritis
 SG : superficial gastritis
 A area : lower third of the stomach
 M area : middle third of the stomach
 C area : upper third of the stomach

Fig. 5 Labeling index of histological type in the area of stomach. N : normal gastric mucosa, SG : chronic superficial gastritis, AG : chronic atrophic gastritis, A area : lower third of the stomach, M area : middle third of the stomach, C area : upper third of the stomach.

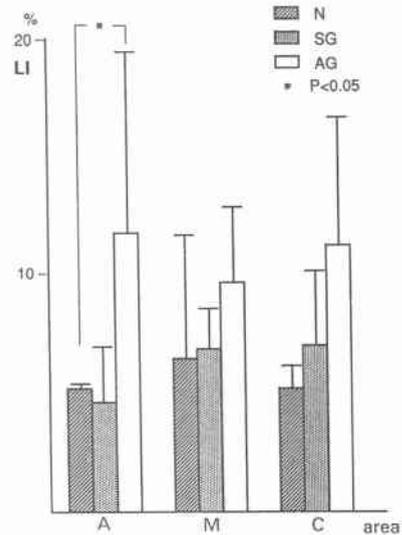


Table 3 Labeling index of cancerous and noncancerous lesions in advancement stage of gastric cancer

advancement stage	n	cancerous lesion LI	noncancerous lesion LI
I	12	15.0±2.3	8.4±3.2
II	10	13.6±2.3	7.4±3.2
III	13	18.9±5.7	7.7±6.9
IV	15	21.9±6.3	6.7±3.9

* p<0.01

は M 領域で高い傾向が認められ、A 領域での AG が最も高値を示した (Fig. 5).

2. 胃癌患者における LI の検討

胃癌症例の癌部平均 LI は 17.8±5.8%, 非癌粘膜部では 7.2±3.4% と癌部で有意に高く (p<0.01), 胃癌進行度別では stage I 15.0±2.3%, stage II 13.6±2.3%, stage III 18.9±5.7%, stage IV 21.9±6.3% と stage I, stage II に比較して stage III, stage IV で高値を示した (Table 3). 同一組織内での S 期陽性細胞は不規則に分布していた (Fig. 6). また、リンパ節転移別 LI は n(-)14.7±3.6%, n1(+)17.0±6.0%, n2(+)20.4±3.8%, n3(+)22.4±3.0% とリンパ節転移度の進行に伴って高値を示した (Table 4). 組織

Fig. 6 Microscopic picture of HE-staining and BrdU-staining in the case recognized as undifferentiated adenocarcinoma ($\times 100$)

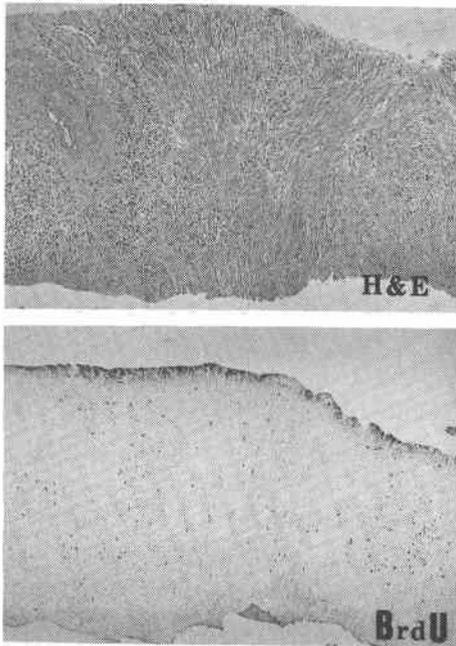


Table 4 Labeling index and lymph node metastasis

LN metastasis	n	LI (%)
n (-)	15	14.7 \pm 3.6
n ₁ (+)	22	17.0 \pm 6.0
n ₂ (+)	8	20.4 \pm 3.8
n ₃ (+)	5	22.4 \pm 3.0

** p<0.05

Table 5 Labeling index and microscopic type

h histological type	n	LI (%)
tub ₁	13	15.5 \pm 3.5
tub ₂	16	18.0 \pm 7.0
sig	7	17.4 \pm 3.5
por	14	20.1 \pm 6.3

*** N.S.

型別では tub₁ 15.5 \pm 3.5%, tub₂ 18.0 \pm 7.0%, sig 17.4 \pm 3.5%, por 20.1 \pm 6.3%と分化型に比較して低分化型で高い傾向にあったが、有意差は認められなかった (Table 5). 肉眼型別では0癌15.4 \pm 2.2%, 1

Table 6 Labeling index and macroscopic type of cancer

macroscopic type	n	LI (%)
0 type	10	15.4 \pm 2.2
1 type	2	25.7 \pm 9.8
2 type	11	16.4 \pm 4.8
3 type	12	18.0 \pm 4.8
4 type	7	20.7 \pm 5.7
5 type	8	18.0 \pm 7.9

*** N.S.

Table 7 Labeling index and depth of cancer invasion

depth	n	LI (%)
m, sm	10	15.4 \pm 2.2
pm	8	13.8 \pm 2.8
ss α , ss β	5	13.8 \pm 1.6
ss γ	3	16.0 \pm 2.3
se	14	19.3 \pm 5.9
sei, si	10	23.9 \pm 6.1

* p<0.01

Table 8 Labeling index and lymphatic duct invasion

ly factor	n	LI (%)
ly ₀	16	15.5 \pm 2.5
ly ₁	14	16.6 \pm 6.7
ly ₂	9	20.4 \pm 6.7
ly ₃	11	21.2 \pm 4.5

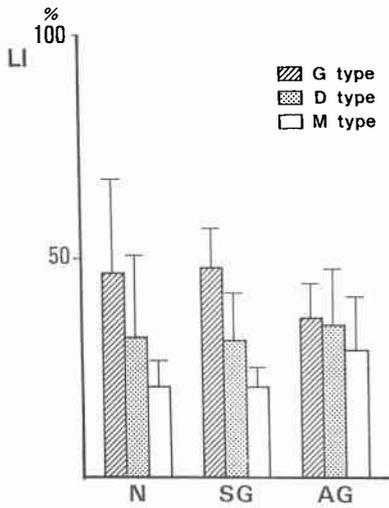
* p<0.01

型25.7 \pm 9.8%, 2型16.4 \pm 4.8%, 3型18.0 \pm 4.8%, 4型20.7 \pm 5.7%, 5型18.0 \pm 7.9%と1型で高い傾向を示したが、その他の肉眼型の間には差はみられなかった (Table 6). 深達度別では sm 15.4 \pm 2.2%, pm 13.8 \pm 2.8%, ss α , ss β 13.8 \pm 1.6%, ss γ 16.0 \pm 2.3%, se 19.3 \pm 5.9%, sei, si 23.9 \pm 6.1%であり、PS (-) 群と PS (+) 群では、PS (+) 群で有意に高値を示した (Table 7). また、ly 因子別では ly₀ 15.5 \pm 2.5%, ly₁ 16.6 \pm 6.7%, ly₂ 20.4 \pm 6.7%, ly₃ 21.2 \pm 4.5%であり、ly₀と ly₃の間に有意差を認めた (Table 8). v 因子別では v₀ 17.4 \pm 6.1%, v₁ 17.8 \pm 5.0%, v₂ 21.8 \pm 4.3%と陰性例と陽性例の間に差はなかった (Table 9). 以上のことより、LIは癌の進行度、リンパ節転移度、リンパ管侵襲、深達度と相関が認められた。

Table 9 Labeling index and venous invasion

v factor	n	LI (%)
v ₀	31	17.4±6.1
v ₁	16	17.8±5.0 ***
v ₂	3	21.8±4.3

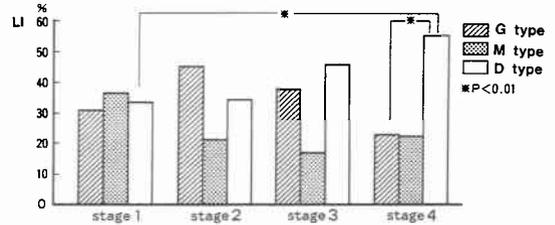
*** N.S.

Fig. 7 Appearance incidence of BrdU-staining pattern and histological types for chronic gastritis. N: normal gastric mucosa, SG: chronic superficial gastritis, AG: chronic atrophic gastritis, G: Granular type, D: Diffused type, M: Marginal type.

3. BrdU 細胞の染色様式の検討

BrdU 標識細胞を染色様式別に検討すると、健常者での各型の出現率は、G 型40.8%、D 型33.5%、M 型25.7%と G 型が最も多かった。

組織型別で検討すると、AG では G 型36.3±7.3%、D 型34.6±12.3%、M 型29.1±12.1%、SG では、それぞれ47.8±8.8%、31.4±10.7%、20.8±4.3%、N では46.8±20.4%、32.2±18.3%、21.0±5.9%と各型間ではほぼ一定の傾向を示したが、AG では D 型細胞が増加していた (Fig. 7)。胃癌症例での各型の出現率は G 型35.4%、D 型41.2%、M 型23.4%と D 型が最も多く、G 型、M 型の順であった。これを進行度別にみると、stage I では 3 型ともほぼ均等に分布しているのに対して、stage II では G 型、stage III, IV では D 型の出現率が増加していた (Fig. 8)。しかし、リンパ節転

Fig. 8 Appearance incidence of BrdU-staining pattern and the stage of cancer. G: Granular type, M: Marginal type, D: Diffused type.

移度、深達度、組織型、ly, v の各項目別に検討したが、相関性が認められなかった。

IV. 考 察

癌の細胞動態の研究では、フローサイトメトリーを用いた細胞核 DNA 量の解析が注目されている¹⁰⁾。その最大の利点として短時間に大量の検体を分析することにある。その結果、複数の population からなる癌は、単一の population よりなる癌に比較し増殖活性が高く、悪性度が高いとされ、その DNA ploidy pattern は他の因子とは独立した予後規定因子の一つであると考えられている¹¹⁾。しかし、胃癌のように間質成分の多い固形癌では癌細胞回収量が少なく、細胞単離が容易ではないこと¹²⁾、正常細胞の混入が避けられないなどの測定上の問題点が指摘されている。さらに、複数の stem line を有する例では増殖細胞群の決定が困難であること、正確に S fraction だけを解析することが困難であり¹³⁾、測定部位の病理組織所見との対比、組織内分布状態の解析が不可能など判定上の問題点も存在する。一方、癌増殖力を LI を用いて評価する研究は以前より、³H thymidine などを用いて行われているが、生体内では半減期が12.33年と長く、放射線障害の可能性や研究結果を得るまで時間を要することなど臨床応用に対していくつかの問題点がある。そこで現在は、thymidine の analogue である BrdU のモノクローナル抗体が盛んに用いられており、この利点は免疫組織学的手法により、短時間にしかも簡便に S 期細胞を識別することができ、さらに S 期の途中で DNA の合成を停止した G₀ cell には取り込まれないという点にある¹³⁾。しかし、一度 DNA に取り込まれた場合、細胞が死滅するまで残存するため、in vivo の投与による急性毒性、催奇性、発癌に対する危険性が指摘されており、生体への直接投与は極力避けるべきであるといわれている¹²⁾。以上のことを考慮し、今回は全症例に対して抗 BrdU 抗体を in vitro で用い、その染色法に関しては、

BrdU の非特異的反応をできるだけ抑え、核内での染色状態をより明瞭に観察するために、酵素抗体間接法を用いて行った。

健常者例中慢性胃炎を示した部位の LI は、萎縮性胃炎が表層性胃炎、正常胃粘膜より有意に高値を示した。Yong-ling ら¹⁴⁾は44例の健常者より経内視鏡的に標本を採取し、³H-thymidine を用いて検討した結果、正常群では $5.38 \pm 1.10\%$ に対して、表層性胃炎 $8.49 \pm 1.87\%$ 、腸上皮化生を伴う表層性胃炎 $8.89 \pm 2.59\%$ 、萎縮性胃炎 $15.04 \pm 2.30\%$ 、胃癌 $18.47 \pm 2.39\%$ であったとし、その標識細胞は正常で腺頸部に局限しているが、表層性胃炎では一部表層に向かって標識細胞が存在し、萎縮性胃炎では表層部が主体に認められたと報告している。また、杉原ら¹⁵⁾は BrdU のフラッシュレベル法を用いた検討では慢性胃炎における標識率の増加と増殖細胞帯 (generative zone) の拡大が認められ、さらに腸上皮化生を伴う症例では標識率の増加と細胞更新時間の短縮が認められたと述べている。しかし、これまで領域別に研究された報告は少なく、今回の検討の結果、A 領域の萎縮性胃炎の LI が最も高く、特に腸上皮化生を伴う萎縮性胃炎の中には癌とほぼ同率の LI を示し、その局在に規則性が認められない症例もあり、細胞動態的にも萎縮性胃炎の一部が胃癌の発生母地となっていると考えられる。これについて、Biasco ら¹⁶⁾は、正常例の平均 LI が $8.5 \pm 2.1\%$ に対して、慢性胃炎では $16.8 \pm 5.1\%$ と著明に高く、さらに正常例と同程度の13%以下の群と、15%以上の群に大別できると述べ、後者は胃癌の発生母地と関係があるのではないかと報告している。一方、年齢の要素としては、黒川ら¹⁷⁾は無選択的に健常者より胃生検した成績より、慢性胃炎の頻度は50歳代が最も多く、萎縮性胃炎だけを検討した場合でも50歳代、40歳代に多かったと述べており、慢性胃炎、特に萎縮性胃炎を示す患者において、その細胞動態を検討することは胃癌好発年齢層における胃癌発生のメカニズムの解明に有用な手段であると思われる。

胃癌症例について、菊山¹⁸⁾は胃癌24例の LI が4.0%から41.4%に及ぶ広い範囲に分布し、癌が周囲に浸潤する部位では DNA 合成に関与する細胞の局在が認められるも組織学的所見との関連性はなかったと述べ、進行度別 LI は癌の増殖期間による経時的な差ではなく、個々の腫瘍の性格によるものであらうと報告している。すなわち増殖の遅い癌が早期癌として、早い癌が進行癌として発見される率が高い可能性が示され

た。また、Yonemura ら¹⁹⁾は in vivo で BrdU を標識し、その LI は進行癌や脈管侵襲陽性例、リンパ節転移陽性例で高値を示し、悪性度を示す一指標となる可能性のあることを示した。今回の検討でも、同様の結果が得られたが、特にリンパ節転移度、リンパ管侵襲と強い相関が認められた。このことは術前での LI の検討が胃癌の進行度の予測ならびに手術方針の決定に対して有用な診断法の一つとなりうることを示唆している。

BrdU 標識細胞を光顕レベルで観察すると、その染色性に相違があることに注目し、以前より検討してきた。一方、Dolbeare ら²⁰⁾、磯部ら²¹⁾は BrdU 取り込み量が多い細胞ほど DNA 合成が盛んであると報告し、Nakamura ら²²⁾は同調培養系と免疫蛍光抗体法を用いた研究で、S 期の最初に複製される DNA は、核当たり 126.0 ± 13.8 個の小点状に一斉に出現し、その部位は核小体および核膜近傍を除く核全体に分布し、S 期の進行に伴って BrdU を含む DNA の粒子は大きくなり、さらに時間がたつとリング状や馬蹄型を示し、次いで別の場所に新しい複製開始部位が粒子状に多数出現し、同様の過程で複製され、7～8時間の S 期に7～8回、このような過程が繰り返されるだろうとし、S 期における BrdU 標識部位の変化を指摘している。すなわち、BrdU の染色性の違いは個々の細胞における DNA 複製あるいは合成の時間的差に由来するのではないかと考えられる。さらに、Dierendonck ら²³⁾は、複製に関して、少なくとも連続する3つのステージに特徴づけられるとし、S 期の初期では核内に核小体を除く、均一なスポットとして認められ (S₁, S₂)、それがさらに核小体の中心を含む核全体にまで染色され (S₃)、後期には大きく不規則なスポットとなり、いわゆる、リング状や馬蹄型を示す (S₄, S₅) と述べている。また、in vitro における5つの培養細胞系で S₁ から S₅ までの平均出現細胞率はそれぞれ、 $6.0 \pm 2.3\%$ 、 $26.1 \pm 3.1\%$ 、 $47.1 \pm 2.0\%$ 、 $16.4 \pm 6.4\%$ 、 $4.7 \pm 1.4\%$ と S₃ が最も多く、S₂, S₄, S₁, S₅ の順であったと、その変化について報告している。したがって、染色様式の変化は一定の規則に従って S 期細胞の動態的变化、すなわち細胞の変化を表しており、著者らが分類の中で表現している G 型細胞は early S 期、D 型細胞は middle S 期、M 型細胞は late S 期と表現されている細胞に相当すると考えられる。この分類に基づいて、健常者胃粘膜と胃癌患者を検討すると、健常者例では全体に G 型細胞の出現率が高く、年齢、領域別、組織

型別での各型の出現頻度はほぼ一定の傾向を示したのに対して、胃癌症例では、癌の進行と共に D 型細胞の出現が高率であった。すなわち、健常者例においては early S 期細胞が約 40% を占めるのに対し、癌では進行の早い癌では各型とも均一に出現するも、癌の進行とともに middle S 期細胞が増加しており、最も複製能力の高い細胞が多く存在する癌組織ほど悪性度が高いと考えられる。また、各項目別ではいずれにも相関性が認められず、この分類法は従来とは独立した規定因子となりうると考えられる。しかし、天神²⁴⁾は細胞診断学の見地から、G₁, early S 期の細胞は late S 期、G₂ 期の細胞より悪性の性格が少ないと述べており、癌の悪性度との関係については、今後さらに電顕レベル、フローサイトメトリーを用いた 2 重染色、蛍光顕微鏡測光などによる詳細な検討とともに、より簡便な方法で、臨床的に新しく開発されたマーカーとの関連性についても検討が必要であろう。

現在、S 期 LI の研究は、藤兼ら²⁵⁾が報告しているように、抗癌剤の細胞動態に及ぼす影響、癌の放射線、化学療法を効果的に行うための一手段、さらには各種抗癌剤に対して、より感受性の高い症例の選択、といった分野で応用されている。今後、癌の診断、治療がより機能的、効果的に行われるためには、本法がさらに重要な位置を占め、同時に染色様式からみた S 期の識別は、より詳細な判定のための有用な手段となりうると思われる。

稿を終わるに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師である第 2 外科学教室鍋谷欣市教授に深甚なる謝意を表します。また、多くの御教示、御助言を頂いた保健学部細胞診断学教室沢田好明教授、始終親身なご指導をいただいた椎名義雄助教授に感謝の意を表します。さらに本研究にご協力下さった保健学部細胞診断学教室、第 2 外科学教室の諸兄に感謝致します。

なお、本論文の要旨は第 34, 36 回日本消化器外科学会総会(1989 久留米, 1990 東京)で発表した。

文 献

- 1) 田原營一: 〈特集〉胃がん研究最近の知見—オンコジン—。癌と治療 16: 2149—2155, 1989
- 2) 高橋 望: 胃癌の増殖、分化と間質の性状に関する免疫組織化学的研究。日外会誌 90: 1196—1204, 1990
- 3) Gratzner HG: Monoclonal antibody to 5-bromo and 5-Iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. Science 298: 474—475, 1982
- 4) Meyer JS, Hixon B: Advanced stage and early relapse of breast carcinoma associated with high thymidine labeling indices. Cancer Res 39: 4042—4047, 1979
- 5) Braylan RC, Diamond LW, Powell ML et al: Percentage of cells in the phase of the cell cycle in human lymphoma determined by flow cytometry. Cytometry 1: 171—174, 1980
- 6) Hoshino T, Wilson CB: Cell kinetic analyses of human malignant brain tumors (gliomas). Cancer 44: 956—962, 1979
- 7) 芳野裕明: 胃癌細胞核 DNA パターンに関する研究—とくに臨床病理組織学的所見との関連について—。日外会誌 89: 522—533, 1988
- 8) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約(第 11 版)。金原出版, 東京, 1985
- 9) Motteram R: A biopsy study of chronic gastritis and gastric atrophy. J Pathol Bact 63: 389—394, 1951
- 10) Iversen O: Prognostic value of the flow cytometric DNA index in human ovarian carcinoma. Cancer 61: 971—975, 1988
- 11) 大山繁和, 米村 豊, 宮崎逸夫: Anti-BrdU monoclonal antibody を用いた Flow cytometry による胃癌の細胞動態の解析。日外会誌 90: 1848—1854, 1989
- 12) 佐々木功典, 荻野哲朗, 村上知之ほか: モノクローナル抗 BrdU 抗体を利用した人癌組織の標識率測定法。病理と臨 3: 565—567, 1985
- 13) Lacombe F, Belloc F, Bernerd P et al: Evaluation of four methods of DNA distribution data analysis based on bromodeoxyuridine/DNA bivariate data. Cytometry 9: 245—253, 1988
- 14) Young-ling X, Zhi-tian Z: Cell proliferation kinetics in chronic gastritis and gastric cancer. Chi Med J 97: 526—532, 1984
- 15) 杉原洋行, 服部隆則: 防御機構としての細胞回転。クリニカ 15: 343—347, 1988
- 16) Biasco G, Paganelei GM, Brillanti S et al: Cell renewal and cancer risk of the stomach; analysis of cell proliferation kinetics in atrophic gastritis. Acta Gastroenterol Belg 52: 361—366, 1989
- 17) 黒川利雄, 山形 一, 増田久之: X 線像による消化管診断学。第 2 巻, 中山書店, 東京, 1975, p135—142
- 18) 菊山成博: Bromodeoxyuridine および免疫組織化学的手法を用いたヒト癌細胞動態の基礎的、臨床的研究。日外会誌 90: 355—363, 1989
- 19) Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimura T et al: Correlation of DNA ploidy and proliferation activity in human gastric cancer. Cancer 62: 1497—1502, 1988
- 20) Dolbear F, Gratzner H, Pallavicini MG et al:

- Flow cytometric measurement of total DNA content and incorporated bromodeoxyuridine. Proc Natl Acad Sci USA 80 : 5573-5577, 1983
- 21) 磯部 宏, 伊藤正美, 清水 透ほか: 抗 BrdU 抗体を用いた細胞動態の解析. Oncologia 20 : 138-145, 1987
- 22) Nakamura H, Morita T, Sato C: Structural organizations of replicon domains during DNA synthetic phase in the mammalian nucleus. Exp Cell Res 165 : 291-297, 1986
- 23) Dierendonck JH, Keyzer R, Velde CJH et al: Subdivision of s-phase by analysis of nuclear 5-bromodeoxyuridine staining patterns. Cytometry 10 : 143-150, 1989
- 24) 天神美夫: 癌細胞の現状と将来. Karkinos 2 : 1055-1061, 1989
- 25) 藤兼俊明, 清水哲雄: Bromodeoxyuridine に対する単クローン抗体を用いた細胞周期解析法の研究. 日癌治療会誌 23 : 1538-1550, 1988

A Study of Malignant Potentiality of Gastric Cancer in BrdU Staining Pattern

Tadashi Sekihara

Second Department of Surgery, Kyorin University School of Medicine

Fifty asymptomatic human subjects and 50 gastric cancer patients were analyzed by the BrdU-staining indirect enzyme method. In the asymptomatic subjects, the Labeling Index (LI) of histological types was $11.5 \pm 5.3\%$ in atrophic gastritis, $7.2 \pm 3.1\%$ in superficial gastritis, and $5.3 \pm 1.0\%$ in normal gastric mucosa. In the gastric cancer group, the average LI was $17.8 \pm 5.8\%$ for the gastric cancer lesions and $7.2 \pm 3.4\%$ for the noncancerous mucosal lesions. LI correlations with cancer advancement stage, lymph node metastasis, lymphatic permeation and depth of invasion were revealed. In staining patterns of BrdU-positive cells, a significant difference was not seen in the asymptomatic group. On the other hand, in the gastric cancer group, Granular type (Type G) was 35.4%, Diffused type (Type D) was 41.2%, and marginal type (Type M) was 23.9%. A study of these types by advancement stage shows that in stage I all three types were distributed quite evenly. In contrast, the occurrence rate had increased in stage II, Type G, and in stage III and IV, Type D. However, correlations with other factors were not found. These results suggest that the discrimination of the S phase from BrdU-staining patterns before surgery is an effective measure for greater accuracy in diagnosis in estimating the stage of advancement of gastric cancer and in determining operative procedures.

Reprint requests: Tadashi Sekihara Second Department of Surgery, Kyorin University School of Medicine
6-20-2 Shinkawa, Mitaka-shi, 181 JAPAN