日消外会誌　27（4）：858～863，1994年

Proliferating cell nuclear antigen 発現率からみた胃筋原性腫瘍の悪性度に関する検討

大西病院，三重大学医学部附属病院病理部*
里本　一剛　　山際　裕史*　　大西　信行

切除胃に認められた筋原性腫瘍47例（平滑筋腫38例，low grade malignancy を含む平滑筋肉腫 9 例）を対象とし，臨床病理学的事項および PCNA 発現率の測定によりその悪性度に関して検討した．平滑筋肉腫では，平滑筋腫と比べ約 5 歳平均年齢が高く，潰瘍形成を伴うことが多く，平均腫瘍最大径が大きかった．Proliferating cell nuclear antigen（以下，PCNA と略記）発現率は，（mean±SD）平滑筋腫11.5±5.4%，平滑筋肉腫26.3±8.2%，正常胃壁固有筋層平滑筋細胞3.0±1.6%であった．平滑筋腫の中には18%以上の発現率を示すものが 5 例認められたが，平滑筋肉腫の発現率はすべて18%以上の値であった．我々の症例では，転移再発例は平滑筋肉腫の 1 例のみであるが，その PCNA 発現率は37.0%と高率であった．したがって PCNA 発現率の測定は，胃筋原性腫瘍の良悪性の診断における 1 つの有力な指標となりうることが示唆された．

Key words: smooth muscle tumors of the stomach, clinicopathological analysis, immunohistochemical detection, proliferating cell nuclear antigen

はじめに

胃筋原性腫瘍は同部に発生する非上皮性腫瘍のなかでは，悪性リンパ腫と並び頻度が高くまれなものではない．しかし胃に発生する全腫瘍のなかでとらえると，本邦では胃癌が圧倒的に多いため，非上皮性腫瘍の比率は低い[1)~3)]．また，診断・治療の面において現在でも問題が多く，特にその良悪性の判定や悪性度の診断においては，困難な場合がある[4)~6)]．

Proliferating cell nuclear antigen（以下，PCNA と略記）は，ホルマリン固定パラフィン包埋切片においても検出可能な腫瘍細胞増殖活性の 1 指標であり，種々の臨床材料においてその染色性と悪性度の関係を論じられているが，胃腸管筋原性腫瘍において論じた文献はきわめて少ない[7)8)]．

今回我々は切除胃にみられた胃筋原性腫瘍について臨床病理学的検討を加え，さらに免疫組織化学的手法を用い，PCNA 発現率を測定することにより，その悪性度に関して興味ある知見を得ることができたので，若干の考察を加え報告する．

＜1993年12月 8 日受理＞別刷請求先：里本　一剛
〒700　岡山市鹿田町 2 ― 5 ― 1　岡山大学医学部第 1 外科

対象と方法

1964～1992年の29年間に，医療法人大西病院において切除された胃筋原性腫瘍は65例で，このうち切除標本のブロックが保存され種々の検索に耐えうる47例を対象とした．この47例に対し手術が行われた動機は，胃粘膜下腫瘍27例，平滑筋肉腫 3 例，胃・十二指腸潰瘍13例，胃以外の臓器に対する開腹手術時に発見されたもの 4 例であった．腫瘍の発育形態は，Skandalakis らの分類[9)]に準じて胃内・壁内・胃外型に分類し，その他の臨床病理学的所見は胃癌取扱い規約[10)]に準じて記載した．

病理組織学的に，Hematoxilin・Eosin 染色標本を用いて，細胞密度，核異型，核分裂像などから平滑筋腫（38例・以下，筋腫群）と平滑筋肉腫（low grade malignancy 2 例を含む 9 例・以下，肉腫群）の 2 群に分類した．

PCNA 発現率は10%ホルマリン固定，パラフィン包埋切片を用いて測定した．固定時間は 3 日から 1 週間前後まで種々であった．古川らの方法[11)]に準じて，蒸留水中でマイクロウェーブを 5 分間照射し抗原性を復活させたのち，抗 PCNA モノクロナール抗体（DAKO 社製 PC10）を用いて，avidin viotin peroxidase complex 法（Dako 社製 LSAB キット）にて免疫組織化学染色

を行い，400倍で5視野鏡検し，全腫瘍細胞核数に占めるPCNA陽性細胞核数の割合を%で表した．PCNA陽性・陰性の判定は，染色強度の強弱にかかわらず，わずかでも染色されていれば陽性とした．標本内部で陽性細胞の分布に偏りがある場合には，陽性細胞がもっとも多いと考えられる部分から順に視野を選んで測定した．

統計学的処理は測定値を平均値±標準偏差(mean±SD)で表し，有意差検定はt検定および，χ^2検定を用いて行い，危険率5%以下を有意差ありと判定した．

結　果

1）頻度

全切除胃9,392例中，非上皮性腫瘍は118例1.3%でそのうち筋原性腫瘍は65例0.7%であり，非上皮性腫瘍の55.1%を占めた．筋原性腫瘍のうち平滑筋肉腫は13例20.0%を占めた．

2）性差・年齢

男女比は筋腫群1：0.7，肉腫群1：3.5であった．年齢分布は31歳から71歳までで，平均年齢は筋腫群50.2±10.5歳，肉腫群55.4±9.9歳であった(**Fig. 1**)．

3）腫瘍最大径

筋腫群は全例4cm以下で65.8%の症例が2cm以下であった．平均値は1.6±0.9cmであった．肉腫群では5cm以上の症例が2例あり，平均4.2±4.1cmで筋腫群より最大径が大きかった($p<0.01$)が，1cm以下の症例も認められた(**Fig. 2**)．

Fig. 1 Age distribution of the cases

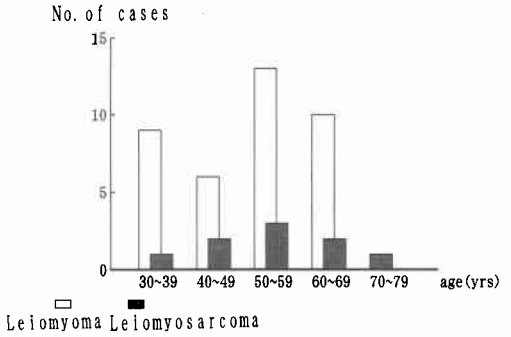
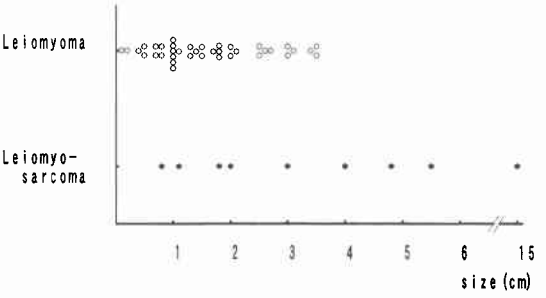


Fig. 2 Distribution of the tumor size



4）発生部位

筋腫群ではC17例，M16例，A 4例，不明1例で，

Table 1 No. of cases, tumor size, frequency of ulceration according to the location

Location	Leiomyoma	Leiomyosarcoma	Size(mean±SD) (cm)	Frequency of ulceration(%)
C	17(2)	5(3)	2.4±1.4	22.7
M	16(0)	2(1)	2.1±3.2	5.6
A	4(0)	2(0)	1.6±0.7	0

C：upper third part of the stomach
M：middle third part of the stomach
A：lower third part of the stomach
(　)：tumor with ulceration

Table 2 No. of cases, tumor size, frequency of ulceration accoding to the patterns of growth

Growth patterns	Leiomyoma	Leiomyosarcoma	Size(mean±SD) (cm)	Frequency of ulceration(%)
Extragastric	8(0)	4(2)	3.1±3.8	16.7
Intragastric	25(2)	5(2)	2.0±1.1] $p<0.01$	13.3
Intramural	4(0)	0	0.4±0.3] $p<0.01$	0

(　)：tumor with ulceration

Table 3 Correlation between the location and the growth patterns

	A	M	C
Extragastric	1	8	3
Intragastric	4	9	17
Intramural	1	1	2

C : upper third part of the stomach
M : middle third part of the stomach
A : lower third part of the stomach

Fig. 3 Distribution of PCNA labeling index

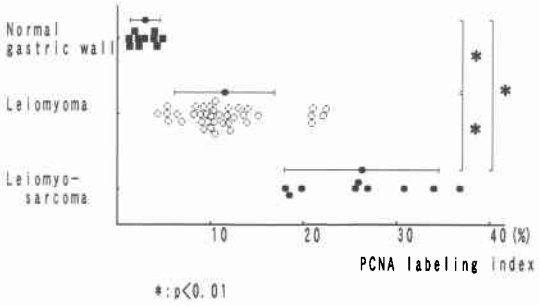


Table 4 No. of cases and tumor size according to the ulceration

	Leiomyoma	Leiomyosarcoma	Tumor size(mean±SD)(cm)
Ulceration+	2	4 ┐ p<0.01	5.6±4.4 ┐ p<0.01
Ulceration−	36	5 ┘	1.6±1.0 ┘

Table 5 No. of cases, tumor size, ulcerative tumor, location and the patterns of growth according to PCNA labeling index

L.I. of PCNA (%)	Leiomyoma	Leiomyosarcoma	Size(mean±SD) (cm)	Frequency of ulceration(%)	Location			Growth patterns		
					C	M	A	e.g.	i.g.	i.m.
L.I.<18	33(2)	0	1.7±1.0	6.1	16	13	4	6	23	4
L.I.≧18	5	9(4)	3.1±3.6	28.6	6	5	2	6	7	0

L.I. : labeling index
C : upper third part of the stomach
M : middle third part of the stomach
A : lower third part of the stomach
e.g. : extragastric type
i.g. : intragastric type
i.m. : intramural type
( ) : tumor with ulceration

肉腫群では同様に5例，2例，2例であり発生部位に差を認めなかった．また発生部位別の腫瘍径，潰瘍合併率にも差を認めなかった（**Table 1**）．

5）発育形式

筋腫群では胃内型25例，壁内型4例，胃外型8例，不明1例であった．肉腫群では壁内型発育を示すものはなく，胃内型5例，胃外型4例であった．両群間において発育形式に差は認められなかった．また発育形式別にみた潰瘍合併率に差はなく，発生部位との間には関連性を認めなかった（**Table 2, 3**）．

6）潰瘍形成の有無

腫瘍に潰瘍形成を認めたものは筋腫群で2例5.3%，肉腫群で4例44.4%であり，肉腫群で潰瘍合併率が高かった（$p<0.01$）．また潰瘍を合併するものは腫瘍径が大きかった（$p<0.01$）（**Table 4**）．

7）PCNA 発現率

PCNA 発現率は筋腫群11.5±5.4%，肉腫群26.3±8.3%と肉腫群で発現率が高かった（$p<0.01$）．また非腫瘍部における正常胃壁固有筋層で，平滑筋細胞のPCNA 発現率を無作為に10例抽出し測定した結果では，3.0±1.6%であり，筋腫群，肉腫群との間に有意差を認めた（ともに $p<0.01$）．さらに発現率の分布をみてみると，筋腫群のなかに18%以上の発現率を示すものが5例認められたが，これらは臨床的に明らかな再発を認めていない．また肉腫群での発現率の最低値は18.1%ですべて18%以上の発現率であった．肉腫群の中に再発・転移を認めた症例が1例あり，そのPCNA 発現率は37.0%と高率であった．PCNA 発現率18%を境にして，腫瘍径，潰瘍合併率，占居部位，発育形式の各因子を検討したが統計学的有意差は認められなかった（**Fig. 3, Table 5**）．

考　察

胃筋原性腫瘍の良悪性の診断における問題点としては，1）同一腫瘍内でも部位により組織学的悪性度が異

Table 6 Clinicopathological findings of 47cases with smooth muscle tumors of the stomach

	Leiomyoma (n=38)	Leiomyo-sarcoma (n=9)	
Sex distribution			
male	22	2	N.S.
female	16	7	
Average age			
mean±SD	50.2±10.5	55.4±9.9	N.S.
Location			
C	17	5	N.S.
M	16	2	
A	4	2	
Growth patterns			
extragastric	8	4	N.S.
intragastric	25	5	
intramural	4	0	
Frequency of ulceration(%)	5.3	44.4	p<0.01
Tumor size			
range	0.1~3.5	0.8~15.0	p<0.01
averge	1.6±1.0	4.2±4.1	

なることがしばしばあること[14], 2）術後病理組織診断で良性と診断されても再発転移をきたす症例があること[4)12)], 3）核分裂像，細胞密度，核異型などの指標があるがこれらを数値で決めて一様に診断することは困難で，ある程度主観の入る余地があるため，病理学者により診断が異なる可能性があること[5)], 4）平滑筋肉腫には，悪性度が筋腫に近い非常におとなしいものから，高頻度に転移をおこす著しく悪性のものまで，幅広いものが含まれるにもかかわらず，これを規定する因子が明らかでないことなどである．

そこで今回胃筋原性腫瘍の悪性度に関与する因子を明らかにすべく種々の臨床病理学的事項およびPCNA発現率について検討した．平均年齢は肉腫のほうが高いとする報告が多く，今回の検討でも約5歳肉腫群の平均年齢が高かったが，統計学的有意差は認めず，一方これとは逆の報告あるいは差はないとする報告もあり，切除の時点での差である可能性がある．発育形式については筋腫では胃の内腔方向への発育を，肉腫では胃外方へ向かう発育をするものが多い傾向が認められるが，今回の検討では有意差は認めなかった．潰瘍形成の有無をみると，肉腫のほうが潰瘍を伴うものが多いという報告が多く，我々の検討でも同様の結果であり，潰瘍を合併するものは腫瘍径が有意に大きかった．腫瘍内部の線維形成の乏しさ，腫瘤の増大傾向の強さを反映した結果であると考えられる．

以上の点およびこれまで多数報告されているごとく[6)13)]，肉眼所見として重要な因子は腫瘍径であると考えられ，5cmと10cmのレベルを境にして予後が変化するという報告が多い[14)15)]．我々の症例で転移・再発をきたしたのは，9年の経過で計5回の局所再発および腹膜播種性転移をきたし，結局は腫瘍死した1例のみであり，初発時の腫瘍最大径は15cmと巨大な腫瘤であった．なおリンパ節転移については，我々の症例には陽性例を認めなかった．

組織学的悪性度の指標としては，核分裂像がもっとも重視され，予後ともよく相関するとの報告が多い[3)6)16)]が，その測定方法，cut off valueの設定に若干主観の入る余地のあることが問題点である．また近年DNA flow cytometryによってDNA ploidyを測定し，悪性度および予後の判定に用いようとする報告[16)17)]もみられるが，より簡便に施行可能なPCNAの免疫組織化学的染色から胃筋原性腫瘍の悪性度を考察した文献はほとんどなく[7)8)]今回この点につき検討した．PCNAは細胞周期のG1後期からS期にかけて最大限に合成される核蛋白で，DNA polymerase δ の補助蛋白として機能しており，通常のホルマリン固定パラフィン包埋標本でも染色可能な点から，多くの臨床材料への応用が期待される増殖細胞検出法である[18)~20)]．しかしPCNA発現性については，対象標本の固定条件により影響を受け，その染色強度や陽性率に差が生じることが指摘されており，特に通常の病理検査に用いられる10%非緩衝ホルマリン固定液で長時間固定された標本での検討は不適当であるとする報告もある[21)]．また染色強度のバラツキのため陽性・陰性の判定に主観が入りこむ余地が残っており，陽性率は必ずしも客観的ではなく，単に陽性率のみを指標として用いることは適当ではないとの報告もある[22)]．一般的に固定条件が一定でない通常病理検査用のパラフィン切片を用いたretrospectiveな免疫組織化学染色結果の解釈は，慎重でなければならない．しかし今回の検討では正常胃壁，筋腫群，肉腫群の間に明らかな陽性率の違いが認められ，かつオーバーラップする部分も少なく，転移・再発例は1例のみではあるが非常に高い陽性率を示していた．PCNA陽性率と臨床病理学的因子との関係についても，PCNA発現率18%を境にして検討したところ，腫瘍径，潰瘍形成率をはじめとして，

どの項目も有意な差を認めなかった．特に予後との関連性からも重要である腫瘍径と PCNA 発現率の関係をみてみると，1cm 以下の肉腫は1例のみであるが，その PCNA 発現率は26%でより大きい肉腫と大差なかった．逆に5cm 以上のものは2例あって，そのうちの1例は前述の転移・再発例で37%と高い発現率を示した．転移・再発を認めない残りの1例も，PCNA 発現率34%と2番目に高い値を示した．症例数が少ないので確定的なことは言えないが，5cm を境に，悪性度を反映して PCNA 発現率も高値となる可能性が考えられる．マイクロウェーブによる PCNA 抗原性の復活の機序には不明な点もあるが特殊な前処置を必要とせず，迅速かつ簡便に施行可能な方法でこのような結果がえられたことは興味深く，当院のごとき一般市中病院においても，ルチーンの病理検査並みに手軽に行いうることから，症例の蓄積も可能であると考えられる．今回の検討では最初に対象群を設定する際に核分裂像から分類したため，核分裂数について十分検討していないが，PCNA 陽性率と核分裂数，腫瘍径などと組み合わせて判断することにより，悪性度の診断および予後の予測が可能になるのではないかと考えている．今後さらに症例を重ね検討を加えたい．

稿を終えるにあたり免疫組織化学染色にご協力いただいた大西病院検査室西井宗男氏に感謝の意を表します．

文　献

1) 大井　実，三穂乙実，伊東　保ほか：非癌性胃腫瘍—全国93主要医療施設からの集計的調査—．外科 29：112—133，1967
2) 佐野量造，広田映五，下田忠和ほか：胃肉腫の病理．胃と腸 5：47—58，1970
3) 高木國夫，山本英昭：胃腸管平滑筋肉腫—50例の臨床的特徴について—．消外 5：1507—1513，1982
4) Goldn T, Stout AP: Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitneal tissues. Surg Gynecol Obstet 73：784—810，1941
5) 山際裕史，松崎　修，石原明徳ほか：胃の筋原性腫瘍の臨床病理学的検討．最新医 33：793—799，1978
6) Lindsay PC, Ordonez N, Raaf JH: Gastric leiomyosarcomas. Clinical and pathological review of fifty patients. J Surg Oncol 18：399—421，1981
7) Oyama T, Watanabe H, Iwafuchi M et al: Diagnostic value of proliferating cell nuclear antigen for myogenic tumors of the stomach. Gastroenterol Jpn 28：193—200，1993
8) Yu CC, Fletcher CD, Newman PL et al: A comparison of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region (AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors. J Pathol 166：147—152，1992
9) Skandalakis JE, Gray SW, Shepard D: Smooth muscle tumor of the stomach. Int Abstr Surg 110：209—226，1960
10) 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
11) 古川文夫，古田京子，鈴木順子ほか：増殖細胞核抗原(PCNA)免疫染色における抗原性の復活法．臨検 36：1275—1278，1992
12) Appelman HD, Helwig EB: Sarcomas of the stomach. Am J Clin Pathol 67：2—10，1977
13) Shiu MH, Farr GH, Papachristou DN et al: Myosarcomas of the stomach. Natural history, prognostic factors and management. Cancer 49：177—187，1982
14) 笹子三津留，木下　平，丸山圭一ほか：胃平滑筋肉腫51切除例からみた切除術式の検討．日消外会誌 22：2212—2216，1989
15) 湯浅典博，高木國夫，太田博俊ほか：胃筋原性腫瘍76例の臨床的検討．日外会誌 93：248—256，1992
16) 船坂真理，中村　毅，多淵芳樹ほか：胃平滑筋原性腫瘍の臨床病理学的ならびにフローサイトメトリーによるDNA量の検討．日消外会誌 25：1937—1941，1992
17) 杉平宣仁：消化管筋原性腫瘍における DNA ploidy の臨床的意義．日消外会誌 26：853—858，1993
18) Rodrigo B, Rainer F, Patricia AB et al: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase δ. Nature 326：515—517，1987
19) Hall PA, Woods AL: Immunohistochemical markers of cellular proliferation. Achievements, problems and prospects. Cell Tissue Kinet 23：505—522，1991
20) 田中一成：抗 PCNA 抗体による増殖細胞核の染色，パラフィン切片への応用．病理と臨 9：791—798，1991
21) 中野　浩，生田目公夫，仲吉昭夫ほか：Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) 発現率による胃癌増殖活性の評価—その基礎的検討と臨床応用について—．日外会誌 94：580—592，1993
22) Jain S, Filipe MI, Hall PA et al: Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. J Clin Pathol 44：655—659，1991

A Study on Malignant Potential of Smooth Muscle Tumors of the Stomach by Labeling Index of Proliferating Cell Nuclear Antigen

Kazutaka Satomoto, Hiroshi Yamagiwa* and Nobuyuki Ohnishi
Ohnishi Hospital
*Department of Clinicalpathology, Mie University School of Medicine

The malignant potential of gastric leiomyogenic tumors was studied by clinicopathological analysis and measurement of the labeling index of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) of 47 surgically resected specimens (38 leiomyomas, 9 leiomyosarcomas including those with low-grade malignancy). An ulcerative tumor and large tumor size suggested malignancy. The labeling index of PCNA (mean ± SD) was 11.5 ± 5.4% in leiomyomas, 26.3 ± 8.2% in leiomyosarcomas and 3.0 ± 1.6% in normal gastric proper musclelayers. Five leiomoymas showed a labeling index of PCNA over 18%, but al leiomyosarcomas had an index of more than 18%. Only one case, in which the labeling index was 37%, was metastatic and recurrent. Therefore determination of the labeling index of PCNA may be a useful diagnostic guideline to distinguish malignant from benign gastric leiomyogenic tumors.

Reprint requests: Kazutaka Satomoto First Department of Surgery, Okayama University School of Medicine
2-5-1 Shikata-cho, Okayama, 700 JAPAN