日消外会誌　27（4）：979～982，1994年

特集 9

胃癌の転移に関与した生物学的特性の解明と治療法の確立

九州大学医学部第2外科学教室
前原　喜彦　大城　辰雄　大岩　久夫　遠藤　和也
掛地　吉弘　折田　博之　奥山　稔朗　劉　啓
大野　真司　馬場　秀夫　杉町　圭蔵

胃癌の転移予知に応用可能な危険因子をロジスティック判別分析で検討した．独立した危険因子として，リンパ節転移については漿膜浸潤陽性・c-erbB-2陽性・異常p53陽性・DNA high ploidy，肝転移では漿膜浸潤陽性・静脈侵襲陽性，腹膜播種では漿膜浸潤陽性・未分化型・c-erbB-2陽性があげられた．次にsuccinate dehydrogenase inhibition test（SDI法）を用いて制癌剤感受性を検討したところ，リンパ節転移巣は原発巣に比べ，検討したすべての薬剤に高感受性であったが，逆に肝転移巣では原発巣より低感受性を示した．組織型では腹膜播種をきたしやすい未分化型は分化型に比べ高感受性であった．腹膜播種の危険因子である漿膜浸潤を有する胃癌切除症例に対し，OK-432の腹腔内投与を加味した化学療法を行ったところ，治癒手術後の腹膜再発が減少し予後が向上した．以上より，転移の高危険群には，各症例の特性に基づいた化学療法（type-oriented chemotherapy）が必要と考えられる．

Key words: gastric cancer, multivariate analysis, metastasis

I. 緒　言

胃癌の転移に関与する生物学的特性を解明するうえで，単変量解析では因子間の内部相関による影響を無視できない．一方，離散量や連続量の内部相関を補正することができるロジスティック判別分析による多変量解析を行うと，各転移形式と密接な関係を持つ独立した危険因子（risk factor）が求められ，転移の予知が可能となる．この方法を用いて種々の臨床病理学的因子および癌関連遺伝子異常（c-erbB-2蛋白発現，p53異常蛋白発現）より胃癌の転移に関与する生物学的特性を検索した．さらにリンパ節転移，肝転移，腹膜播種の各転移に対する治療法についての検討を行った．

II. 対象と方法

1）多変量解析

1965年から1985年までに胃切除を施行した胃癌1,620例を対象とし，胃癌におけるリンパ節転移，肝転移，腹膜播種の各転移形式と密接な関係をもつ危険因子（risk factor）を，IBM4381汎用コンピューターとBiomedical Computer Programを使用したロジスティック判別分析による多変量解析を用いて調べた[1]．解析した因子は種々の臨床病理学的因子の他，癌関連遺伝子異常としてc-erbB-2蛋白の発現，異常p53蛋白の発現，さらにDNA ploidy patternを検討した．

c-erbB-2については1976年から1987年に当科において切除された胃癌160例を対象に，そのホルマリン固定標本を抗c-erbB-2蛋白モノクロナール抗体（Triton）を用いたABC染色法により染色しc-erbB-2産物発現を解析し，癌細胞の10％以上が染色されるものを陽性と判定した．

p53については1989年から1990年に当科において切除された胃癌96例を対象にp53異常蛋白を認識するモノクロナール抗体PAb240（Oncogene Science）を用いたABC染色を施した．明瞭に核が褐色に染まるものをp53異常蛋白陽性とした（**Fig. 1**）．

DNA ploidy patternについては1976年から1985年までに当科にて切除された胃癌のうち，進行胃癌203例を対象とした．癌の中心切片とそれに隣接する周囲粘膜を含むパラフィンブロックを選び，100μ切片を作成し，細胞単離塗抹後，DAPI蛍光標本を作製した．細胞

＊第42回日消外会総会シンポ2・消化器癌の転移の予知とその対策

＜1993年12月8日受理＞別刷請求先：前原　喜彦
〒812　福岡市東区馬出3－1－1　九州大学医学部第2外科

Fig. 1 Photomicrograph of primary gastric cancer as seen in a frozen section stained using monoclonal antibody PAb240

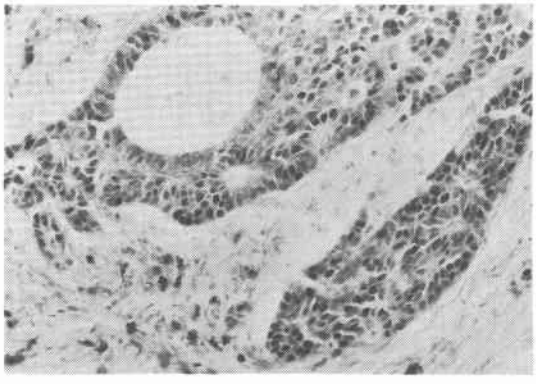
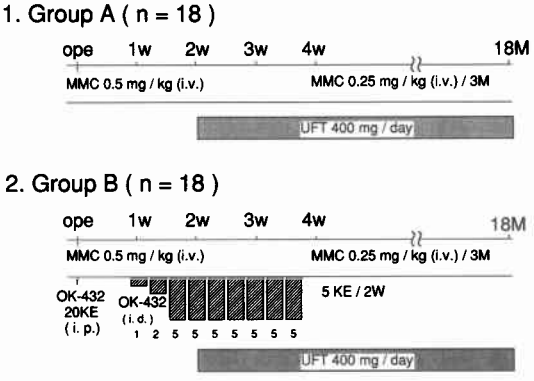


Fig. 2 Schedule for postoperative chemotherapy including OK-432



核DNA量の測定はライツ社製MPV3蛍光測光装置を用いた．まず，コントロールとして30個のリンパ球を測定し，その平均値を2cと定義した後，癌細胞200個について測定した．核DNA量が6c以上が10%以上のものをhigh ploidy，10%未満のものをlow ploidyと定義した．

2）治療法の検討

a）Succinate dehydrogenase inhibition（SDI）法による制癌剤感受性の検討

転移巣あるいは転移高危険群に対する治療法を検索するため，SDI法による感受性試験を行った．SDI法は，TCAサイクルのコハク酸脱水素酵素活性（SD活性）を腫瘍細胞のviabilityの指標とするin vitroの制癌剤感受性試験である．SD活性が低いほど制癌剤の殺細胞作用が高いと考えられる．癌組織を鋏みで細切し，酵素処理を行って細胞浮遊液とした後，制癌剤と接触させて3日間培養した．この沈渣に3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide（MTT）とコハク酸ナトリウムを加えて3時間反応した後，さらにDMSOを加えてフォルマザンを抽出し540nmの吸光度にて測定した．この吸光度の制癌剤未処理のコントロールに対する百分率を制癌剤に対する感受性として示した．

まず，リンパ節転移巣11例，肝転移巣5例についてSDI法による制癌剤感受性を調べ，同一症例の原発巣と感受性の比較を行った．次に，腹膜播種の高危険群である未分化型胃癌症例41例の感受性を測定し，分化型胃癌症例16例と比較した．制癌剤はcarboquone（CQ），adriamycin（ADM），mitomycin C（MMC），aclacinomycin A（ACR），cisplatin（CDDP），5-fluorouracil（5-FU）の6種類を使用した．

b）漿膜浸潤胃癌に対するOK-432腹腔内および皮内投与を加味したMMC，UFT併用療法

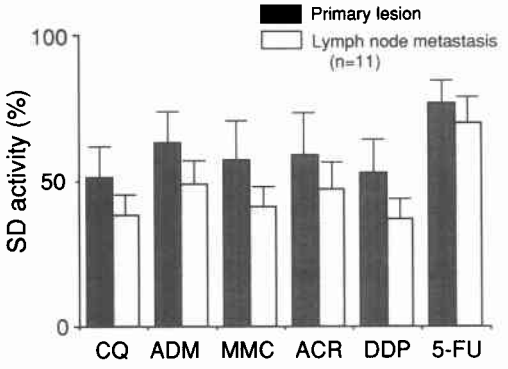
1987年2月から1988年11月までに当科で治癒切除のなされた漿膜浸潤胃癌（S2，S3）36例を対象に，OK-432の腹腔内投与を加味したMMC，UFT併用療法の有効性について検討した．まず封筒法により対照群18例およびOK-432投与群18例に分類した．対照群（Group A）ではMMCの術当日および術後3か月ごとの静注，UFTの術後2週目以降の経口投与のみとした．OK-432投与群（Group B）ではさらに手術時にOK-432を20KE腹腔内投与し，術後1週目より術後4週目まで1週につき3回，4週目以後は2週に1回5KEを皮内投与した（**Fig. 2**）．

III. 結　果

1．多変量解析による各転種形式の危険因子

c-erbB-2蛋白陽性症例は対象160例中，17例11%であった．c-erbB-2産物発現と術後成績について検討した．c-erbB-2産物発現陽性例の5年の生存率は29%，陰性例の5年生存率は47%であり陽性例の予後が有意に不良であった（$p<0.01$）．次にc-erbB-2産物発現と転移形式との関係についてみると，c-erbB-2産物発現陽性例では，腹膜播種，リンパ節転移，肝転移の頻度はおのおの41%，94%，18%であり，陰性例の11%，68%，5%に比べ有意に高率であった（$p<0.05$）．p53異常蛋白陽性例は対象96例のなかで52例（54%）であった[3]．リンパ節転移陽性率はp53異常蛋白陽性群は85%（44/52）であり，陰性群の64%（28/44）に比べて有意に高

Fig. 3 Comparison of the SD activities between primary lesions and lymph node metastasis



かった($p<0.05$). また静脈侵襲についても p53陽性群では，陰性群に比べ有意に多かった．予後との相関をみると，3年生存率は陽性群33.6%であり，陰性群の57.6%に比べて予後不良の傾向がみられた．

ロジスティック判別分析を行い，各転移に関与する危険因子 risk factor を統計学的に検出した．各転移様式に対する危険因子はリンパ節転移で漿膜浸潤陽性・c-erbB-2陽性・異常 p53陽性・DNA high ploidy，肝転移で漿膜浸潤陽性・静脈侵襲陽性，腹膜播種で漿膜浸潤陽性・未分化型・c-erbB-2陽性であった．

2）治療法の検討

a）SDI 法

リンパ節転移巣の SD 活性は原発巣に比べ低値を示し，原発巣に比べリンパ節転移巣での制癌剤に対する高い感受性が示された[4]（**Fig. 3**）．肝転移巣については，逆に原発巣より肝転移巣において制癌剤に対する感受性が低かった[4]（**Fig. 4**）．組織分化型と感受性との関連の検討では，腹膜播種が高頻度に認められる未分化型では分化型よりいずれの薬剤においても相対的に高い感受性を示した[5]（**Fig. 5**）．

b）OK-432投与を加味した化学療法の漿膜浸潤胃癌に対する有効性

両群とも S2, S3症例がそれぞれ14例，4例であり組織型，リンパ節転移，根治度など臨床病理学的背景因子の偏りはなかった．また，薬剤投与量をみると，MMC, UFT 投与量について両群間に差はなく，投与群における OK-432平均投与総量は121.9±73.8KE であった．5年生存率は OK-432投与群66.1%，対照群26.9%で，OK-432投与群で有意に予後良好であった($p<0.01$). 両群の術後無再発率をみると OK-432投与群では66%（12/18），対照群では33%（6/18）であり，

Fig. 4 Comparison of the SD activities between primary lesions and liver metastasis

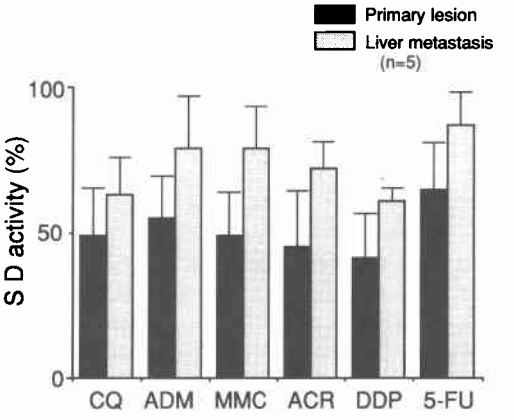
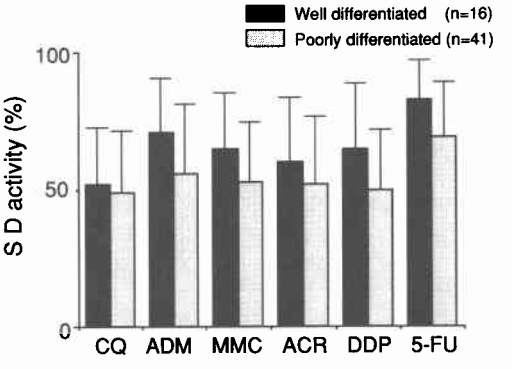


Fig. 5 Comparison of the SD activities between differentiated ademocarcinomas and poorly differentiated adenocarcinomas



OK-432投与群で有意に良好であった．両群の再発形式についてみると，対照群18例では再発の無かったものが5例，腹膜再発が7例，腹膜以外の再発が6例であった．投与群では再発例は合計6例で，腹膜再発は1例のみであった．このように投与群で再発率が低い傾向にあり，特に腹膜再発の頻度も低下していた．また，腹膜再発の時期をみると，対照群の腹膜再発は7例とも術後24か月以内に認められたが，投与群の1例については術後30か月にみられた．このように，OK-432投与を加味することにより，予後が改善され腹膜再発に対する治療効果を得られることが判明した[8]．

IV. 考　察

胃癌の転移に関与する生物学的特性を解明する目的で，ロジスティック判別分析による多変量解析を行ったところ，リンパ節転移，肝転移，腹膜播種の各転移

形式と密接な関係を持つ独立した危険因子（risk factor）が明らかになり，これらの転移をある程度予知可能な危険群が設定された．

これらの転移形式の高危険群に対して胃癌治療のstrategyを立てるために，制癌剤感受性試験SDI法を行った所，感受性は原発巣に比べ，リンパ節転移巣では高く，肝転移巣では低かった．また腹膜再発の高危険群である未分化型胃癌は分化型胃癌にくらべて高い感受性を示した．今回の結果より，リンパ節転移巣に対しては化学療法の効果が期待できるが，肝転移巣に対しては化学療法のみでは無効で，効果的な治療法の確立など工夫が必要と考えられた．腹膜播種の危険群である未分化型胃癌については制癌剤に対する感受性が高く，さらに今回報告したOK-432投与を加味した治療のように，化学療法に免疫細胞を修飾するような治療法で効果が期待できると考えられる．

胃癌の生物学的特性の解析より転移の予知が可能となった．またこれらの危険因子の中には，従来の臨床病理学的因子に加え癌関連遺伝子異常（c-erbB-2蛋白発現，p53異常蛋白発現）が含まれていたことは興味深い．さらに転移の高危険群には，各特性に基づいた化学療法（Type-oriented chemotherapy）の確立が必要と考えられる．

文　献

1) Dixon WJ et al: BMDP Statistical Software Manual. University of Califomia Press Inc., Berkeley, 1988, p133—744
2) Kohnoe S, Emi Y, Sakagui Y et al: The microtiter SDI test is more advantageous than the SDI test for assessing the chemosensitivity of human tumor cells. Anti-Cancer Drugs 2: 145—152, 1991
3) Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S et al: Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasizing to lymph nodes. Br J Cancer 67: 589—593, 1993
4) Kusumoto H, Maehara Y, Kusumoto T et al: Chemosensitivity differences between primary and metastatic lesions of clinical gastric cancer. Eur J Surg Oncol 14: 685—689, 1988
5) Maehara Y, Anai H, Kusumoto H et al: Poorly differentiated human gastric carcinoma is more sensitive to antitumor drugs than is well differentiated carcinoma. Eur J Surg Oncol 13: 203—206, 1987
6) 奥山稔朗，前原喜彦，大城辰雄ほか：漿膜浸潤胃癌の術後腹膜再発に対するOK-432併用化学療法の予防効果とその作用機序に関する研究，4(臨増)：145，1993

Certification of Biological Character and Strategy for Treatment in Regard to the Metastasis of the Gastric Cancer

Yoshihiko Maehara, Tatsuo Oshiro, Hisao Ohiwa, Kazuya Endo, Yoshihiro Kakeji, Hiroyuki Orita, Toshiro Okuyama, Liu Qi, Shinji Ohno, Hideo Baba and Keizo Sugimachi

Department of Surgery II, Faculty of Medicine, Kyushu University

To determine independent risk factors for metastasis of gastric cancer, we carried out multivariate analysis using stepwise logistic regression. The multivariate analysis revealed that the presence of serosal invasion, c-erB-2 protein expression, abnormal p53 expression and DNA high ploidy are independent risk factors for lymph node metastasis. The presence of serosal invasion and venous involvement were independent risk factors for liver metastasis. The presence of serosal invasion, undifferentiated types and the expression of c-erB-2 were independent risk factors for peritoneal dissemination. The succinate dehydrogenase inhibition (SDI) test was used to determine chemosensitivity. The sensitivities were relatively higher in poorly differentiated tissues than in well-differentiated tissues. Lymph node metastasis was more sensitive to anticancer drugs than the primary lesions, while hepatic metastasis was less sensitive than the primary lesion. The concomitant administration of OK-432 and anticancer drug for patients with gastric cancer invading the serosa significantly decreased the rates of peritoneal recurrence and improved survival rate. These data show that "type-oriented chemotherapy" is essential for high-risk gastric cancer patients based on individual biological characteristics.

Reprint requests: Yoshihiko Maehara　Department of Surgery II, Faculty of Medicine, Kyushu University
3-1-1 Maidashi, Higashiku, Fukuoka, 812 JAPAN