日消外会誌　27 (10)：2289～2292，1994年

特集 6

胃癌の再発に関与した生物学的特性に基づく治療法の確立

九州大学第 2 外科
前原　喜彦　大城　辰雄　大岩　久夫　冨崎　真一
坂口　善久　楠本　哲也　大野　真司　馬場　秀夫
市吉　裕二　杉町　圭蔵

胃癌の再発予知に応用可能な危険因子をロジスティック判別分析法で検討した．独立した危険因子として，腹膜播種については漿膜浸潤陽性・Borrmann 4 型，血行性再発ではリンパ節転移陽性・静脈侵襲陽性があげられた．一方，癌関連遺伝子異常との関係では c-erbB-2蛋白の発現と腹膜播種，リンパ節転移，肝転移の関係および，異常 p53蛋白の発現とリンパ節転移との関係が示唆された．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高感受性を示したが，逆に肝転移巣では低感受性であった．腹膜播種巣では cisplatin に対し高感受性を示した．さらに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，再発の高危険群には，各症例の特性に基づいた化学療法（type-oriented chemotherapy）が必要と考えられた．

Key words: gastric cancer, multivariate analysis, recurrence

I. 緒　言

胃癌術後の腹膜播種および肝転移などの血行性転移は治癒切除後であっても高頻度に認められる再発形式であり，胃癌手術単独の成績向上の障壁となっている．術後再発の予防のために現在多くの補助化学療法が試みられているが，癌の生物学的特性に基づいた治療がなされているとはいいがたい．本研究の目的として胃癌の再発に密接に関与した危険因子を明らかにし，再発の予知とそれに基づいた治療法の確立を行うこととした．

II. 対象と方法

1）胃癌再発の risk factor の解析

a）多変量解析：ロジスティック判別分析[1]

1970年から1985年に九州大学第 2 外科において治癒切除の施された進行胃癌症例のうち405例を対象とした．再発死亡例における主な再発形式を調べ，各再発形成と密接な関係をもつ危険因子（risk factor）を臨床病理学的因子を中心に，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法を用いて検討した．

b）癌関連遺伝子異常

c-erbB-2については1976年から1987年に九州大学第 2 外科において切除された胃癌ホルマリン固定標本160例を対象とし，抗 c-erbB-2蛋白モノクローナル抗体（Triton 社製 mAb 1）を用いた ABC 染色法により c-erbB-2産物発現を解析した．p53については1989年から1993年に九州大学第 2 外科において切除された胃癌新鮮凍結標本143例を対象とし，異常 p53蛋白を認識するモノクローナル抗体 PAb240（Oncogene Science）を用いた avidin-biotin-peroxidase complex（ABC）染色を施した[2]．そして，c-erbB-2蛋白と異常 p53蛋白の有無と転移形式に対する影響を検討した．

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

再発時における治療法を検討するため胃癌原発巣と転移巣の 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活性（SD 活性）を腫瘍細胞の viability の指標とする in vitro の制癌

＊第43回日消外会総会シンポ 1 (1)・再発，浸潤形式からみた消化器癌に対する治療の工夫―消化管
＜1994年 7 月 6 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

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dimethyl sulfoxide (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10例，肝転移巣5例，腹膜播種巣6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．制癌剤はadriamycin (ADM)，mitomycin C (MMC)，cisplatin (CDDP) の3種類を使用した[3]．

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

腹膜播種再発の高危険群である漿膜浸潤胃癌の術後再発予防としてOK-432の腹膜内投与を加味した併用化学療法の有効性について検討した．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．治療プロトコールは，対照群では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，OK-432投与群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週目までは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．

III. 結　果

1) 胃癌再発のrisk factorの解析

a) 多変量解析：ロジスティック判別分析

再発死亡例は405例中，168例 (41.5%) であった．内訳は腹膜播種が53例 (31.5%)，血行性転移が60例 (35.7%) と多くそのうち肝転移が43例 (25.6%) を占めた (**Table 1**)．従って，腹膜播種および血行性転移の2つの再発形式をターゲットにした治療が必要と考えられた．ロジスティック判別分析を用いて腹膜再発と血行再発に関与したrisk factorを解析したところ，腹膜再発では漿膜浸潤およびBorrmann 4型で相対危険度がそれぞれ2.57および1.95，血行性再発ではリンパ節転移と脈管侵襲で相対危険度がそれぞれ2.62および1.59であった[1] (**Table 2**)．つまり，それぞれの因子が存在することにより相対危険率が上昇していると考えられた．

Table 1　Predominant recurrence pattern in patients who died of gastric cancer after curative gastrectomy

(%)

Recurrence pattern			Patients (n=168)
Peritoneal dissemination	53		(31.5)
Haematogenous metastasis	60		(35.7)
Liver		43	(25.6)
Lung		8	(4.8)
Brain		5	(3.0)
Bone		4	(2.4)
Local recurrence	19		(11.3)
Others	36		(21.4)

Table 2　Results of logistic regression analysis to determine independent risk factors for each recurrence pattern

Risk factor	P-value	Relative risk
Peritoneal dissemination		
Serosal invasion (none, present)	$p<0.01$	2.57
Borrmann type 4 (the others, present)	$p<0.01$	1.95
Hematogenous metastasis		
Lymph node metastasis (none, present)	$p<0.01$	2.62
Vessel invasion (none, present)	$p<0.05$	1.59

b) 癌関連遺伝子異常

c-erbB-2蛋白陽性と判定された症例は対象160例中，17例11%であった．c-erbB-2蛋白発現と転移形式との関係についてみると，c-erbB-2蛋白陽性例では，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異常蛋白の発現例は原発巣134例のなかで69例 (51%) であった．p53異常蛋白の発現と転移形式についてみると肝転移，腹膜播種では有意差がなかったものの p53異常蛋白の発現例では，リンパ節転移の頻度は69例中56例81%であり，陰性例の62%に比べ有意に高率であった ($p<0.05$)．

2) 治療法の検討

a) SDI法による制癌剤感受性の検討

リンパ節転移巣のSD活性はすべての薬剤について

原発巣に比べ低く，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．一方，血行性転移である肝転移巣については，原発巣より制癌剤に対する感受性が低かった[4]．腹膜播種巣ではCDDPについてのみ原発巣より高い感受性を示した．

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

両群の臨床病理学的背景因子の偏りはなかった．また，薬剤投与量についても，両群間のMMC，UFT投与量の差はなく，OK-432投与群における平均OK-432投与総量は，121.9±73.8KEであった．予後についてみると5年生存率はOK-432投与群66.1%，対照群26.9%で，有意にOK-432投与群で良好な傾向を認めた．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，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[5]．

IV．考　察

胃癌に対する手術の治療成績は，この20年間に飛躍的に向上した．この予後の向上は，予防的広範囲リンパ節郭清を主とする拡大根治手術の標準化と併用癌化学療法の進歩によると考えられている．しかし，胃癌手術単独の成績にはおのずと限界があり，術後再発の予防のために現在多くの補助化学療法が試みられているが，癌の生物学的特性に基づいた治療がなされているとはいいがたい．

胃癌の再発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，再発死亡例の主な再発死亡例である腹膜播種および血行性転移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，これらの再発をある程度予知可能な危険群が設定された．また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）も転移再発の予知に有用であることが明らかとなった．

これらの再発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．また腹膜再発はCDDPにおいて高い感受性を示した．個々の癌組織の制癌剤感受性に基づいて投与薬を決定することは今後の治療のあるべき方向である．さらに感受性結果を詳細に解析することで感受性を規定している種々の因子を明らかにすれば化学療法の効果が期待できる胃癌症例を選別でき，また効果の期待できない症例に対してはどのようなアプローチが必要かといった，いわゆるtype-orientedなregimenを決定することができよう．

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あるため，biochemical modulationなど効果的な治療法の確立など工夫が必要と考えられた．腹膜播種にはCDDPの効果が期待でき，さらに今回報告したOK-432投与を加味した治療のように，化学療法に免疫療法を併用した治療法で効果が期待できると考えられる．

今後さらに再発高危険群の各特性に基づいた化学療法を確立していくことが必要と考えられた．

文　献

1) Moriguchi S, Maehara Y, Korenaga D et al: Risk factors which predict pattern of recurrence after curative surgery for patients with advanced gastric cancer. Surg Oncol 1: 341—346, 1992
2) Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S et al: Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. Br J Cancer 67: 589—593, 1993
3) Kohnoe S, Emi Y, Sakaguchi 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
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, Okuyama T, Kakeji Y: Postoperative chemotherapy including the intraperitoneal and intradermal administration of the streptococcal preparation OK-432 effective for patients with gastric cancer. Am J Surg 168: 36—40, 1994

Certification of Biological Character and Therapy in Regard to the Recurrence of the Gastric Cancer

Yoshihiko Maehara, Tatsuo Oshiro, Hisao Ohiwa, Shinichi Tomisaki, Yoshihisa Sakaguchi, Tetsuya Kusumoto, Shinji Ohno, Hideo Baba, Yuji Ichiyoshi and Keizo Sugimachi
Department of Surgery II, Faculty of Medicine, Kyushu University

To determine independent risk factors for recurrence of gastric cancer, we carried out multivariate analysis using stepwise logistic regression. the multivariate analysis revealed that the presence of serosal invasion, and Borrmann type 4 cancer were the greatest risk factors for peritoneal dissemination. The presence of lymph node metastasis and vessel invasion were the greatest-risk factors for a haematogenous recurrence. We evaluated the expression of the c-erbB-2 protein and the abnormal p53 protein in gastric cancer, using monoclonal antibodies mAb 1 and PAb240, respectively. Patients with positive staining for c-erbB-2 protein had higher recurrence rates, including lymph node metastasis, hepatic metastasis and peritoneal dissemination. Tumors stained positively for p53 metastasized to lymph nodes more frequently than those with negative staining. The succinate dehydrogenase inhibition (SDI) test was used to determine chemosensitivity. Lymph node metastasis was more sensitive to anticancer drugs than the corresponding primary lesions, while hepatic metastasis was less sensitive than the corresponding primary lesion. The concomitant administration of OK-432 and anticancer drug for patients with gastric cancer invading the serosa was significantly useful treatment for the prevention of peritoneal recurrence. These data show that "type-oriented chemotherapy" is essential for patients with high risk factors for recurrence of gastric cancer based on individual biological characteristics.

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