

原 著

Nucleolar organizer regions よりみた残胃粘膜の 細胞動態に関する検討

久留米大学医学部第1外科

青柳慶史朗 孝富士喜久生 児玉 一成 辻 義明
末松 哲 武田 仁良 掛川 暉夫

残胃癌19例の腫瘍部および非腫瘍部3か所の計4か所について argylophilic nucleolar organizer regions (以下, AgNOR と略記) 染色を行い, 細胞増殖活性について検討を行った。

吻合部(胃腸吻合部)および縫合部(吻合部以外の切除断端の埋め込み部)の AgNOR 数は口側断端部に比べ有意に高値を示し, 十二指腸液の胃内への逆流による増殖活性の亢進が示唆された。

腺窩上皮の過形成, 粘膜下侵入腺および嚢胞腺などの組織学的変化は術後年数の長い Billroth II 法再建群の吻合部, 縫合部に顕著に認められた。AgNOR 数はこれらの組織において高値を示し, 十二指腸液逆流による組織破壊に対する細胞増殖活性の上昇が示唆された。

以上より残胃吻合部, 縫合部粘膜の細胞増殖活性の上昇が認められ, 特に腺窩上皮の過形成, 粘膜下侵入腺および嚢胞腺などの組織学的変化の細胞増殖活性は高く, 残胃断端部癌の発生との関連性が示唆された。

Key words: mucosa of the remnant stomach, carcinoma arising from the remnant stomach, cell kinetics, argylophilic nucleolar organizer regions

はじめに

残胃癌の発生原因として, 十二指腸液の胃内逆流, ことにその中に含まれる胆汁の逆流が, 残胃癌の発生に関与しているといわれ^{1,2)}, 逆流にさらされる吻合部粘膜の細胞増殖活性の亢進が予測される。

一方, 核小体形成部位 (nucleolar organizer regions: 以下, NOR と略記) は ribosome RNA を code する DNA ループよりなり, 細胞の活性に直接関与している遺伝子である。Argylophilic nucleolar organizer regions (以下, AgNOR と略記) 染色は NOR に結合した非ヒストン系蛋白質を染色する簡便な方法で, パラフィン切片での染色が可能なことにより, 細胞増殖活性の検討に利用されるようになった³⁾。

そこで今回残胃癌の切除例に対し AgNOR 染色を行い残胃粘膜の増殖活性について検討を行った。

対象および方法

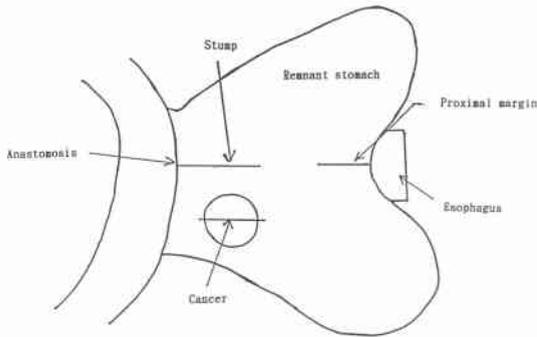
胃切除後10年以上たって残胃に発生した癌を残胃癌

と規定し, 1980年4月から1992年4月までに教室で切除された残胃癌19例を対象とした。残胃癌19例の内訳は Billroth I 法群 (以下, B-I 法群と略記) 7例, Billroth II 法群 (以下, B-II 法群と略記) 12例で, 男性16例, 女性3例, 年齢は42歳から81歳で平均年齢66.6歳であった。初回病変は癌が7例, 胃潰瘍8例, 十二指腸潰瘍4例であった。

残胃癌19例それぞれにおいて癌部, 吻合部, 縫合部および口側断端部の4か所につき AgNOR による検討を行った (Fig. 1)。

AgNOR 染色は, 脱パラフィン後, ゼラチンを1% 蟻酸水溶液に2%になるようにしたものを A 液, 50% 硝酸銀水溶液を B 液とし, A 液と B 液を1:2の割合で混合したものをを用いた。測定は1,000倍視野にて200核以上の核について核内にみられた AgNOR すべてを算定し, 部位ごとに1核あたりの平均 AgNOR 数を求めた。なお有意差は, χ^2 検定および student t test で検討し, 有意水準5%以下で有意差ありと判定した。また, 臨床病理学的所見は胃癌取扱い規約⁴⁾に従った。

Fig. 1 Schema of resected remnant stomach



結果

1) 残胃癌の臨床病理

肉眼型は早期癌 3 例, 進行癌は I 型 4 例, II 型 4 例, III 型 4 例, IV 型 1 例, V 型 3 例で I 型が多く, 組織型は tub1 9 例, tub2 3 例, por1 3 例, por2 2 例, sig 1 例, muc 1 例で分化型 12 例, 未分化型 7 例で分化型が多く認められた. 胃腸吻合部を吻合部, 吻合部以外の胃切除断端の埋め込みを縫合部とすると, 発生部位は

吻合部 11 例, 縫合部 5 例, 非断端部 3 例で, 吻合部, 縫合部の断端部に発生した癌は B-II 法群に, 非断端部に発生した癌は B-I 法群に多く発生する傾向が認められた (Table 1).

2) 初回手術からの間隔

初回手術から残胃癌の手術までの間隔は 10 年から 37 年にわたり, 再建術式別では B-I 法群が 19.3 年, B-II 法群が 23.0 年で両群間に有意差は認めなかったが, 占居部位別では吻合部, 縫合部は 22.6 年, 23.4 年でいずれも非断部癌の 15.1 年に比べ有意に長く, 初回病変では癌は 17.4 年, 潰瘍が 24.1 年で初回潰瘍が有意に残胃癌の手術までの間隔が長かった (Table 2).

3) 残胃部位別 AgNOR 数

AgNOR 染色で, AgNOR は核内に black dot として認めた (Table 2). 部位別の AgNOR 数は癌部 2.47 ± 0.65, 吻合部 1.82 ± 0.24, 縫合部 1.76 ± 0.23, 口側断端部 1.38 ± 0.14 で, 癌部は非癌部に比べ有意に高値を示し, また吻合部および縫合部はいずれも口側断端部に比べ有意に高値を示した (Fig. 3).

Table 1 Clinicopathological findings of cancer of the remnant stomach

Billroth-I						
No.	Sex	Age	Macro	Depth	Location	Histology
1	M	70	I	ss	proximal region	tub1
2	F	64	I	se	proximal region	tub1
3	M	77	I	se	proximal region	tub1
4	F	75	IIa + IIb	m	anastomosis	tub1
5	M	66	V	se	anastomosis	por1
6	M	42	II	ss	stump	por1
7	M	78	V	ss	anastomosis	por1

Billroth-II						
No.	Sex	Age	Macro	Depth	Location	Histology
1	M	66	III	se	stump	tub1
2	M	54	I	ss	anastomosis	tub2
3	M	68	III	sei	anastomosis	muc
4	M	69	IV	pm	anastomosis	tub1
5	M	62	V	sei	anastomosis	por2
6	M	81	I	ss	anastomosis	tub2
7	M	67	III	sei	stump	por2
8	M	67	III	pm	anastomosis	sig
9	M	69	II	se	stump	tub1
10	M	72	IIc	m	stump	tub2
11	F	67	IIa	m	anastomosis	tub1
12	M	52	II	se	anastomosis	tub1

Table 2 Duration after first operation

Reconstruction	
Billroth-I	: 19.3 ± 8.22yr.
Billroth-II	: 23.0 ± 8.01yr.
Location	
Anastomosis	: 22.6 ± 8.76yr.
Stump	: 23.4 ± 7.83yr.
Another site	: 15.1 ± 1.00yr.
Disease on first operation	
Cancer	: 17.4 ± 5.62yr.
Ulcer	: 24.1 ± 8.46yr.

*p < 0.05, **p < 0.01

Fig. 2 Black dots are seen in the nucleus (AgNOR staining, × 400)



Fig. 3 Number of AgNOR according to the location

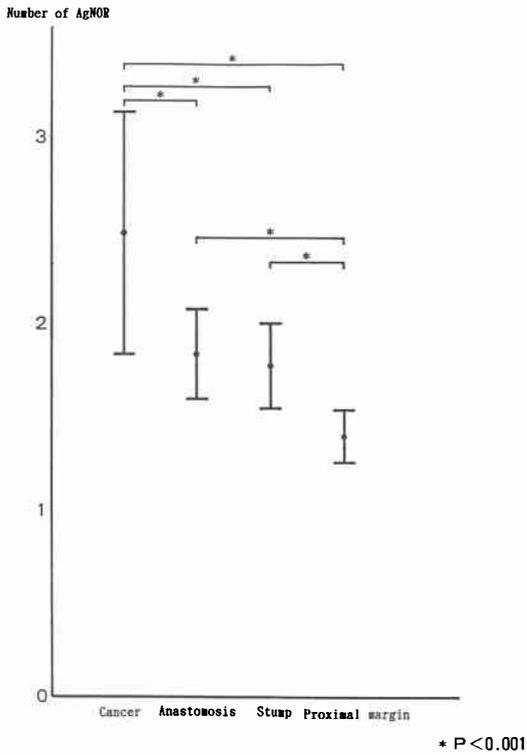


Fig. 4 Hyperplasia of foveolar gland and strophy of fundic gland (HE staining, ×100)

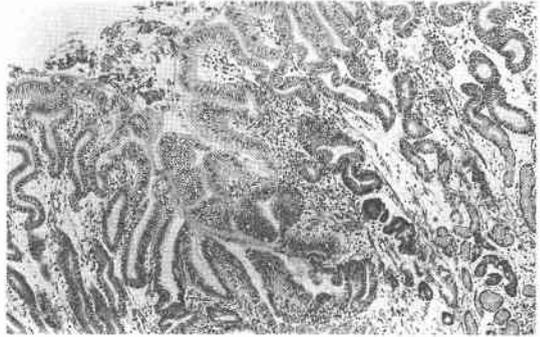
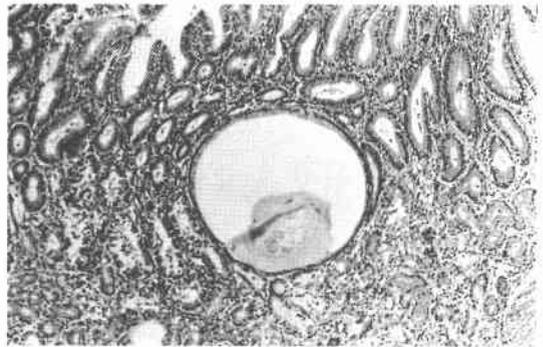


Fig. 5 Dilatation of the pseudopyloric gland (HE staining, ×100)



B-I 法群と B-II 法群の AgNOR 数の比較では、各部位において有意な差は認めなかった (Table 3)。

癌の占居部位別 AgNOR 数の比較では、縫合部癌の縫合部は非断端部癌の縫合部に比べ有意に高値を示した (Table 4)。

4) 背景粘膜と AgNOR 数

残胃癌の背景粘膜について検討を行った。胃腸吻合

付近には腺窩上皮の過形成、腺窩の異常な分岐や迂曲、固有胃腺の萎縮、粘膜固有層の浮腫がみられる萎縮性過形成胃炎の所見が認められた (Fig. 4)。また、偽幽門腺の増生と嚢胞状の拡張がみられるいわゆる嚢胞性胃炎の所見も認められた (Fig. 5)。腺管が粘膜筋板を

Table 3 Number of AgNOR according to the location and reconstruction

	Cancer	Anastomosis	Stump	Proximal margin
Billroth-I	2.42±0.75	1.82±1.30	1.77±0.31	1.31±0.14
Billroth-II	2.50±0.62	1.81±0.17	1.77±0.18	1.42±0.14

Table 4 Number of AgNOR according to the location of cancer in the remnant stomach

	Cancer	Anastomosis	Stump	Proximal margin
Ca. in the anastomosis	2.55±0.70	1.89±0.22	1.72±0.25	1.40±0.13
Ca. in the stump	2.30±0.31	1.73±0.16	1.91±0.15	1.42±0.09
Ca. in the another site	2.49±1.00	1.67±0.25	1.68±0.10	1.26±0.22

*p < 0.05

Table 5 Histology of background mucosa

	Gland of invading submucosa	Cystic gland	Hyperplasia	Intestinal metaplasia
Billroth-I				
Ca. in the anastomosis	0/3 (0%)	3/3(100%)	1/3(33%)	1/3(33%)
Ca. in the stump	0/1(0%)	0/1(0%)	0/1(0%)	0/1(0%)
Ca. in the another site	0/3(0%)	0/3(0%)	0/3(0%)	2/3(67%)
Billroth-II				
Ca. in the anastomosis	2/8(25%)	7/8(88%)	1/8(13%)	1/8(13%)
Ca. in the stump	1/4(25%)	3/4(75%)	0/4(0%)	1/4(25%)

Table 6 Number of AgNOR of background mucosa

	Hyperplasia	Gland of invading submucosa	Cystic gland	Heterotopic gland
Number of AgNOR	2.17±0.19	2.03±0.04	1.94±0.14	1.64±0.24

Fig. 6 Elongate pseudopyloric gland penetrate the muscularis mucosae and invade the submucosa (HE staining, ×40)



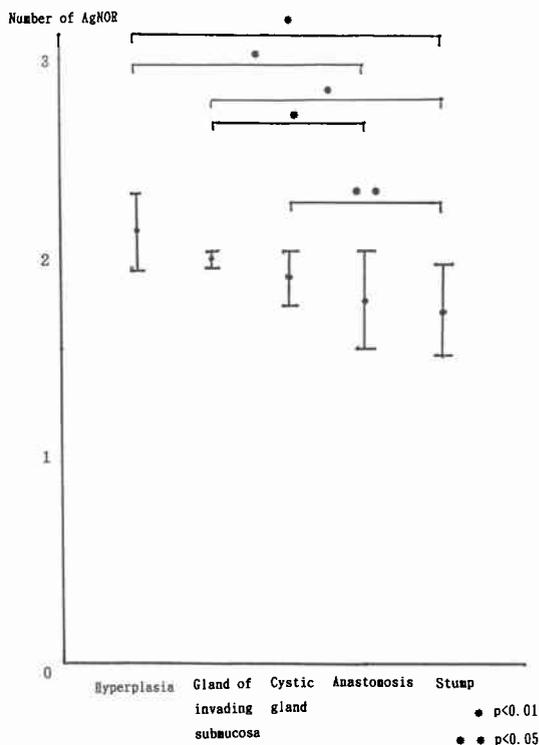
つらぬき粘膜下層への侵入がみられる粘膜下侵入腺が認められた (Fig. 6)。

粘膜下侵入腺は B-I 法群に認められず、B-II 法群の吻合部および縫合部癌の周囲粘膜のそれぞれ25%に認められた。嚢胞腺は B-I 法群の吻合部癌および B-II 法群の吻合部癌および縫合部癌に高率に認められた。腺窩上皮の過形成性変化は B-I 法群、B-II 法群の吻合部癌に認められた (Table 5)。

癌周囲粘膜の AgNOR 数は、腺窩上皮の過形成 2.17±0.19、粘膜下侵入腺 2.03±0.04、嚢胞腺 1.94±0.14、異所性腺管 1.64±0.24 であった (Table 6)。

AgNOR 数は、腺窩上皮の過形成および粘膜下侵入腺において、いずれも吻合部および縫合部粘膜に比べ有意に高値を示し、嚢胞腺は縫合部粘膜に比べ有意に高値を示した (Fig. 7)。

Fig. 7 Number of AgNOR of background mucosa



考 察

今回の残胃癌19例の検討では、B-I 法群 7 例中 3 例に非断端部に残胃癌の発生を認めたにもかかわらず、B-II 法群はすべて吻合部および縫合部に発生した癌であった。また、初回手術からの間隔は、再建術式別では差は認めないものの、癌の占居部位別では、吻合

部および縫合部が非断端部に比較し有意に初回手術からの間隔が長かった。これらの結果は、長期間胆汁、膵液を含む十二指腸液の逆流にさらされる、B-II法群の吻合部、縫合部粘膜が残胃癌の発生母地として重要であることを示唆するものと思われる。また、初回の手術が、癌にたいして行われたいわゆる異時性多発癌に比べ、初回手術が、潰瘍にたいして行われたいわゆる残胃新生癌の初回手術から残胃癌手術までの間隔は、有意に短期間であり、これは諸家の報告⁵⁾⁶⁾と同様であった。この原因について岩永⁹⁾は、異時性多発癌には第1回の癌発生と同じ原因が第2の癌発生にも働いていることを推定している。

十二指腸液の逆流にさらされる残胃の吻合部粘膜が残胃癌の発生母地として重要視されており、ラットを用いた実験でも Billroth I法よりも十二指腸液の逆流にさらされやすい Billroth II法で再建を行った場合のほうが、有意に吻合部における発癌の頻度が高いとされている⁷⁾⁸⁾。今回 AgNOR による検討で、十二指腸液逆流の影響をうけにくい口側断端部より十二指腸液の逆流にさらされやすい吻合部、縫合部粘膜の AgNOR 数は有意に高く、十二指腸液逆流による増殖活性の亢進が示唆された。B-I法群と B-II法群のあいだに AgNOR 数に有意差はなく、B-I法群も B-II法群と同様に吻合部および縫合部粘膜の AgNOR 数は口側断端に比較し AgNOR 数は有意に高いことより、B-I法群においても吻合部、縫合部は少なからず十二指腸液逆流の影響をうけていることが示唆された。

十二指腸液の刺激による吻合口粘膜上皮の炎症が発癌の場として関与していることが示唆されている⁹⁾。胃腸吻合部にみられる胃炎性変化として腺窩上皮の過形成性変化、固有腺の萎縮、偽幽門腺化生、嚢胞腺の出現および粘膜下侵入腺が認められ、さらに特異的変化として Littler ら¹⁰⁾のいう gastritis cystica polyposa (以下、GCP と略記)、吉賀ら¹¹⁾のいう stomal polypoid hypertrophic gastritis (以下、SPHG と略記)、とよばれる降起性病変がいられている。我々の検討でも腺窩上皮の過形成を伴う萎縮性過形成胃炎や GCP の所見が胃腸吻合部付近にみられた。腺窩上皮の過形成は B-I法群、B-II法群の吻合部癌の周囲粘膜、嚢胞腺は B-I法群の吻合部癌、B-II法群の吻合部癌および縫合部癌の周囲粘膜にみられ、筆者の今回の検討例においては粘膜下侵入腺は B-I法群にみられず、B-II法群の吻合部癌および縫合部癌の周囲粘膜にみられた。腺窩上皮過形成、嚢胞腺および粘膜下侵入腺は術後年数の

長い B-II法群により顕著で、これらの組織変化は十二指腸液の逆流による組織破壊に対する過剰な修復の結果生じているといわれており¹²⁾、AgNOR 数はこれらの組織において高値を示し、組織破壊に対する活発な細胞増殖活性の上昇が示唆された。

教室の安元¹³⁾はオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) 活性の面より残胃粘膜を検討し、残胃炎とくに萎縮性過形成胃炎を残胃癌リスクの高い粘膜としており、今回の我々の AgNOR による検討でも萎縮性過形成胃炎に伴う腺窩上皮の過形成に増殖活性の高値を認めた。また、GCP、SPHG の成因について十二指腸液 (胆汁) の逆流が重要視されており¹²⁾、GCP、SPHG 上に発生した癌も報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾。これらの病変の残胃における前癌病変としての意義が注目されており¹⁴⁾¹⁶⁾、今回の検討でも吻合部かから縫合部に向け GCP、SPHG と同様の組織学的変化が存在しており AgNOR による検討で増殖活性の亢進が認められた。以上より残胃の吻合部および縫合部に認められる萎縮性過形成胃炎、GCP、SPHG などの組織学的変化は、残胃癌の発生母地として重要な組織学的変化と思われる。

本論文の要旨は第42回日本消化器外科学会総会 (大阪) で発表した。

文 献

- 1) 竹林正孝:胆汁酸の胃癌発生促進作用に関する実験的研究. 日外会誌 90:49-58, 1989
- 2) Furihata C, Takezawa R, Matsushima T et al: Potential tumor-promoting activity of bile acids in rat glandular stomach. Jpn J Cancer Res 78:32-39, 1987
- 3) Ploton D, Menager M, Jeannesson P et al: Improvement in the staining and in the visualization of the argylophilic proteins of the nucleolar organizer region at optical level. Histochem J 18:5-14, 1986
- 4) 胃癌研究会編:胃癌取扱い規約,改訂第12版,金原出版,東京,1993
- 5) 城所 侑:残遺の癌切除例の遠隔成績—胃癌研究会98施設613例の検討—. 日癌治療会誌 17:2029-2034, 1982
- 6) 岩永 剛, 小山博記, 今岡真義ほか:胃癌に対する胃幽門側部分切除の残胃の癌発生について. 癌の臨 34:442-446, 1988
- 7) 三輪晃一, 宮田龍和, 宮崎逸夫ほか:手術を受けた胃の発癌リスク. 日消外会誌 21:1191-1194, 1988
- 8) 西土井英昭:MNNG投与によるラット残胃癌発

- 生に関する実験的研究. 日外会誌 83:1218—1227, 1982
- 9) 曾和融生, 松沢 博, 新田 貢ほか: 残胃癌に関する考察. 外科診療 23:738—744, 1981
- 10) Littler ER, Gleibermann E: Gasytritis cysticapolyposa (gastric mucosal prolapse at gastroenterostomy site, with cystic and infiltrative epithelial hyperplasia). *Cancer* 29: 205—209, 1972
- 11) Koga S, Watanabe H, Enjoji M: Stomal polypoid hypertrophic gastritis. A polypoid gastric lesion at gastroenterostomy site. *Cancer* 43: 647—657, 1979
- 12) 和田 了: 残胃粘膜よりみた残胃癌の組織発生に関する病理組織学的検討. 順天堂医 33:95—109, 1987
- 13) 安元健二: ヒト残胃粘膜におけるオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) 活性の測定とその臨床的意義. 日外会誌 94:1000—1007, 1993
- 14) 岩下明德, 黒岩重和, 遠城寺宗知ほか: Stomal polypoid hypertrophic gastritis (SPHG)(gastritis cystica polyposa; GCP)に発生したI型早期癌の1例. 胃と腸 17:1333—1339, 1982
- 15) 山本誠巳, 南 浩二, 堀内哲也ほか: Gastritis cystica polyposaを母地として発生したと思われる残胃早期癌の1例. 消外 13:1279—1283, 1982
- 16) 近藤 健, 鈴木春見, 長与健太ほか: 残胃癌の病理. 癌の臨 28:1615—1623, 1982

Argylophilic Nucleolar Organizer Regions in the Mucosa of the Remnant Stomach —Evaluation of Proliferation—

Keishiro Aoyagi, Kikuo Kohfuji, Issei Kodama, Yoshiaki Tsuji,
Tetsu Suematsu, Jinryo Takeda and Teruo Kakegawa
First Department of Surgery, Kurume University School of Medicine

Cell proliferation kinetics of the non-neoplastic mucosa and carcinoma cells in 19 cases of resected remnant stomach were investigated by examining the number of nucleolar organizer region associated proteins after staining by silver colloid (AgNOR). The mean numbers of AgNOR in the nucleus were 1.38 ± 0.14 in the mucosa at the proximal margin, 1.82 ± 0.24 in the anastomotic region ($p < 0.001$). Hyperplasia in the foveolar gland, the gland with invasion into the submucosa, and the gland with cystic dilatation were frequently recognized in the mucosa in the anastomotic region after Billroth II reconstruction. The mean numbers of AgNOR were 2.17 ± 0.13 in the region of hyperplasia of the foveolar gland, 2.03 ± 0.04 in the gland invading the submucosa, and 1.94 ± 0.14 in the gland with cystic dilatation. All three of these mean numbers of AgNOR were significantly higher than in normal mucosa. These results suggested that the mucosa in the region of anastomosis promoted these activities probably in part due to the incidence there of duodenal reflux.

Reprint requests: Keishiro Aoyagi First Department of Surgery, Kurume University School of Medicine
67 Asahi-machi, Kurume City, 830 JAPAN