

胃癌多発病巣の治療法の検討 —DNA—顕微蛍光測光法による多発早期胃癌の 細胞増殖動態解析をもちいて—

京都府立医科大学第2外科, 同 第1病理*

糸井 啓純 山岸 久一 中田 雅支 上田 祐二
園山 輝久 芦原 司* 岡 隆宏

私たちの教室で治療した胃癌症例中で多発胃癌は5.6%あるが、早期胃癌の中では多発のものは8.6%を占めて近年増加傾向にある。この多発早期胃癌は単発早期胃癌と比較して高齢者に多く、隆起型、分化型(高分化腺癌)の頻度が高く、占居部位は大半が胃体部、幽門部に幽門側切除が可能であった。私たちは多発早期胃癌の悪性度評価法として、各病巣の癌細胞増殖動態を顕微測光法で解析してきた。予後良好例では各病巣のDNAプロイディ・パターンはdiploidで増殖動態は類似し、病巣間で著差を認めなかった。一方、予後不良例ではS-G₂期細胞の増加、多倍体化などの進行胃癌で見られる増殖動態を示し、これらの所見は病巣間でばらつきを示した。したがって、DNAプロイディ・パターンは多発早期胃癌の悪性度の指標になりうると思われた。また、リンパ節転移の頻度は単発例と差がなく、単発早期胃癌と同様な進行度評価を適用しうると考えられた。

Key words: DNA-cytofluorometry, multiple early gastric cancers, ploidy pattern

はじめに

近年、胃癌症例中で多発胃癌、特に多発早期胃癌の占める比率が増加している。胃癌取扱い規約の改訂第12版から多発病巣の記載方法が設けられたが、多発胃癌の進行度判定を単発胃癌と別個にすべきかどうかは今後議論の余地を残している。本稿では私達の従来の研究に基づき、多発早期胃癌の各病巣における癌細胞増殖動態を顕微測光法を用いて解析し、各病巣のDNAプロイディ・パターン、臨床病理学的所見および予後より治療法としての手術術式について検討した。

1. 対 象

1974年1月より1994年12月までに私たちの教室で治療した胃癌症例は1,039例あり、この中でMoertelら¹⁾の定義に従った多発胃癌の症例は58例(5.6%)あった。これらの多発胃癌の平均年齢は64.0±12.0歳(mean±

1SD)、男女比は1.9:1で、単発胃癌症例(981例)の平均年齢60.6±12.3歳、男女比2.0:1に比べてやや高齢であったが(p<0.02)、男女比には差を認めなかった。多発胃癌58例中、多発早期胃癌は33例(71病巣)であり、2病巣が31例(93.9%)と大半を占め、4病巣、5病巣の症例が各1例であった。また、多発進行胃癌は25例(61病巣)であり、2病巣:19例、3病巣:4例、4病巣:2例であった。多発早期胃癌の早期胃癌に占める比率ならびに多発進行胃癌の進行胃癌に占める比率はおのおの8.6%、3.8%であった。

2. 臨床病理学的背景

多発早期胃癌の臨床病理学的背景を検討すると、まず肉眼型は隆起型が35.2%と単発早期胃癌における23.7%に比べて頻度が高かった。病理組織型は多発早期胃癌で分化型とくに高分化腺癌(pap, tub1)が55.7%と単発胃癌(26.9%)や多発進行癌(36.2%)に比べて著しく高かった。

多発早期胃癌の病巣の占居部位は中部(M)、下部(A)に病巣の87.3%が存在した。この傾向は単発胃癌や多発進行胃癌と変わらなかった(Table 1)。また、多発早期胃癌の手術術式を検討すると、多発進行胃癌

* 第45回日消外会総会シンポ2・胃癌多発病巣の治療法の選択

<1995年6月14日受理>別刷請求先: 糸井 啓純
〒602 京都市上京区河原町広小路 上ル 梶井町465 京都府立医科大学第2外科

Table 1 The incidence of main lesions for single gastric cancers, multiple early gastric cancers and multiple advanced gastric cancers

	single gastric cancers	multiple early gastric cancers	multiple advanced gastric cancers
C	1 4 9 (15.4%)	9 (12.7%)	1 0 (16.9%)
M	4 5 0 (46.4%)	2 9 (40.8%)	2 6 (44.1%)
A	3 7 1 (38.2%)	3 3 (46.5%)	2 3 (39.0%)

Table 2 The operation procedures for single gastric cancers, multiple early gastric cancers and multiple advanced gastric cancers

	single gastric cancers	multiple early gastric cancers	multiple advanced gastric cancers
total gastrectomy	2 3 3 (28.4%)	5 (15.2%)	1 4 (58.3%)
distal gastrectomy	5 4 2 (66.2%)	2 7 (81.8%)	1 0 (41.7%)
proximal gastrectomy	4 4 (5.4%)	1 (3.0%)	0 (0.0%)

では胃全摘術が58.3%に施行されたのに対して、多発早期胃癌は幽門側胃切除術が33例中27例(81.8%)になされており、単発胃癌(進行癌を含む)より幽門側胃切除術の頻度が高かった(Table 2)。

単発および多発の早期胃癌胃切除例におけるいわゆる「残胃の癌」を検討すると、多発早期胃癌の胃切除例では28例中1例(3.6%)に「残胃の癌」を認め、残胃全摘術を行った。単発早期胃癌胃切除例の「残胃の癌」は313例中7例(2.2%)であり、残胃再発に差を認めなかった。

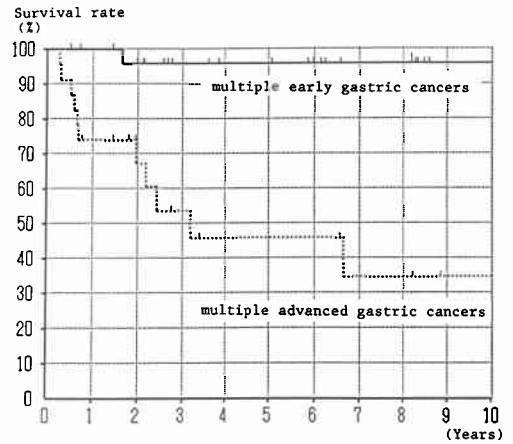
多発早期胃癌のリンパ節転移は n_0 :30例, n_1 :0例, n_2 :3例で、9.1%に転移を認めた。単発早期胃癌ではリンパ節転移が11.1%(m癌:2.5%,sm癌:22.1%)であり、特に多発早期胃癌でリンパ節転移が多いことはなかった。

これらの多発早期胃癌、多発進行胃癌の他病死、他癌死を除いた累積生存率(Kaplan-Meier法)は10年で多発早期胃癌が95.8%と予後良好であり、33例中1例が原病死していた。また、多発進行胃癌の累積生存率は34.6%であった(Fig. 1)。そこで多発早期胃癌33例(71病巣)中で、術後10年以上を経過観察し顕微蛍光測光法で検索しえた8症例21病巣について検討した。なお解析例には前述の再発死亡の1例が含まれている。

3. 主たる DNA プロイディ・パターンの検索

a. 方法

Fig. 1 The prognosis of simultaneous multiple early gastric cancers and simultaneous multiple advanced gastric cancers, both calculated by the Kaplan-Meier method



諸富ら²⁾の方法に準じてパラフィン包埋組織の厚切り切片(約100 μ m)より、その隣接 HE 切片標本で同定した癌組織部位を細胞単離し塗沫標本とした。これらの Propidium Iodide 染色標本に落射型顕微蛍光測光装置(Nikon SPM-RF1-D, P1-AUTO-Im2)を応用し、核 DNA 蛍光定量に基づく DNA プロイディ・パターンを検索した。測光細胞数は300個とし、diploid(2c)の基準値として標本中に混在するリンパ球20個の平均値を用いた。

そして、胃癌各病巣のプロイディ・パターンは蒲池ら³⁾ならびに癌 DNA 研究会用語検討委員会報告⁴⁾に従って2群に分類した。I群は2倍体の増殖細胞系(diploid)であり、II群は正多倍体化した増殖細胞系(euploid polyploid)でDNA量が4cを超える細胞の頻度が5%以上のものと定義した。また、主要細胞集団のDNA量が異数倍数体(aneuploidy)を示すものをII'群と亜分類した(Fig. 2)。

b. 結果

(1) 予後良好例における多発早期胃癌の細胞増殖動態

Table 3は顕微蛍光測光法による解析結果である。表中の症例1~7は予後良好例で、それらの16病巣中15病巣(93.8%)までがI群(diploid pattern)のDNAプロイディ・パターンを示した。予後良好な症例でII群に属した病巣はたいへん少なく(症例1のI型早期胃癌)、多倍体化の程度も軽度で4cを超える細胞は

Fig. 2 The classification of DNA ploidy patterns : I; diploid (2c~4c) pattern, II; euploid polyploid pattern (2c, 4c, 8c, 16c...), II'; aneuploidy

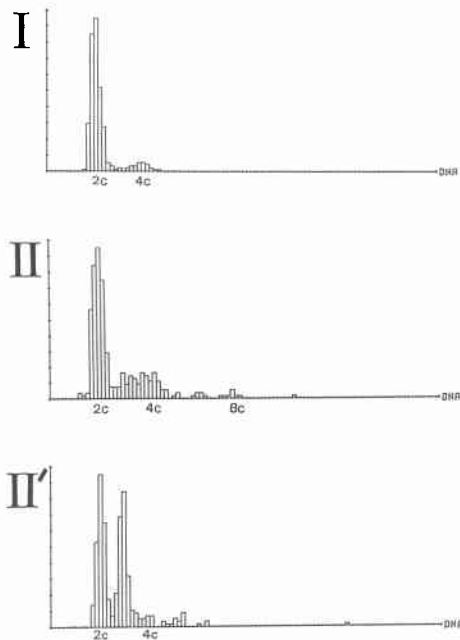


Table 3 The results of cytofluorometric study for multiple early gastric cancer patients who have been clinically observed for more than 10years

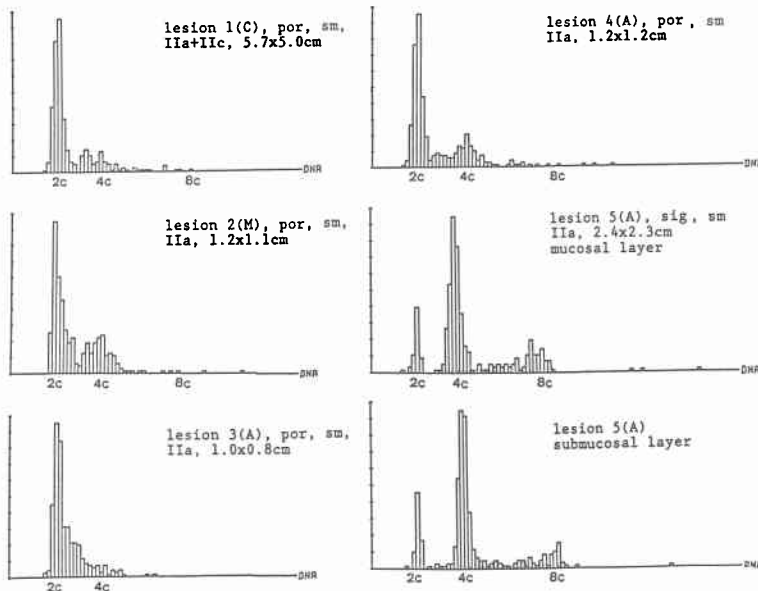
case	age	sex	type	depth	n ly v	histology	DNA ploidy	prognosis
1	65	F	I IIa	sm m	no lyo v ₀	pap tub ¹	II I	alive
2	70	M	I IIa	m m	n ₂ lyo v ₀	pap tub ¹	I I	dead*
3	66	F	IIc IIc IIc IIc	m m sm m	no lyo v ₀	por por por por	I I I I	alive
4	65	M	IIa+IIc IIc+III	sm sm	no lyo v ₀	tub ¹ tub ¹	I I	alive
5	78	F	IIa IIa	m m	no lyo v ₀	tub ¹ tub ¹	I I	alive
6	64	F	I IIb	m m	no lyo v ₀	tub ¹ tub ¹	I I	alive
7	48	M	IIa+IIc IIc	sm m	no lyo v ₀	tub ¹ tub ¹	I I	alive
8	57	F	IIa+IIc IIa IIa IIa IIa	sm sm sm sm sm	n ₂ ly ₃ v ₀	por por por por sig	I I I I I	dead

* the recurrence of a simultaneous colon cancer

精々10%程度であった。また、深達度が粘膜層 (m) の病巣と粘膜下層 (sm) の病巣の間では S-G₂期細胞の割合、および多倍体化に差は見いだされなかった。以上、

予後良好例では各病巣の胃癌細胞は主に2倍体系増殖動態を示して類似し、多倍体化してもごく軽度であるまとめられる。そして、これらの結果と単発早期胃癌のDNAプロイディ・パターン³⁾を比較しても、大きな差はなかった。また、リンパ節転移は症例2を除いてすべてn₀であり、いずれの症例もly₀, v₀であった。

Fig. 3 The DNA-cytofluorometric analysis for 5 lesions of case 8 in Table 5



(2) 予後不良例における多発早期胃癌の細胞増殖動態

Table 3 の症例 8 は、術後 1 年 8 か月で腹膜再発死した 57 歳、女性で、5 重癌、 $t_1(sm)n_2P_0H_0M_0$ (stage II) を示した。この症例の 5 病巣に関する DNA プロイディ・パターンが **Fig. 3** である。これらの組織型は 4 病巣が低分化腺癌 (por)、残りが印環細胞癌 (sig) であった。各病巣の DNA プロイディ・パターンでは多倍体化を伴って S-G₂ 期細胞の増加が見られ、その増加の程度も各病巣間で異なっていた。特に、組織型が sig の第 5 病巣に関しては粘膜層 (m) と粘膜下層 (sm) を別々に測光解析したところ、両者の DNA プロイディ・パターンに明らかな差はなく、4c をピークとし、正多倍体化 (2c, 4c, 8c) した増殖動態を示していた。

そこで、この予後不良例を、先述の予後良好例や以前に調べた胃癌単発進行癌³⁶⁾と DNA プロイディ・パターンに基づいて比較検討すると、この症例は異数倍体増殖こそ含まなかったが、進行胃癌の増殖性格 (増殖活性亢進と多倍体化) を示した。すなわち、DNA プロイディ・パターンは多発早期胃癌の進展に伴って増殖動態が変化していくことを示しており、多発早期胃癌の増殖性格から見た悪性度の指標になりうると考えられた。

考 察

多発早期胃癌の治療上の主な問題点は切除範囲とリンパ節郭清の 2 点であろう。本論文では顕微蛍光測光法で解析した細胞増殖動態の面からみた悪性度を、多発早期胃癌の各病巣間および単発早期胃癌例で比較検討し、多発早期胃癌の治療法の問題点を考察した。

まず、DNA プロイディ・パターンの何をもって悪性度評価とするかという点であるが、私たちは従来より単発胃癌や非癌部粘膜の増殖解析を顕微蛍光測光法で行い³⁵⁾、胃癌の進展に伴って、1) S-G₂ 期細胞の増加、2) 多倍体 (polyploidy)、あるいは、3) 異数倍体 (aneuploidy)、あるいは、4) 前 2 者の合併パターンを示す細胞の出現・増加が見いだされ、これらを胃癌悪性度評価の指標にしてきたが、今回の検討もこれらを基本にした。

DNA プロイディ・パターンに基づく本検討から、予後良好な多発早期胃癌例では各病巣は単発早期胃癌と同様の diploid pattern を示すとともに、各病巣間で悪性度に著差がなかった。しかし、後に癌の進展を認めた予後不良例の多発早期胃癌では、進行胃癌に見られたような変化 (多倍体化と S-G₂ 期細胞の増加) が各病

巣間でばらつきを伴って認められた。したがって今回の検討から、DNA プロイディ・パターンが多発早期胃癌病巣の増殖動態に基づく悪性度の具体的な指標となり、それは単発早期胃癌における場合と大きな差がないと考えられた。

多発早期胃癌に対する胃切除術が切除範囲として適切であったかどうかを「残胃の癌」の発生の面から検討すると、単発および多発の早期胃癌胃切除例の残胃再発に差がなかった。したがって、多発早期胃癌の病巣が集中する幽門腺領域をおおむね切除する幽門側胃切除術が術式として特に問題はないと考えられた。昨今では、内視鏡的粘膜切除を含めた縮小手術が積極的に取り入れられつつあるが、手術侵襲のリスクに問題がなければ、多発早期胃癌の発生源地としての背景粘膜を定型的な幽門側切除術によってできる限り切除することが、再発予防のための治療法として重要であるため、今後も議論が続くものと考えられる。

リンパ節郭清については胃癌取扱い規約上、各病巣占居部位のリンパ節群に従っているが、リンパ節転移の頻度は多発早期胃癌では単発早期胃癌に比べて特に高くはないので、単発早期胃癌の標準術式の郭清を行えば問題はないと考えられる。したがって、多発早期胃癌の進行度判定も単発例と同様の判定基準を用いればよいと考えられる。

近年、急速に発展しつつある分子生物学的解析法は遺伝子 DNA の (局所的な) 特定部位の異常の発見には強力である。それとは対照的に DNA プロイディ・パターンによる評価は DNA 複製を増殖動態の性格から探る手法として重要である。本論文で示したように同時多中心性に認められた早期胃癌の段階ではそれら各病巣の細胞増殖動態は類似していたが、癌進展と共に出現する多様な DNA プロイディ・パターンは DNA 複製のレベルできわめて大きな変化が生じているものと推察される。とりわけ多発胃癌のように共通した胃粘膜を母地として発生した胃癌病巣であっても、胃癌の進展過程で増殖動態に差異が生じることは興味深い。今後は増殖制御に関連する酵素や蛋白のふるまいを各病巣について解析したいと考えている。すなわち、酵素や蛋白を蛍光標識し、そのシグナルの形態解析を含めた顕微蛍光多重測光法³⁶⁾で増殖動態がどのように変化するのか、また病巣間でどのように異なるのかを詳細に解析したいと考えている。

文 献

- 1) Moertel CG, Barga JA, Soule EH: Multiple

- gastric cancers reviews of the literature and study of 42 cases. *Gastroenterology* 32: 1095-1103, 1957
- 2) 諸富直文, 蒲池正浩, 香川恵造ほか: パラフィン組織を用いた細胞核 DNA 顕微蛍光測光法—新しい方法の試み. *医のあゆみ* 133: 191-193, 1985
 - 3) 蒲池正浩, 諸富直文, 橋本敏和ほか: DNA-RNA 顕微蛍光多重測光法による早期胃癌細胞の増殖動態特性. *医のあゆみ* 131: 87-88, 1984
 - 4) 鈴木宏志, 木村 修, 西平哲郎ほか: 癌 DNA 研究会用語検討委員会報告. *癌の臨* 37: 1-3, 1991
 - 5) 糸井啓純, 芦原 司: 癌細胞の機能・形態の同時解析—蛍光画像解析法を結合した顕微測光法—. *医のあゆみ* 147: 583-586, 1988
 - 6) 糸井啓純: ヒト胃癌細胞における機能・形態同時定量解析の基礎的検討—画像解析を結合した顕微蛍光測光法を用いて—. *京都府医大誌* 99: 857-872, 1990

**Investigation on the Surgical Treatment for Multifocal Early Gastric Cancers
—Based on the Cell Proliferation Analysis by DNA-cytofluorometry—**

Hirosumi Itoi, Hisakazu Yamagishi, Masashi Nakata, Yuji Ueda,
Teruhisa Sonoyama, Tsukasa Ashihara* and Takahiro Oka
Second Department of Surgery and First Department of Pathology*,
Kyoto Prefectural University of Medicine

Simultaneous multiple gastric cancers were seen in 58 (5.6%) of 1039 stomach cancer patients. Recently the incidence of multiple early gastric carcinomas has been increasing and its incidence is 8.6% of early gastric cancers. The characteristic features of multiple early gastric cancers (MEGC) are the elevated type (35.2%) morphologically and differentiated type (68.6%) microscopically. Most (81.8%) of the multiple early gastric carcinomas were treated by distal gastrectomy. Lymphatic metastasis was found in 9.1% and its rate was roughly similar to that for single early gastric cancers (SEGC; 11.1%). The incidence of gastric cancers found at the remnant mucosa within 5 years of distal gastrectomy was 3.6% for MEGC, comparable to that for SEGC (2.2%). Cytofluorometry, DNA ploidy analysis for the patients without recurrence for more than 10 years showed that 93.8% of the lesions were of the diploid pattern, without a significant difference in the malignant potential based on cell proliferative activity among both the lesions and the cases. On the other hand, the lesions in the patient who died of recurrence showed a variety of polyploid patterns with increased S-G2 cells. These ploidy patterns were very similar to those of advanced gastric cancers. These results clearly indicated that the malignant potential based on cell population kinetics was increasing during cancer growth. The present study suggests that the growth characteristics in relation to the prognosis of SEGC can also be applied to MEGC.

Reprint requests: Hirosumi Itoi Second Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine
465 Kajii-cho, Kawaramachi-Hirokoji, Kamikyo-ku, Kyoto City, 602 JAPAN