

mp 胃癌における予後規定因子としての核 DNA 量

福島県立医科大学第2外科

土屋 敦雄 菊地 洋一 阿部 力哉
水沼 廣 金沢 匡司 佐藤 久芳
安藤 善郎 野水 整 吉田 典行

mp 胃癌49例についてフローサイトメトリーによる核 DNA 量を含めた臨床病理学的因子と予後との関連を検討した。臨床病理学的因子として年齢、性、占居部位、肉眼型、リンパ節転移、肝転移、腹膜播種、stage 分類を用いた。DNA ploidy パターンと臨床病理学的因子との関連はみられなかった。DNA ploidy パターンの内訳は diploid 29例 (59.2%)、aneuploid 20例 (40.8%) で、5年生存率はそれぞれ88.6%、50.5%であった。単変量解析にて5年生存率に有意の差を示したのはリンパ節転移、肝転移、DNA ploidy パターンであった。そこでCoxの比例ハザードモデルによる多変量解析を行ったところDNA ploidy パターン、リンパ節転移、腹膜播種が有意の予後規定因子であった。胃癌において核DNA量は生物学的悪性度を反映し、術前生検による核DNA量測定により効果的な治療が期待される。

Key words: gastric cancer, DNA ploidy pattern, flow cytometry, survival, multivariate analysis

はじめに

胃癌のうち壁深達度が固有筋層に達している、すなわち mp 胃癌は進行癌のうちでは比較的予後が良好な癌である。固有筋層は胃壁内に占める面積が大きいにもかかわらず、mp 胃癌の頻度が低いのは、癌細胞が固有筋層を通過する時間が短いためであると考えられている¹⁾。mp 胃癌の治療成績は早期胃癌にくらべ悪いが治癒切除が可能であることから、mp 胃癌においてはその癌細胞の生物学的悪性度が予後を反映する可能性が考えられる。そこで教室で経験した mp 胃癌について生物学的悪性度の指標としての核 DNA 量を含めた臨床病理学的因子と予後との関連を検討した。

対象と方法

1975年から1992年の間に福島県立医大第2外科にて経験した胃癌症例434例のうち、深達度が固有筋層までのものは61例 (14%) であった。これらの症例の中で臨床病理学的因子すなわち年齢、性、占居部位、肉眼型、組織型、リンパ節転移、遠隔転移、stage 分類、核 DNA 量について検討し、解析可能であった49例を対象とした。すべての症例において原発巣の切除は可能でその内訳は胃全摘術14例、幽門側胃切除35例で、術

前に抗癌剤による化学療法や放射線療法は施行しなかった。

細胞核 DNA 量の測定は、切除標本のホルマリン固定パラフィン包埋胃癌組織の切片から Schutte ら²⁾の方法による裸核単細胞を作り、propidium iodide による核染色を行った後、Epics 751 flow cytometer を用いて測定した。得られたヒストグラムより DNA Index (DI) を求め、DI=1をdiploid、DI≠1をaneuploidとした。変動係数8%以下を評価可能とした。

累積生存率はKaplan-Meier法によって求め、その差の検定は一般化Wilcoxon法により行った。統計処理として平均値の差の検定はt検定、各因子の相関性についてはChi-square testを用いた。多変量解析としてCoxの比例ハザードモデルを用いた。

なお、胃癌に関する用語は胃癌取扱い規約³⁾に準じた。

結 果

1. mp 胃癌の臨床病理学的因子

1) 年齢および性

年齢は28歳から79歳にわたり平均60.9歳で、胃癌全体の平均年齢59.8歳と差がなかった。性別では男37例、女12例であった。

2) 占居部位

占居部位はC領域10例 (20.4%)、M領域16例

<1996年10月9日受理>別刷請求先: 土屋 敦雄
〒960-12 福島市光が丘1 福島県立医科大学第2外科

(32.5%), A 領域23例 (46.9%) と, M および A 領域が約80%を占めた.

3) 肉眼型

表在型 (早期癌類似型) と 1~5 型 (Borrmann 型) に分けると, それぞれ 9 例 (18.4%), 40 例 (81.6%) と Borrmann 型が大部分を呈した.

4) 組織型

pap, tub 1, tub 2を分化癌, por, sig, muc を未分化癌と分類した. 分化型癌は29例 (59.2%) に対し, 未分化型癌は20例 (40.8%) と分化型癌が多かった.

5) 組織学的リンパ節転移

n (-) 癌が29例 (59.2%) を占め, n (+) 癌は20例 (40.8%) であった. n (+) のうちでは n1が13例とほぼ半数を占めていた.

6) 腹膜播種

腹膜播種は 2 例 (4.1%) にみられた.

7) 肝転移

肝転移は 1 例 (2.0%) にみられたが, 腹膜播種併存例は無かった.

8) stage 分類

stage Ib 29例 (59.2%), stage II 11例 (22.4%), stage IIIa 5例 (10.2%), stage IIIb 1例, stage IVa 1例, stage IVb 2例で stage Ib が過半数を占めた.

2. DNA ploidy パターンと臨床病理学的因子との関連

49例の mp 胃癌のうち, DNA aneuploid は20例 (40.8%), diploid は29例 (59.2%) であった. DNA ploidy パターンと臨床病理学的因子の関連をみると, DNA ploidy パターンと腹膜播種との間には有意の相関がみられたが, 他の因子との間には関連は無かった (Table 1). 2 例の腹膜播種, 1 例の肝転移例はいずれも aneuploid であった.

3. 単変量解析による各因子と予後

単変量解析による因子別 5 年生存率を示した (Table 2). mp 胃癌の 5 年生存率は73.2%であった. diploid 癌の 5 年生存率は88.6%で, aneuploid 癌の 50.5%に比べ有意に良好な生存率を示した (Fig. 1). またリンパ節転移, および肝転移も有意の予後規定因子であった.

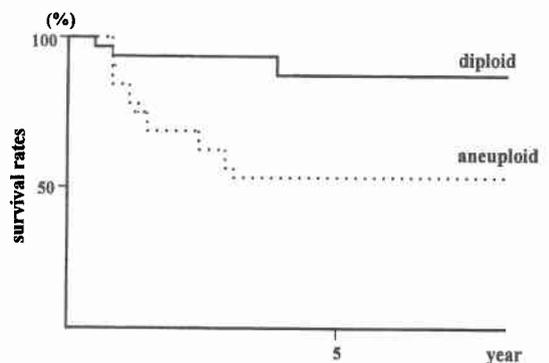
4. 多変量解析による各因子と予後

性, 占居部位, 肉眼型, 組織型, リンパ節転移, 腹膜播種, 肝転移, 核 DNA ploidy パターンを多変量解析により予後との関連を検討した. Cox の比例ハザードモデルによる多変量解析では DNA ploidy パター

Table 1 DNA ploidy pattern and clinicopathological variables in mp gastric cancer

	diploid (n=29)	aneuploid (n=20)	
Age (mean±SD)	59.7±11.4	62.7±8.6	NS
Sex			
male	n=37 20 54.1%	17 45.9%	
female	n=12 9 75.0%	3 25.0%	N.S.
Location			
C : upper	n=10 6 40.0%	4 40.0%	
M : middle	n=16 8 50.0%	8 50.0%	
A : lower	n=23 15 65.2%	8 34.8%	N.S.
Macroscopic type			
superficial type	n=9 6 66.7%	3 33.3%	
advanced type	n=40 23 57.5%	17 42.5%	N.S.
Histology			
differentiated type	n=29 16 55.2%	13 44.8%	
undifferentiated type	n=20 13 65.0%	7 35.0%	N.S.
Nodal status			
n(-)	n=29 19 65.5%	10 34.5%	
n(+)	n=20 10 50.0%	10 50.0%	N.S.
Paritoneal metastases			
P(-)	n=47 29 61.7%	18 38.3%	
P(+)	n=2 0 0.0%	2 100%	P=0.08
Liver metasses			
H(-)	n=48 29 60.4%	19 39.6%	
H(+)	n=1 0 0.0%	1 100%	N.S.
Stage grouping			
stage Ib	n=29 19 65.5%	10 34.5%	
stage II	n=11 6 54.5%	5 45.5%	
stage IIIa	n=5 4 80.0%	1 20.0%	
stage IIIb	n=1 0 0.0%	1 100%	
stage IVa	n=1 0 0.0%	1 100%	
stage IVb	n=2 0 0.0%	2 100%	N.S.

Fig. 1 Survival rates by DNA ploidy pattern



ンが最も有意な予後規定因子となり, 次いでリンパ節転移, 腹膜播種であった (Table 3).

Table 2 Five-year survival rates according to clinicopathological variables in mp gastric cancer

		Five-years survival rate	
Sex			
male	n=37	73.4%	N.S.
female	n=12	72.9%	
Location			N.S.
C : upper	n=10	48.0%	
M : middle	n=16	77.9%	
A : lower	n=23	81.7%	
Macroscopic type			N.S.
superficial type	n=9	74.1%	
advanced type	n=40	72.8%	
Histology			N.S.
differentiated type	n=29	69.1%	
undifferentiated type	n=20	82.9%	
Nodal status			p<0.005
n(-)	n=29	88.8%	
n(+)	n=20	47.1%	
Peritoneal metastases			N.S.
P(-)	n=47	74.8%	
P(+)	n=2	0.0%	
Liver metastases			p<0.05
H(-)	n=48	74.8%	
H(+)	n=1	0.0%	
Ploidy pattern			p<0.01
diploid	n=20	88.6%	
aneuploid	n=29	50.5%	

考 察

mp 胃癌は、従来より早期癌と漿膜浸潤癌の中間的存在として、臨床で多くの検討がなされてきた。自験例での mp 胃癌の頻度は胃癌切除例の14%であり、これまでの報告^{4)5)~7)}の8.6~12.3%や、全国集計⁸⁾の11.2%と近似する値であった。その5年生存率は68.8%~85.5%と報告されており⁴⁾⁵⁾⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾、自験例でも73.2%と比較的良好であった。

mp 胃癌の年齢と性別に関しては50歳代で男性に多いとする報告が多い。自験例では平均年齢が59.8歳とやや高齢の結果であり、性別では男性が69%を占めた。占居部位ではA, M, Cの順に多いとする報告が多く自験例でも同様であった。占居部位と予後との関連については、A領域のmp胃癌は予後が悪いとする報告¹¹⁾¹²⁾が多いが、その理由としてA領域のmp胃癌はBorrmann型が多いこと⁵⁾¹⁰⁾¹²⁾やリンパ節転移率が高いこと¹¹⁾が挙げられる。

肉眼的分類を早期癌類似型とBorrmann型に分けると、前者にくらべ後者の予後が不良であるという報告が多い^{9)~11)}。この理由としてBorrmann型は早期癌類似型にくらべmp癌の浸潤が高度な場合が多く、腫瘍の絶対量が多いことがあげられている⁹⁾。早期癌類似型の発生頻度は諸家の報告によると10%から45%と一定しておらず、自験例では18.4%であった。組織学的分類では分化型が62.3%を占め、他の施設の比較す

Table 3 Scoring of prognostic variables and multivariate analysis using Cox's proportional hazard model

Sex	male : 1, female : 2			
Location	upper : 1, middle : 2, lower : 3			
Macroscopic type	superficial type : 0, advanced type : 1			
Histology	differentiated type : 1, undifferentiated type : 2			
Nodal status	n(-) : 1, n(+): 2			
Peritoneal metastasis	P(-) : 1, P(+): 2			
Liver metastasis	H(-) : 1, H(+): 2			
Ploidy pattern	diploid : 1, aneuploid : 2			
	Beta	Regression Coefficient	P value	Risk ratio
Sex	0.6176	1.0031	0.5381	1.8545
Location	-0.6834	0.5061	0.1769	0.5049
Macroscopic type	0.0126	1.1274	0.9911	1.0127
Histology	-0.6862	1.0096	0.4967	0.5035
Nodal status	1.6889	0.7650	0.0273	5.4135
Peritoneal metastasis	2.9344	1.6099	0.0684	18.8107
Liver metastasis	1.5677	1.4983	0.2954	4.7955
Ploidy pattern	1.8878	0.8505	0.0264	6.6051

ると分化型が多かった。組織型と予後については両群間に差はないとする報告¹⁰⁾¹³⁾もあるが、未分化型よりも分化型の予後が悪いとする報告⁴⁾⁵⁾も多い。

一般的に胃癌の深達度をそろえると予後因子としてリンパ節転移が最も重視されており、リンパ節転移の広がりや転移リンパ節数が重要であるとされている⁹⁾。村上ら⁶⁾は mp 胃癌71例中33例 (46.5%) にリンパ節転移がみられたと報告しており、文献的にも40%から50%ぐらいの頻度である⁴⁾⁵⁾⁹⁾。自験例ではリンパ節陽性例が40.8%でリンパ節陽性の中でも、n1 (+) がほぼ半数を占めた。羽生ら⁵⁾はリンパ節転移の有無により早期胃癌と mp 胃癌の生存率をみると両群に差はみられないことから、早期癌や mp 癌においては深達度そのものよりもリンパ節転移の方が予後に大きな影響を及ぼすとしている。自験例においてもリンパ節転移は単変量解析のみならず多変量解析においても独立した有意な予後因子であった。しかし mp 胃癌においてリンパ節転移の有無により生存率に差はないとする報告もある⁷⁾。

mp 癌は漿膜浸潤がなく、根治手術が可能であることから、根治手術後の予後は癌細胞そのものの生物学的態度に影響されることが考えられる。また mp 胃癌の予後において、癌死に対するリンパ節再発の割合は減少しており、mp までの癌においてはリンパ節郭清の成果が十分に発揮されている⁶⁾。そこで生物学的悪性度の指標として細胞核 DNA 量を測定することにより、他の臨床病理学的因子と共に予後に与える影響について検討した。細胞核 DNA 量をみると diploid が29例、aneuploid が20例であり、これまでのフローサイトメトリーによる胃癌核 DNA 量の報告に比較し aneuploid の頻度は低かった^{14)~17)}。本研究においてもこれまでの報告¹⁵⁾と同様に DNA ploidy パターンの出現頻度と臨床病理学的因子との間に関連はなかった。Ballantyne ら¹⁵⁾は病期 (stage) は原則的には時間の経過と共に進行するが、DNA aneuploidy と臨床病期とは関連がなく、病期だけではそれぞれの胃癌の悪性度を予測できないとしている。

これまでの教室における旧分類 stage II・III 胃癌での成績では DNA ploidy パターンによる予後の差はみられず¹⁸⁾、田中¹⁶⁾も同様な成績を示しているが、木村ら¹⁷⁾は進行胃癌での DNA 解析により diploid 癌は有意に良好な予後を示し、同一 stage 間では stage III, IV 症例において DNA ploidy が予後に及ぼす影響は顕著であったとしている。深達度を mp までに限局し

た胃癌での本研究においては aneuploid 癌の予後は diploid 癌に較べ有意に不良な生存率を示したが、朴ら⁷⁾も mp 胃癌の核 DNA 量の検討で5年生存率は aneuploid 55.6%、diploid 90.0%で aneuploid 胃癌が有意に予後不良であったと報告している。この理由として、癌が漿膜をこえるような進行癌においては癌細胞の生物学的悪性度よりも癌細胞の量的な因子が予後を反映するのに対し、固有筋層までの浸潤を示す癌はその生物学的態度が予後に影響するものと考えられる。

性、占居部位、肉眼型、組織型、リンパ節転移、腹膜播種、肝転移、核 DNA 量を予後因子として用いた多変量解析を行ったところ、核 DNA 量、リンパ節転移、腹膜播種が独立した予後規定因子であった。したがって、mp 胃癌における細胞核 DNA 量は生物学的に高い悪性度を示す細胞内所見であるといえる。Korenaga ら¹⁹⁾も顕微蛍光測定法による胃癌細胞核 DNA ploidy パターンの多変量解析において、核 DNA 量は独立した有意な予後規定因子であることを報告している。今回は retrospective な研究であるが、今後術前に超音波内視鏡による正確な深達度診断と生検標本による核 DNA 量測定により、外科的治療も含め術前化学療法などの工夫によってより効果的な治療成績の向上が期待される。

文 献

- 1) 佐野量造：胃癌の進展。佐野量造編。胃疾患の臨床病理。医学書院、東京、1974、p112-124
- 2) 胃癌研究会編：胃癌取扱い規約、改訂12版。金原出版、東京、1993
- 3) Schutte B, Reynders MMJ, Bosman FT et al: Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. *Cytometry* 6: 26-30, 1985
- 4) 寺部啓介, 亀井秀雄, 市橋秀仁ほか：pm 胃癌の予後。特に病理組織学的検討を中心として。日臨外会誌 45: 259-262, 1984
- 5) 羽生 丕, 砂川正勝, 竹下公矢ほか：固有筋層まで達した (pm 胃癌) の臨床、病理学的特徴と予後、とくに早期胃癌との比較において。日消外会誌 18: 2279-2287, 1985
- 6) 村上義昭, 布袋裕士, 津村裕和ほか：pm 胃癌の臨床病理学的検討—とくにリンパ節転移との相関について。日消外会誌 21: 26-31, 1988
- 7) 朴 常秀, 中根恭司, 駒田尚直ほか：pm 胃癌の予後規定因子に関する検討。日外会誌 92: 17-23, 1991
- 8) Miwa K: Miwa Registry Institute for Gastric

- Canecer, Treatment results of gastric carcinoma in Japan (1979-1982). Mitamura Press, Tokyo, 1955, p14
- 9) 吉川時弘, 武藤輝一, 佐々木公一ほか: pm 胃癌の臨床病理学的検討. とくに肉眼型, リンパ筋転移と予後の関係を中心に. 外科診療 26: 484-489, 1984
 - 10) 杉山 譲, 三上泰徳, 森谷, 洋ほか: 肉眼型よりみた pm 胃癌の臨床病理学的検討. 消外 12: 1325-1329, 1989
 - 11) 紀藤 毅, 今永 一, 山田栄吉ほか: 固有筋層 (pm)にとどまる胃癌の予後. 手術 26: 281-286, 1972
 - 12) 操 厚, 田中千凱, 伊藤隆夫ほか: pm 胃癌の検討. 癌の臨 29: 874-879, 1983
 - 13) 廣田映五, 下田忠和, 佐野量造: pm 胃癌の病理-早期胃癌と進行胃癌の関連性-. 胃と腸 11: 837-845, 1976
 - 14) McCartney JC, Camplejohn RS, Powell GP: DNA flow cytometry of histological material from human gastric cancer. J Pathol 148: 273-277, 1986
 - 15) Ballantyne KC, James PD, Robins RA et al: Flow cytometric analysis of the DNA content of gastric cancer. Br J Cancer 56: 52-54, 1987
 - 16) 田中雄二. 胃癌の DNA ploidy pattern と臨床病理学的所見の関連について-分化型腺癌と未分化型腺癌の比較-. 日消外会誌 24: 2345-2353, 1991
 - 17) 木村寛伸, 米村 豊, 岩佐和豊ほか: Flow cytometryによる進行胃癌の DNA ploidy pattern と予後. 日外会誌 92: 288-292, 1991
 - 18) 関川浩司, 土屋敦雄, 佐藤尚紀ほか: 胃癌の組織型と核 DNA 量に関する臨床病理学的検討. 日消外会誌 22: 2784-2788, 1989
 - 19) Korenaga D, Haraguchi M, Okamura T et al.: DNA ploidy and tumor invasion in human gastric cancer. Auch Surg 124: 314-318, 1989

Nuclear DNA Content as a Prognostic Factor in Gastric Cancer Invading to Proper Muscle Layer

Atsuo Tsuchiya, Youichi Kikuchi, Rikiya Abe, Hiroshi Mizunuma,
Masashi Kanazawa, Hisayoshi Sato, Yoshiro Ando,
Tadashi Nomizu and Tsuneyuki Yoshida
Department of Surgery II, Fukushima Medical College

We investigated clinicopathologically gastric cancer invasion into the proper muscle layer (mp), and the relation of flowcytometric DNA content to prognosis was determined. There was no correlation between DNA ploidy and clinicopathological variables, such as age, gender, location, macroscopic type, histology, nodal status, peritoneal metastasis, liver metastasis and staging. Fifty-nine percent of the cancers were diploid and 41% were aneuploid, and the 5-year survival rates were 89% and 50%, respectively. Nodal status, DNA ploidy and liver metastasis were the significant prognostic variables in a univariate analysis, and the first two were also significant in a multivariate analysis. The DNA ploidy pattern in mp gastric cancer is considered to be an independent prognostic factor.

Reprint requests: Atsuo Tsuchiya Department of Surgery II, Fukushima Medical College
1 Hikarigaoka, Fukushima, 960-12 JAPAN