

中下部胆管癌の予後因子の検討

—特に核 DNA 量, MIB-1 score, p53蛋白発現について—

国立仙台病院外科

山田 康雄 山内 英生 柿崎 健二

中下部胆管癌切除例28例を対象として、モノクローナル抗体 MIB-1/Ki-67により表現される腫瘍増殖活性、p53蛋白発現ならびに核 DNA 量の予後規定因子としての意義を検討し、病理組織学的因子との比較を行った。病理組織学的因子と予後との関係では、stage I~III と IV の間で、また下部胆管癌において panc (-) 群と (+) 群との間で生存率に有意差がみられた ($p < 0.05$)。平均核 DNA 量が 5c 以上の群は 5c 以下の群に比べて有意に予後不良であった ($p < 0.05$)。MIB-1 score (染色陽性率) 10%以下の群は10%以上の群に比べ有意に予後良好であった ($p < 0.01$)。p53蛋白発現の有無による予後の差はみられなかった。病理組織学的因子と平均核 DNA 量、MIB-1 score との間に有意な相関はみられなかった。以上の結果より、平均核 DNA 量、MIB-1, score は中下部胆管癌の予後規定因子として有用と思われた。

Key words: carcinoma of the middle and lower bile duct, nuclear DNA content, MIB-1, Ki-67, p53 protein

はじめに

膵頭領域癌は各種診断・治療技術の進歩した今日においても予後不良の悪性腫瘍であると言わざるをえない。しかしその中において、中下部胆管癌は膵頭部癌などに比べ比較的予後良好であり、長期生存を得られる症例も散見される。予後の推測は治療法を選択する上でも重要であり、肉眼的あるいは組織学的進行度はそのよい指標となるが、さらに精緻な予後推定を行うためには形態学的因子を補完する別の予後規定因子が必要と思われ、今日、その一つとして、腫瘍の生物学的悪性度を示す様々なパラメーターについて検討がなされている。しかし、中下部胆管癌において、こうした検討を行った報告は少ない。

生物学的悪性度の指標の一つとして、腫瘍増殖活性を表すパラメーターが挙げられるが、その中で、late G₁, S, G₂, M 期の増殖期細胞に出現する核抗原 Ki-67¹⁾²⁾は、モノクローナル抗体 MIB-1を用いることで通常のホルマリン固定パラフィン包埋標本においても良好な染色が可能であり³⁾、その染色陽性細胞の割合を算定することで増殖活性の程度を定量的に比較検討す

ることができる。

一方、近年、癌抑制遺伝子異常と生物学的悪性度との関連について検討がなされており、特に消化器癌領域においては p53が注目を集めている^{4)~7)}。p53は染色体17pに位置し、正常細胞においては癌抑制遺伝子として作用しているといわれるが、癌細胞においては17pの欠失と対立遺伝子の点突然変異が高率にみられ、この変異 p53遺伝子産物である p53蛋白が過剰発現される⁸⁾。すなわち、p53蛋白を免疫組織学的に検出することにより癌抑制遺伝子 p53の変異を推定することができる。

本研究では、中下部胆管癌切除例において、MIB-1により表現される腫瘍増殖活性、p53蛋白発現に加え核 DNA 量の評価を行い、これらが予後規定因子たりうるかどうか、また病理組織学的因子から独立してこれを補完し得るかどうかについて retrospective に検討した。

対象と方法

1. 対象

対象は1985年7月から1993年12月までの間に国立仙台病院外科で切除術を施行した中下部胆管癌症例28例とした。年齢は40歳から80歳まで、平均67.6歳で、男性18例、女性10例であった。腫瘍占居部位は下部胆管

癌(以下, Bi) 20例, 中部胆管癌(以下, Bm) 8例であった。手術術式は, Bi 全例に膵頭十二指腸切除術を施行し, Bm 8例中6例に胆管切除術を, 2例に膵頭十二指腸切除術を施行した。28例中, 3年以上生存例11例, 3年以内死亡例13例であり, 3年以内生存中が4例であった。

2. 病理組織学的検討

病理組織学的検討は胆道癌取り扱い規約⁹⁾に従い行った。

3. 核 DNA 量測定

28例のうち20例について, 顕微分光測光法により原発巣の癌細胞核 DNA 量の測定を行った。すなわち, 各症例の切除標本のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから50 μ mの切片を切り出し, 脱パラフィン・ペプシン処理の後, 細切・濾過を行い単離細胞浮遊液を作成した。4', 6-diamidino-2 phenylindole (DAPI) で染色を行った後塗抹し, 蛍光顕微鏡(オリンパス OSP-1)により, 200個の癌細胞の蛍光強度を計測することにより核 DNA 量の相対量を測定した。対照は同一標本内のリンパ球20個とした。

4. 免疫組織学的方法

28例全例で下記の方法によりマウスモノクローナル抗体 MIB-1を用い免疫組織染色を行った。

ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより3 μ mの薄切切片を切り出し, 脱パラフィンの後, 0.1M クエン酸緩衝液中でマイクロ・ウェーブ処理を行った。続いて0.3%過酸化水素水加メタノールに30分間浸し内因性ペルオキシダーゼを阻した。リン酸緩衝液で洗浄した後正常ウマ血清に20分間浸し非特異的反応のブロッキングを行った後, 1次抗体としてマウスモノクローナル抗体 MIB-1/Ki-67 ($\times 20$, Immunotech 社)と一晚反応させた。洗浄後, 2次抗体として Biotinylated anti-mouse IgG ($\times 500$, Vector 社), 続いて AB complex (DACO 社)と30分反応させた後に DAB 液にて発色させ核染を行った。各症例10視野(Olympus BH-2, $\times 40$ 対物, $\times 10$ 接眼)を無作為に抽出, 最低1,000個の核を計測して, 陽性細胞の百分率を算定し, MIB-1 score とした。

p53蛋白の免疫染色も MIB-1と同じ方法により行った。1次抗体は抗 p53蛋白マウスモノクローナル抗体 ($\times 500$, DACO 社, DO-7)を用いた。

5. 統計学的方法

累積生存率は Kaplan-Meier 法により算出し, 生存率の有意差検定は generalized Wilcoxon test により

行った。2群間の平均値の比較は Student's-t test により, 百分率の比較は χ^2 検定および Fisher の直接確率法により行った。危険率5%をもって有意差ありと判定した。

結 果

I. 臨床病理学的所見

1) 全症例の累積生存率

全症例の累積生存率を見ると, 3生率は Bi 49%, Bm 40%, 5生率は Bi 29%, Bm 40%であり, 腫瘍占居部位による生存率の差は見られなかった。

2) stage と根治度

28例を stage 別にみると, stage I が4例, II が7例, III が12例, IV が5例であった。3生率は stage I ; 75%, II ; 64%, III ; 57%であったが, stage IV 症例は全例1年以内に死亡した。stage I, II, III の間で生存率に関して統計学的有意差はみられなかったが, stage III 以下に比べ stage IV では有意に予後不良であった (Fig. 1)。

相対治癒以上の治癒切除例は21例(75%), 非治癒切除例は7例であった。治癒切除群では3生率60%, 5生率45%であったのに対し, 非治癒切除群では3生率29%で5生例はなかった。絶対非治癒切除例4例は全例1年以内に死亡した。

3) 組織型

組織型は, 乳頭腺癌(以下, pap) 4例, 管状腺癌・高分化型(以下, tub1) 5例, 中分化型(以下, tub2) 12例, 低分化型(以下, por) 5例, 腺扁平上皮癌(以下, as) 2例であった。組織型ごとの3生率は pap 75%, tub1 60%, tub2 39%, por 65%, as 50%であった。いずれの群間においても生存率に統計学的有意差は見られなかった。

4) 組織学的進展因子

リンパ節転移(以下, n)は12例(43%)にみられた。

Fig. 1 Survival curves according to stage.

* $p < 0.05$

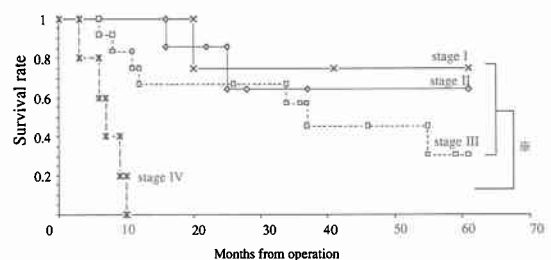
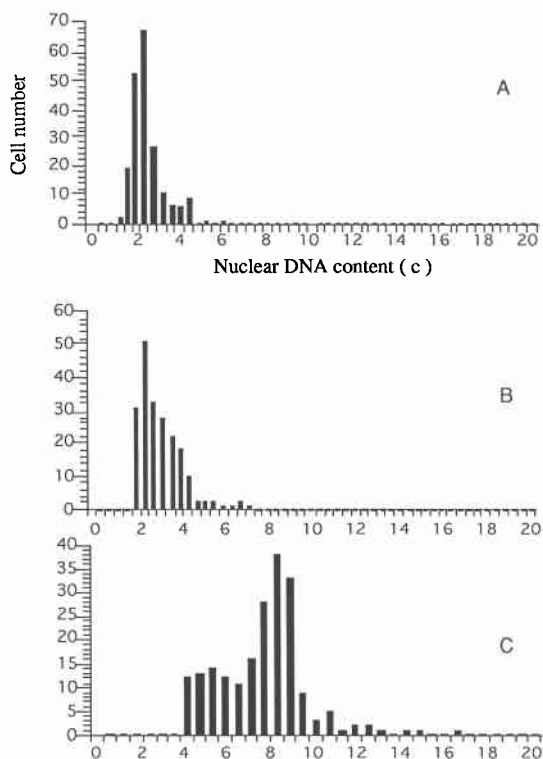


Table 1 Three-year survival rates according to histological factors

Histological factors	Cumulative survival rate at 3 years(%)		(-) vs (+)
	(-)group	(+)group	
Lymph node metastases	68	21	p<0.1
Lymphatic permeation	63	0	p<0.1
Venous permeation	42	75	N.S.
Pancreatic infiltration	100	36	p<0.05
Duodenal invasion	53	29	N.S.
Perineural invasion	57	50	N.S.

Statistical method : generalized wilcoxon test.

Fig. 2 Typical patterns of DNA histogramas. (A) Diploid. (B) Aneuploid, but demonstrating a relatively low DNA content. (C) Aneuploid demonstrating a very high DNA content.



n(-) 症例16例では3生率, 5生率ともに68%であったのに対し, n(+) 症例では3生率21%, 5生率0であり, n(-) 症例で予後良好と思われたが有意差はみられなかった (p<0.1).

リンパ管侵襲 (以下, ly) は28例中6例にみられた, ly(-)群の3生率が63%, 5生率44%であるのに対し, ly(+) 群では3生例はみられず, ly(+) 群は予後不

良と思われたが, 有意差はみられなかった, (p<0.1). 静脈侵襲 (以下, v) は4例 (14%) にみられた. 3生率はv(+) 群で75%, v(-) 群で42%であり両群間に有意差はみられなかった.

Bi 20例中, 膵臓浸潤 (以下, panc) は15例 (75%) にみられた. panc(-) 群5例に3年以内死亡例はみられなかった. panc(+) 群の3生率は36%, 5生率は12%であった. panc(-) 群は panc(+) 群に比べ有意に予後良好であった (p<0.05).

Bm 8例における深達度は, 線維筋層内にとどまるもの (以下, fm) 2例, 外膜を越えるも漿膜には達していないもの (以下, ss) 5例, 漿膜面に露出しているもの (以下, se) 1例であった. fmでは3生例1例, 3年以内死亡例1例, ssでは3生例1例, 3年以内死亡例2例, 3年以内生存中2例, se 1例は3年以内生存中であり, Bmでは深達度による予後の違いはないものと思われた.

十二指腸浸潤 (以下, d) はBi 20例中7例 (35%) にみられた. 3生率, 5生率はそれぞれd(-)で53%, 35%, d(+)で29%, 29%であり, 両群間の生存率に有意差はみられなかった.

Fig. 3 Survival curves according to mean DNA content below or over 5c.

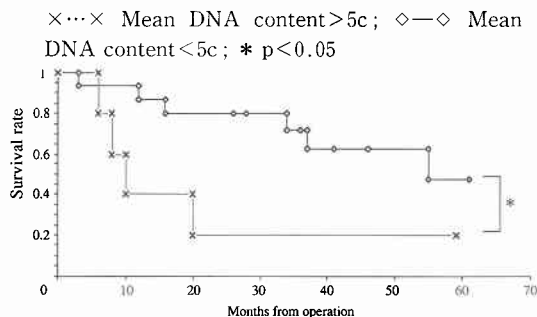
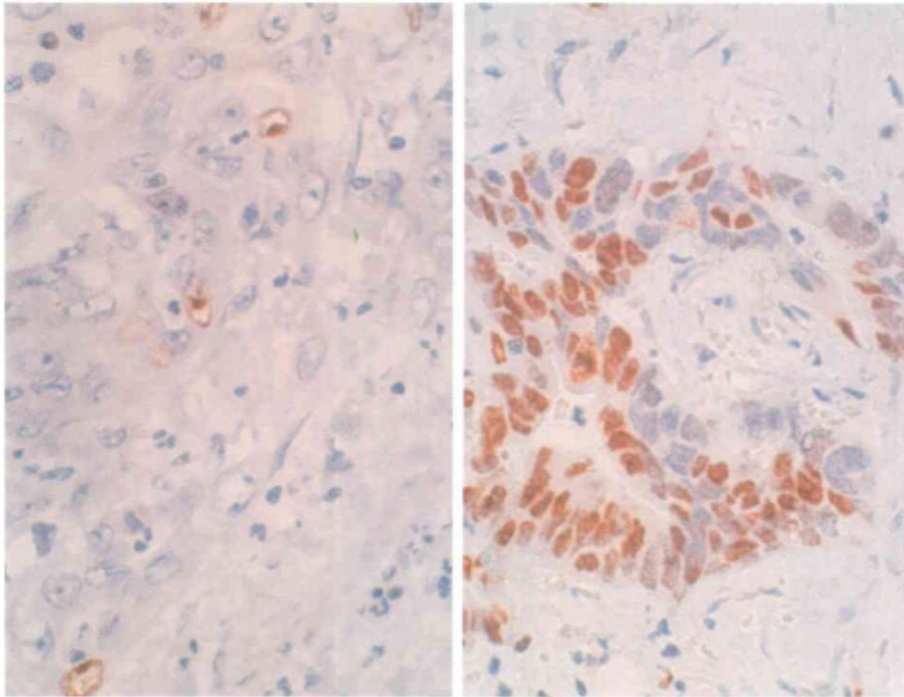


Fig. 4 Immunostaining with MIB-1. (A) Lower bile duct carcinoma demonstrating low MIB-1 score (7.4%). The patient is surviving over three years after the operation. (B) Lower bile duct carcinoma demonstrating high MIB-1 score (45%). The patient died 6months after the operation.

A | B



神経周囲浸潤（以下，pn）は14例（50%）にみられた。pn（-）群では3生率57%，5生率32%であったのに対し，pn（+）群ではそれぞれ50%，50%であった。両群間の生存率に有意差はみられなかった（Table 1）。

II. 核DNA量解析

核DNA量の測定を行った20例の ploidy pattern をみると，diploidは2例にみられたのみで他はすべて aneuploidであった（Fig. 2）。各症例200個の癌細胞の平均核DNA量を3年以上生存例10例と3年以内死亡例8例との間で比較したが両群間に有意差はみられな

Fig. 5 Survival curves according to MIB-1 scores below or over 10%.

×…× MIB-1 score > 10% ; ◇—◇ MIB-1 score < 10% ; * p < 0.01

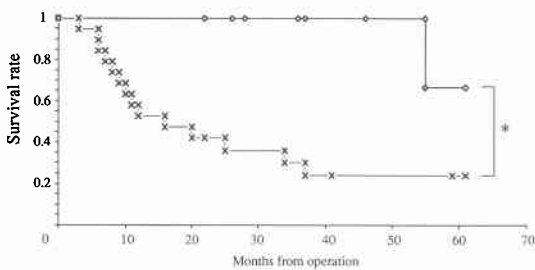


Fig. 6 Survival curves according to MIB-1 scores in stage I, II and III patients.

×…× MIB-1 score > 10% (n=14) ; ◇—◇ MIB-1 score < 10% (n=9) ; *** p < 0.01

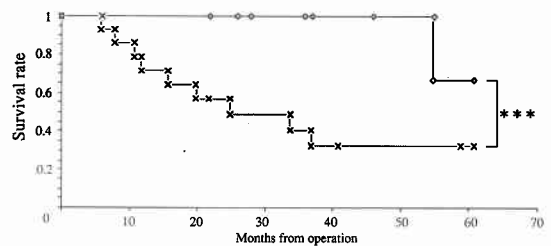
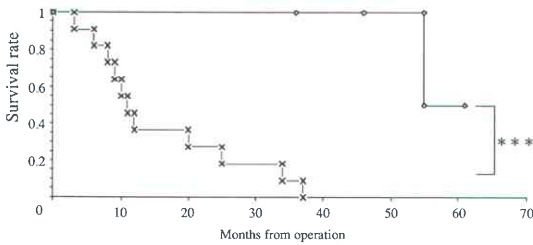


Fig. 7 Survival curves according to MIB-1 scores in the patients with pancreatic infiltration.
 ×··× MIB-1 score > 10% (n=11); ◇—◇ MIB-1 score < 10% (n=4); *** p < 0.01



かった。平均核 DNA 量の cut off 値を 3c, 4c, 5c にそれぞれ設定し, cut off 値以上の群と以下の群で生存率を比較したところ, 5c において有意差がみられ, 5c 以上の群が有意に予後不良であった (Fig. 3)。

5c 以上の群と 5c 以下の群との間で stage, 根治度, 組織型, 組織学的進展因子 (n, ly, v, panc, d, pn) について比較検討したが, 両群間に有意な差を認めな

かった。

III. MIB-1 score

3 生例 11 例の MIB-1 score は平均 $13.3 \pm 11.0\%$, 3 年以内死亡例 13 例では $20.7 \pm 9.3\%$ であり, 3 年以内死亡群で高い傾向がみられた (Fig. 4)。MIB-1 score の cut off 値を 10% とすると, 10% 以下の症例は 3 生群では 6 例 (55%) であったが, 3 年以内死亡群では 1 例もみられなかった。全症例を 10% 以下と 10% 以上の群に分けて累積生存率を比較すると 10% 以下の群で有意に予後良好であった (Fig. 5)。

10% 以下と 10% 以上の群で stage, 根治度, 組織型, 組織学的進展因子について比較したが, 両群間で有意な違いはみられなかった。

病理組織学的因子の中で有意な予後規定因子と思われる stage, panc に関して背景をそろえる意味で, 全例 1 年以内に死亡した stage IV を除いて, また死亡例のみられなかった panc(-) を除いて, それぞれ MIB-1 score 10% で分けて生存率を比較したところ, いずれも 10% 以下の症例で有意に予後良好であった (Fig. 6,

Fig. 8 Immunostaining with anti-p53 protein monoclonal antibody. (A) Lower bile duct carcinoma demonstrating p53 protein. The patient is surviving over three years after the operation. (B) Lower bile duct carcinoma which is not demonstrating p53 protein. The patient died 8 months after the operation.

A | B

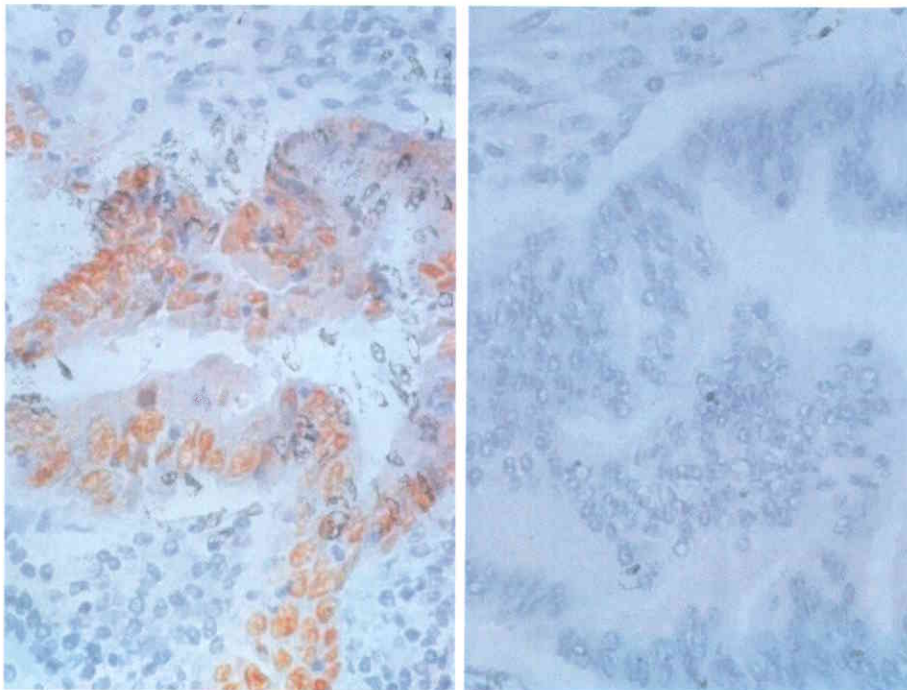
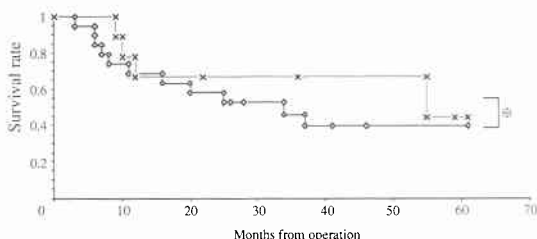


Fig. 9 Survival curves according to expression of p53 protein.

×··× p53 protein (+); ◇—◇ p53 protein (-); ※ N.S.



7).

IV. p53

p53蛋白陽性症例は9例(32%)であった(Fig. 8)。p53(+)群とp53(-)群との間で累積生存率を比較したが有意差はみられなかった(Fig. 9)。stage別では、stage Iを除いたすべてのstageでp53(+)症例がみられた。

p53蛋白陽性群と陰性群でstage, 根治度, 組織型, 組織学的進展因子について比較したが有意な違いは見られなかった。

V. 核DNA量とMIB-1 scoreの相関

平均核DNA量とMIB-1 scoreに関して直線回帰を行ったところ, 両者の間に有意な相関がみられた(Fig. 10)。

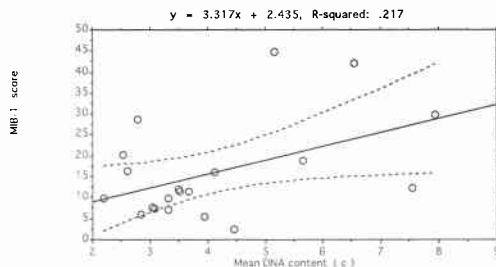
考 察

膵頭領域癌は予後不良として知られるが, 中下部胆管癌は中でも比較的予後良好であり, 長期生存例も散見される。諸家の報告によると胆管癌手術例の3年生存率, 5年生存率は, Bmでそれぞれ5~38%, 0~32%, Biでそれぞれ41~61%, 37~53%とされる^{10)~13)}。今回の検討の成績では, 3生率, 5生率はそれぞれBmで40%, 40%, Biで49%, 29%であり, おおむね諸報告と同様の結果であった。

従来, 中下部胆管癌の予後規定因子についての検討は専ら形態学的側面よりアプローチされており, 手術根治度, stage, リンパ節転移, 壁深達度, 膵臓浸潤などが予後因子として挙げられている^{10)~13)}。今回の検討ではstage IV症例は全例1年以内に死亡しており, 長期生存のためにはstage III以下であることが必要条件であると思われた。組織学的進展因子では, 膵臓浸潤のないことが長期生存には重要と思われた。しかし, 予後予測をより精緻に行うために, こうした形態学的

Fig. 10 Correlation between mean DNA content and MIB-1 score.

(N=20, r=0.466, p<0.05)



因子と別の観点からの予後因子が求められており, 現在, 腫瘍細胞自体が持つ生物学的悪性度に関心が寄せられている。

核DNA量に関する研究はこれまで消化器癌においても数多くなされている^{14)~20)}。これらの多くは多数の細胞を短時間で解析できる長所を持つflow cytometryによる検討である。しかし, flow cytometryは固形腫瘍を対象とした場合, 間葉系の細胞を同時に測定してしまうという短所を合わせもつ¹⁴⁾¹⁵⁾。したがって, 今回の研究では癌細胞の確認を伴う顕微分光測光法により測定を行った。

測定した核DNA量の解析方法としては, G₀G₁ピークの位置による分類, すなわちploidy patternによるものが多いが, 他方, パターン分類を行わず, 平均値などを用いて評価を行っている報告もある^{14)~16)}。今回の検討においてもploidy patternによる評価を行ったが, コントロールとした正常リンパ球と同様のヒストグラムを示すdiploidはわずか2名にみられたのみで, 他はすべてaneuploidであり, しかもそのパターンが多彩であったため, 癌細胞200個の核DNA量の平均値を用いて比較検討を行った。

核DNA量と組織型, 進行度, 組織学的進展因子との関係についての報告¹⁴⁾¹⁷⁾¹⁸⁾には異論が多いが, 核DNA量と予後との関連については相関ありとする報告が多い¹⁷⁾¹⁸⁾。中下部胆管癌における核DNA量の検討は少ないが, 戸田ら¹⁹⁾, 田端ら²⁰⁾が予後との相関がみられたと報告している。今回の検討では, 5cを平均核DNA量のcut off値とした場合に予後に有意差がみられ, 形態学的因子との関連については有意な相関を示したものはなく, 平均核DNA量がほぼ独立した予後規定因子となりうることを示唆された。しかしながら, 核DNA量の検討症例数が少なく, stage pancなど形態

学的因子の背景をそろえた上での検討はできなかった。

一方、生物学的悪性度の表現として腫瘍細胞の増殖活性もまた注目を集めており、その一指標として Ki-67 が挙げられる。Ki-67 は Gerdes ら¹⁾により Hodgkin および Stenberg-Reed 細胞の核抗原に対するモノクローナル抗体として開発された。この抗体が認識する Ki-67 抗原は late G₁, S, G₂, M 期の増殖期細胞に出現し、休止期にある G₀期および early G₁期の細胞には出現しない²⁾。Ki-67 抗体は新鮮標本においてのみ反応がみられ、ホルマリン固定パラフィンでは反応しないという欠点があるが、近年、ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いてマイクロウェーブ処理を行うことにより Ki-67 抗原を認識しうるモノクローナル抗体 MIB-1 が開発され³⁾、各種の腫瘍増殖活性の解析に応用されている。

MIB-1 と他の細胞増殖活性に関するパラメーターとの相関については、Pich ら²¹⁾が悪性リンパ腫において Proliferating cell nuclear antigen (以下、PCNA) との関連を、Lynch ら²²⁾が胃粘膜生検標本を用いて Bromodeoxyuridine (以下、BrdU) との関連をそれぞれ報告しており、いずれも有意な相関がみられたとしている。

Ki-67 (MIB-1) が表す増殖活性と悪性腫瘍の進行度、組織型、予後との関連に関する報告では、Cheville ら²³⁾が腎盂癌での検討で Grade, 進行度との間に相関はみられたが予後との間に相関はなかったとしている一方、掛川ら⁴⁾は食道癌での検討で陽性細胞率の cut off 値を 1% としたときに、また Kerns ら²⁴⁾は卵巣癌での検討で 7% を cut off 値としたときに、進行度、組織型に差はみられなかったが予後に有意差がみられたとしている。中下部胆管癌において Ki-67 (MIB-1) に関する報告は少なく、今回の著者の検討では、10% を cut off とした場合、10% 以下の群で有意に予後が良好であった。MIB-1 score と stage, 根治度、組織型、組織学的進展因子との間に有意な相関はみられなかった。さらに、stage, panc といった病理組織学的因子による予後規定に、MIB-1 の評価を追加する意義があるかどうかを検討する意味で、stage IV 症例および panc (－) 症例をそれぞれ除いて MIB-1 score 10% で分けて生存率を比較したところ、いずれも 10% 以下の症例で有意に予後良好であった。すなわち、stage や panc などの形態学的因子による予後規定の限界を、MIB-1 score が補うことが示唆された。

p53 は染色体 17p に存在し、正常細胞においては癌抑制遺伝子として作用しているとされているが、大腸癌では 17p の欠損とともに対立遺伝子の点突然変異が高率にみられ、この遺伝子産物である変異 p53 蛋白が過剰発現される⁵⁾。すなわち免疫組織学的に p53 蛋白の過剰発現を捉えることで癌抑制遺伝子 p53 の変異を知ることができる。

p53 の変異を癌の予後因子として応用しうるかどうかに関する検討では、山口ら⁶⁾が大腸癌において予後と相関するとした一方で、掛川ら⁴⁾は食道癌において相関しないとしており異論のあるところである。進行度、組織型、組織学的進展因子との関連に関しては、大腸癌において山口ら⁶⁾、山本ら⁹⁾が相関しないとしているのに対し、Nagao ら⁷⁾は肝癌において分化度の低い組織型において発現率が高いとしている。今回の著者の検討では、中下部胆管癌においては p53 蛋白の過剰発現は進行度、組織型、組織学的進展因子、予後のいずれとも相関がみられなかった。この解釈としては、p53 の変異が発癌の過程における問題であり、癌そのものの生物学的態度にかかわるかどうか疑問であるということ、また、癌抑制遺伝子が p53 以外にも染色体 13q の RB 遺伝子²⁵⁾、18q の DCC 遺伝子²⁶⁾など複数挙げられており、癌抑制遺伝子変異が p53 の異常だけで表現されえないことが考えられる。

最後に、核 DNA 量と MIB-1 score 相互の関係についてであるが、今回の検討では平均核 DNA 量と MIB-1 score が有意な正相関を示した。これは核 DNA 量の増加が細胞増殖活性の高い状態においてみられることを示しており、polyploid であることが細胞増殖活性が高いことを表している可能性があるものと思われた。

文 献

- 1) Gerdes J, Schwab U, Lemke H et al: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 31: 13-20, 1983
- 2) Gerdes J, Lemke H, Baisch H et al: Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 133: 1710-1715, 1984
- 3) Cattoretto G, Becker MHG, Key G et al: Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J*

- Pathol 168 : 357-363, 1992
- 4) 掛川暉夫, 山名秀明: 腫瘍臓器癌の予後因子; 食道癌。癌と化療 22 : 573-579, 1995
 - 5) 山口明夫, 伏田幸夫, 黒阪慶幸ほか: 大腸腫瘍における癌抑制遺伝子 p53 の発現と悪性度。日外会誌 93 : 1312-1316, 1992
 - 6) 山本英希, 山田宣孝, 浅野伍朗ほか: 核 DNA 量, p53, PCNA からみた大腸腺腫, 大腸癌の異型度と臨床病理学的因子に関する検討。日外会誌 95 : 763-774, 1994
 - 7) Nagao T, Kondo F, Sato T et al : Immunohistochemical detection of aberrant p53 expression in hepatocellular carcinoma ; correlation with cell proliferative activity indices, including mitotic index and MIB-1 immunostaining. Hum Pathol 26 : 326-333, 1995
 - 8) Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM et al : P53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. Cancer Res 50 : 7717-7722, 1990
 - 9) 日本胆道外科研究会編: 外科・病理。胆道癌取扱い規約。第3版。金原出版, 東京, 1993
 - 10) 羽生富士夫, 今泉俊秀, 吉川達也: 胆道癌・膵癌長期生存例; 手術術式の選択。外科治療 63 : 275-282, 1990
 - 11) 藪下和久, 小西孝司, 辻 政彦ほか: 中下部胆管癌手術例の臨床病理学的検討。日消外会誌 25 : 2724-2731, 1992
 - 12) 鈴木正徳, 小針雅男, 大内清昭ほか: 中・下部胆管癌一根治性からみた標準的膵頭十二指腸切除術の意義。胆と膵 13 : 1265-1269, 1992
 - 13) 上坂克彦, 二村雄次, 早川直和ほか: 下部胆管癌に対する幽門輪温存膵頭十二指腸切除術の適応一臨床病理学的検討。日消外会誌 26 : 1233-1238, 1993
 - 14) 片桐 一: 膵癌の DNA 量分析一特に腫瘍径および組織学的所見との関連について。日消外会誌 21 : 2262-2270, 1988
 - 15) 柿崎健二, 山田康雄, 山内英生: 膵癌の予後判定因子としての核 DNA, 細胞内蛋白の同時解析。膵臓 6 : 127-132, 1991
 - 16) 本多栄一: 胆癌大腸粘膜の組織 CEA 含量および細胞核 DNA 量に関する研究。日本大腸肛門病会誌 38 : 144-155, 1985
 - 17) 高村博之, 米村 豊, ルイス・フォンセカほか: 胃癌における DNA ploidy pattern, c-erb B-2 蛋白の発現及び PCNA index。日外会誌 96 : 213-222, 1995
 - 18) 大森一吉, 内野純一, 近藤征文ほか: 大腸癌における肝転移再発の予知一原発巣の病理組織学的所見, c-erb B-2 蛋白発現および腫瘍核 DNA 量からの検討。日消外会誌 24 : 2963-2929, 1991
 - 19) 戸田博之: Flow cytometry による下部胆管癌の DNA ploidy pattern に関する研究一病理組織学的諸因子ならびに予後との関連について。胆道 8 : 238-246, 1994
 - 20) 田端正巳, 小倉嘉文, 井戸政佳ほか: 病理組織学的ならびに分子生物学的特徴と再発様式からみた胆管癌治療上の問題点。日消外会誌 27 : 2327-2331, 1994
 - 21) Pich A, Ponti R, Valente G et al : MIB-1, Ki67, and PCNA scores and DNA flow cytometry in intermediate grade malignant lymphoma. J Clin Pathol 47 : 18-22, 1994
 - 22) Lynch DAF, Clarke AMT, Jackson P et al : Comparison of labelling by bromodeoxyuridine, MIB-1, and proliferating cell nuclear antigen in gastric mucosal biopsy specimens. J Clin Pathol 47 : 122-125, 1994
 - 23) Cheville JC, Terrell RB, Cohen MB : Use of proliferative markers Ki-67 (MIB-1) and proliferating cell antigen (PC10) in transitional cell carcinoma of the renal pelvis. Med Pathol 7 : 794-800, 1994
 - 24) Kerns BM, Jordan PA, Faerman LL et al : Determination of proliferation index with MIB-1 in advanced ovarian cancer using quantitative image analysis. Am J Clin Pathol 101 : 192-197, 1994
 - 25) Yokota J, Akiyama T, Fung YK et al : Altered expression of the retinoblastoma (RB) gene in small-cell carcinoma of the lung. Oncogene 3 : 471-475, 1988
 - 26) Fearon ER, Cho KR, Nigro JM et al : Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. Science 247 : 49-56, 1990

Prognostic Factors in the Patients with Carcinoma of the Middle and Lower Bile Duct —Analysis of Nuclear DNA Content, MIB-1 Score and Expression of the p53 Protein—

Yasuo Yamada, Hidemi Yamauchi and Kenji Kakizaki

Department of Surgery, Sendai National Hospital

In order to evaluate prognostic factors in patients with carcinoma of the middle and lower bile duct, MIB-1/Ki-67-derived tumor proliferative activity, expression of p53 protein and nuclear DNA content together with clinicopathology were studied retrospectively. Cytophotometric DNA analysis was performed in 20 of 28 specimens. MIB-1 and p53 were measured by immunohistochemistry in all specimens by the avidin-biotin complex method. The MIB-1 score was defined as the percentage of MIB-1-positive cells. There were significant differences in survival between the stage IV and stage I~III groups, and between the patients with pancreatic infiltration and those without it ($p < 0.05$). When the cut-off point of the mean DNA content was set at 5c, the patients with mean DNA content over 5c had a significant survival disadvantage compared with those below 5c ($p < 0.05$). The patients with MIB-1 scores below 10% had a significant survival advantage compared with those over 10% ($p < 0.01$). The survival was not affected by expression of p53 protein. Histological factors and stage did not correlate with mean DNA content, MIB-1 score or expression of p53. A significant linear correlation was observed between mean DNA content and MIB-1 score. These results suggest that the mean DNA content and MIB-1 score may be significant prognostic factors independent of histological factors and that expression of p53 protein does not affect the clinical outcome in patients with carcinoma of the middle and lower bile duct.

Reprint requests: Yasuo Yamada Department of Surgery, Sendai National Hospital
2-8-8 Miyagino, Miyagino-ku, Sendai, 983 JAPAN
