

胃癌のDNA ploidy pattern
と臨床病理学的所見の関連について 一分化型腺癌
と未分化型腺癌の比較—

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 田中, 雄二 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1397

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 120号	学位授与年月日	平成 4年 3月 9日
氏名	田中雄二		
論文題目	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—		

医学博士 田中雄二

論文題目

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 —

論文の内容の要旨

(はじめに)

胃癌における腫瘍内 DNA 量と生物学的特性との関連は、組織型の多様性や硬性型胃癌の処理に対する問題等により、十分な統一見解を得ていない。本研究は、フローサイトメトリー (以下 FCM) を用い、DNA ploidy pattern による胃癌の生物学的悪性度を臨床所見との関連において解明することを目標とした。

(研究対象および方法)

I. 研究対象

1978年7月より1983年8月に、浜松医科大学第2外科で切除された胃癌症例89例 (早期癌33例、進行癌56例) を対象とした。対象症例は分化型47例、未分化型42例であり、1991年6月現在、消息判明率は、95.2% (87/89) である。

II. 研究方法

1. FCM による DNA ploidy pattern の解析

a. 単離細胞核の作製

Hedley の方法に準じ、病巣中心部および非癌部上皮のパラフィンブロックを用い、ペプシン、EDTA 液、RNase 等を用いて単離細胞核浮遊液を作成し、70% エタノールで固定後 -20°C で保存した。

b. 細胞核 DNA 量の測定

propidium iodide 染色し、FCM を用いて、 10^4 個の細胞核 DNA 量を測定した。

c. DNA ヒストグラムの解析

非癌部上皮を外部標準とし、DNA index を算出した。DNA ploidy は、ヒストグラムパターンと DNA index により決定した。

d. DNA ploidy pattern の定義

Aneuploid (以下 A 群) は、1) GO-G1 と G2-M 以外に明らかなピーク (測定細胞数の10%以上) を示す場合、2) DNA index が0.9以下か、1.1以上の場合、3) 癌巣での CV 値が非癌部上皮に比べ3倍以上の場合、の3条件のうちひとつ以上を満たすものとし、この条件からはずれるものを diploid (以下 D 群) とした。

2. DNA ploidy pattern と臨床所見の対比

胃癌症例89例 (分化型47例、未分化型42例) の DNA ploidy pattern を決定し、1) 平均年齢、2) 男女比、3) 腫瘍占居部位、4) 肉眼的分類、5) 実質と間質の量比、6) 浸潤増殖様式、7) 深達度、8) リンパ節転移、9) 組織学的進行度、10) 生存率、11) 再発形式の11項目について検討した。

統計解析は、Student-t test と χ^2 検定を使用し、 $p < 0.05$ を有意と判定した。

(研究結果)

全体では、D 群51例 (57%)、A 群38例 (43%) であり、分化型では、D 群22例 (47%)、A 群 25例 (53%)、未分化型では、D 群 29例 (69%)、A 群 13例 (31%) であった。

臨床所見との関連では、1) 平均年齢: A 群は高齢者に有意に高い ($p < 0.01$)。2) 男女比: 未分化型で A 群を呈するものは女性に多い。3) 占居部位: M 領域で D 群 (27例、68.4%)、A 領域では A 群 (15例、60%) の発生が多い。4) 肉眼的分類: O 型で D 群、進行癌では 2 型で A 群が多い。5) 実質と間質の量比: 髓様型では、分化型で D 群、未分化型で A 群に偏在し、硬性型では D 群が多い。6) 浸潤増殖様式: INF γ は D 群が多い ($p < 0.01$)。7) 深達度: ps(-) で D 群、ps(+) では A 群が多い。8) リンパ節転移率: 分化型において、n(-) 例では D 群、n(+) 例では A 群が増加 ($p < 0.05$)。9) 組織学的

進行度：stage I では D 群、stage の進行に対応して A 群が増加。この傾向は分化型胃癌に強い。10) 生存率：全体の 5 生率は、D 群 63.8% (30/47)、A 群 54.5% (18/33) で両者間に有意差を認めなかったが、分化度別に細分すると、分化型で D 群 85.0% (17/20)、A 群 52.2% (12/23) で、有意に D 群症例の予後が良好 ($p < 0.05$)。11) 再発形式：全体では、D 群 38.3% (18/47)、A 群 48.5% (16/33) で A 群に高い傾向だが、再発形式には差を認めなかった。分化度別に検討すると、腹膜播種に関し、分化型で A 群、未分化型で D 群に有意に高率 ($p < 0.01$)。また、未分化型においては、A 群でリンパ節再発率が 75.0% (3/4) と高く、D 群では腹膜再発率が 73.3% (11/15) と高かった。

(考察および結語)

胃癌切除例 89 例の解析では、①加齢および性別により癌の悪性度が異なる可能性、②DNA ploidy pattern が、胃固有粘膜や腸上皮化生粘膜という発生母地の相違によって影響を受ける可能性、③分化度の相違により ploidy pattern に変化がみられ、DNA 量解析が病理組織学的な分類では区別できない相違点をより明確にする可能性が示唆された。また、分化型胃癌では、DNA ploidy pattern と予後との間に関連があることが示唆されたが、未分化型胃癌では、このような関連は認められず、実質と間質の量比や浸潤増殖様式および再発形式などに規制されるためと考えられた。

以上より、胃癌細胞核 DNA 量の測定は、分化型胃癌において、生物学的悪性度を反映するよい指標と考えられた。今後は、検体の処理や測定上の工夫に加え、分化度の相違による細胞増殖能の差異および担癌宿主側の要因を含めた総合的な解析が必要と思われる。

論文審査の結果の要旨

癌の DNA 量の研究は、その初期にはフォイルゲン染色による顕微測光法が開発された。ついで顕微蛍光測光法、最近ではフローサイトメトリー (以下 FCM) がしばしば使用されている。そして癌の DNA 量と生物学的態度との関係がいくつかの臓器ですでに検索されている。胃癌においても、DNA 量の測定は多数の研究者によって行われているが、胃癌の予後、転移形式などの生物学的態度と DNA 量との関係は、なお多面的に詳しく検討する必要がある。

そこで申請者は、ホルマリン固定パラフィンブロックから胃癌組織を採取し、その DNA 量を FCM によって測定した。

症例は、早期癌・進行癌を含めて、胃分化型癌 47 例、未分化型癌 42 例を測定した。DNA の FCM による測定は、概ねすでに確立された方法を踏襲した。すなわち、脱パラ後 0.5% ペプシンで処理し、0.01% EDTA を加え濾過し、0.01M のリン酸緩衝液で洗浄した。以上の操作で得られた核浮遊液に RNase を加えインキュベートした後、70% エタノールで固定し、 -20°C で保存した。これらの検体を propidium iodide で DNA 染色を行ない 10^4 個の細胞核 DNA 量を測定し、DNA ヒストグラムを作製した。

DNA ploidy pattern を aneuploid pattern と diploid pattern に二大別した。前者は、 $G_0-G_1-G_2-M$ 以外のピークを有する場合、DNA index が 0.9 以下あるいは 1.1 以上の場合、CV 値が正常部の 3 倍以上の場合のいずれかとした。後者は上記の条件からはずれる場合とした。なお、少数例について、FCM と顕微蛍光測光法とを併用し、両者の ploidy pattern が一致することを確かめた。結果として、次の事がわかった。

1. diploid 51 例 (57%)、aneuploid 38 例 (43%) であった。うち、分化型癌では diploid 47%、aneuploid 53% ではほぼ同数であるが、未分化型癌では diploid 69%、aneuploid 31% と diploid 優位であった。
2. aneuploid は有意に年齢が高かった ($p < 0.01$)。
3. 硬性型と INF γ では、未分化型癌が多く、diploid が優位を占めた。
4. 分化型癌では、リンパ節転移陽性例で aneuploid が多かった ($p < 0.05$)。

5. 未分化型癌では、diploid と aneuploid で術後生存率に有意の差が認められなかったが、分化型癌では diploid (20例) が aneuploid (23例) より有意に予後が良好 (5 生率85.0% 対52.2%) であった ($p < 0.05$)。
6. 再発形式に関しては、腹膜播種は、分化型癌で aneuploid、未分化型癌で diploid に有意に高率であった ($p < 0.01$)。

この発表に続いて次のような質疑、討論がなされた。

1. 未分化型癌の diploid というのは真に diploid であるか。例えば aneuploid でも、間質細胞の diploid の peak の中に埋没しているのではないか (特に間質が多いとき)
2. 癌の先進部が癌の性格を決めているとすれば、先進部の DNA 量を計測すべきでないか
3. 分化型癌の予後の違いは、早期癌と進行癌にわけても成立するか
4. 分化型癌と未分化型癌とに胃癌を二大別してよいのか
5. 生検材料について、病理診断に加えて、DNA 量を測定することに臨床的に意義があるのか

以上の質問に対する申請者の解答は概ね適切であり、研究内容も博士 (医学) の学位論文としての水準に達しているものと全員一致で判定した。

論文審査担当	主査	教授	喜納	勇				
	副査	教授	金子	榮藏	副査	教授	藤田	道也
	副査	助教授	中村	達	副査	助教授	中村	真一