

胃癌症例における AFP 産生胃癌と CA19-9 産生胃癌の腫瘍増殖能の 比較検討(分子生物学的検討)

なが み はる ひこ
長 見 晴 彦

キーワード：AFP 産生胃癌，CA19-9 産生胃癌，生物学的悪性度，Ag-NORs 数，
Ag-NORs 面積，腫瘍細胞核内 DNA 分布量

要 旨

AFP 産生胃癌と CA19-9 産生胃癌の生物学的悪性度を検討した。免疫染色陽性であった AFP 産生胃癌（6 症例）と無作為抽出の胃癌50症例（Stage II～III）で CA19-9 免疫染色陽性であった33例（66%）の生物学的悪性度を検討した。AFP 産生胃癌群，CA19-9 産生胃癌群の腫瘍細胞核中の Ag-NORs 数，Ag-NORs 面積を Ag-NORs 染色により，また腫瘍細胞核内の DNA 分布図を Feulgen 染色にて調べた。結果は Ag-NORs 数，面積とも AFP 産生胃癌が有意に高値であった。また DNA 分布図は AFP 産生胃癌は全て（100%）Aneuploidy pattern を示し，CA19-9 産生胃癌は33例中10例（31%）が Aneuploidy pattern であった。一方，CA19-9 陽性群33例の術後累積生存率の検討では CA19-9 強染色性群が予後不良であった。以上より AFP 産生胃癌は CA19-9 産生胃癌に比べ生物学的悪性度の高い疾患と考えられ，また CA19-9 産生胃癌は腫瘍細胞内 CA19-9 染色度の強い症例ほど予後不良であった。

はじめに

血中 alpha-fetoprotein (AFP) は通常は肝細胞癌，York-sack 腫瘍の腫瘍マーカーとして日常臨床で繁用されている。この AFP 産生能を有する AFP 産生胃癌症例の臨床報告も多い^{1,2)}。一

方1979年 Koprowski³⁾らによって作製された糖鎖抗原 Carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) は腫瘍特異性が高く，膵癌，胆道癌をはじめ肺癌，甲状腺癌，胃癌でも高値を示すことも多い。今回，著者は血中 AFP 値が高値を示し，免疫組織学的に腫瘍細胞中に AFP の局在を証明した AFP 産生胃癌 6 症例と，他方，通常の進行度 Stage II～III の胃癌症例で切除後の根治度 A，B の胃癌切除50例を対象に無作為に選択し

Haruhiko NAGAMI

長見クリニック

連絡先：〒699-1311 雲南市木次町里方633-1

CA19-9 抗体を用い免疫染色し、腫瘍細胞内が陽性であった33例の腫瘍増殖能について検討し若干の知見を得たので文献的考察を加えて報告する。手術所見は胃癌取り扱い規約⁴⁾に従って記載した。

AFP 産生胃癌 6 症例

胃癌症例の中、血中 AFP 高値症例で免疫組織化学的に腫瘍細胞内に AFP の局在を確認した症例は 6 例であり、症例の詳細を以下に示す。

症例 1 : 69歳, 女性

術前血中 AFP 値 : 10,500 ng/ml

術前胃精査にて胃噴門部から幽門部小弯にかけての Borr III型であり、胃全摘後、Roux-en-Y 法にて再建した。手術所見は UML, circ, 3 型, T3, N2, H0, P0, CYX, M0, Stage III B, D3, Cur B であった。切除標本では幽門前壁から小弯に最大径 5 cm × 3.5 cm 大の II a 様進行胃癌を認め、胃噴門部にも 2.8 cm × 1.5 cm 大の早期胃癌を認めた。組織型は乳頭状腺癌であった。一方、免疫組織検索のため peroxidase-anti peroxidase (PAP 法) を施行し AFP を腫瘍細胞内に確認した。本症例は術後 1 ヶ月に肝転移にて癌死した。

症例 2 : 73歳, 女性

術前血中 AFP 値 : 14,700 ng/ml

術前胃精査にて噴門部から胃体下部にかけて隆起性病変を認め、胃内腔は全周性に狭窄していた。手術は胃全摘術、Roux-en-Y 法にて再建した。手術所見では UML, circ, 5 型, T4, N3, H1, P0, CYX, M0, Stage IV, D0, Cur C であった。腫瘍重量は約 2,000 g であった (図 1)。組織型は髓様、胞巣状、一部乳頭状に増殖する髓様腺癌で、肝様腺癌が圧倒的であり、ラングハンス細胞や合胞体細胞を含む絨毛癌も認めた (図 2)。免

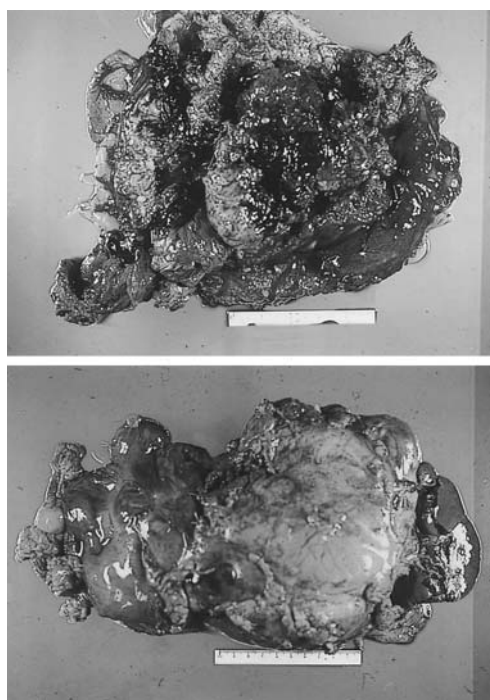


図 1 症例 2 における切除標本の肉眼像
胃内腔 (上段) はボロ雑巾様の非常に脆い腫瘍であり、腫瘍径は約 2 kg であった。
(上段 : 胃粘膜面より, 下段 : 胃漿膜面より)

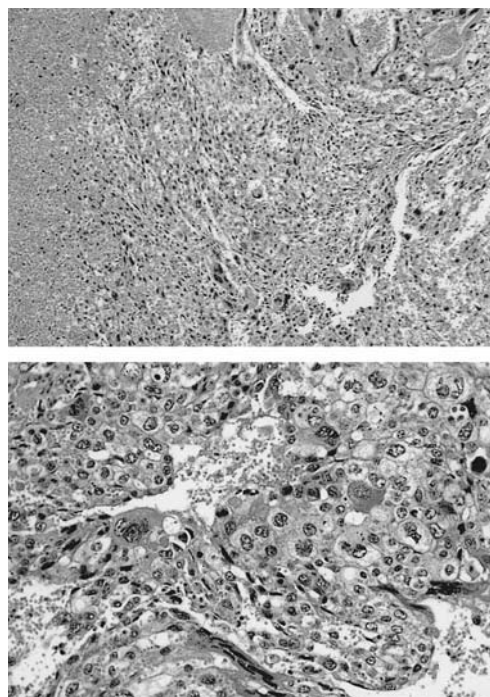


図 2 AFP 産生胃癌における症例 2 における切除標本の H.E 染色
肝様腺癌 (上段) と絨毛癌 (下段) の混在した腫瘍であった。

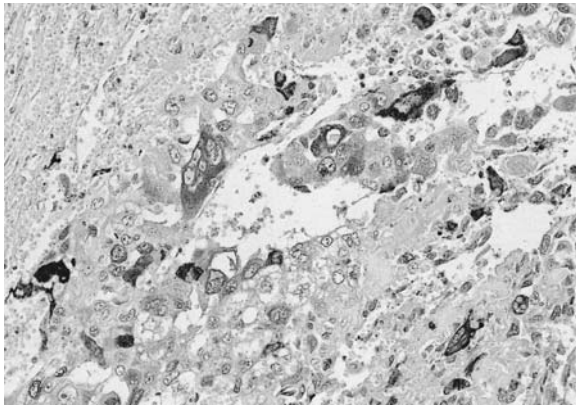


図3 AFP産生胃癌における症例2におけるPAP法による腫瘍細胞内のAFPの局在。腫瘍細胞中に褐色顆粒として染色されたAFPを認める。

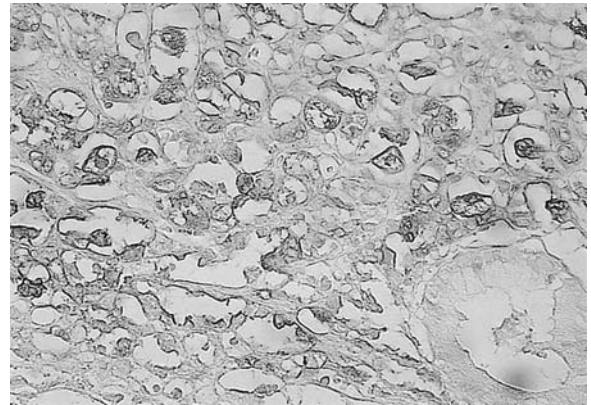


図4 CA19-9産生胃癌における症例3のPAP法による腫瘍細胞中のCA19-9の局在。腫瘍細胞中に褐色顆粒としてCA19-9を認める。

疫染色では髓様腺癌部に褐色顆粒としてAFPの局在を、絨毛癌部にhochiocarcinoembryonic antigen (HCG)の局在を確認した(図3)。本症例は術後50日目に肝転移にて癌死した。

症例3 : 67歳, 男性

術前血中 AFP 値 : 3,730 ng/ml

術前胃精査にて噴門部前壁に隆起性病変を認めた。手術は胃全摘術, 再建は jejunal interposition を施行した。手術所見は U, ant, 3 型, T3, N2, P1, H0, CY1, M0, Stage IV, D1, Cur C であった。組織型は乳頭状腺癌, 低分化型腺癌であった。免疫染色では未分化型腫瘍細胞内に褐色顆粒として AFP を認めた。本症例は術後17ヶ月目に多発性肝転移にて癌死した。

症例4 : 53歳, 男性

術前血中 AFP 値 : 3,240 ng/ml

術前胃精査にて胃体中部後壁に隆起性病変を認めた。手術は胃全摘術, 再建は Roux-en-Y 法にて施行した。手術所見は M, ant, 3 型, T4, N2, H0, P0, CY0, M0, Stage IIIB, D2, Cur B であった。組織型は腫瘍は高分化型腺癌であり, PAP 法にて腫瘍細胞内に褐色顆粒として AFP を認め

た。本症例は術後7ヶ月目に多発性肝転移にて死亡した。

症例5 : 63歳, 女性

術前血中 AFP 値 : 870 ng/ml

術前胃精査にて胃体後壁に Borr II 型様の潰瘍性病変を認めた。手術は幽門側胃切除術, リンパ節郭清術を施行した。手術所見は M, post, T2, N1, H0, P0, CY0, M0, Stage II, D2, Cur A であった。組織型は高分化型腺癌であり, PAP 法にて腫瘍細胞内に AFP の局在を認めた。本症例は術後化学療法により術後14年目の現在も再発の徴候もなく生存中である。

症例6 : 80歳, 女性

術前血中 AFP 値 : 22,790 ng/ml

術前胃精査にて胃噴門部後壁に隆起性病変を認めた。本症例は腫瘍が食道胃接合部へ浸潤していた。手術所見 : UM, Less-post, 4 型, T4, N3, H1, P1, CY1, M0, Stage IVにて特に肝十二指腸間膜に No12 リンパ節が一塊となっており, 十二指腸も巻き込まれており切除不能で, 胃瘻のみ作成し終了した。胃生検組織にて低分化型腺癌を認め, また腫瘍細胞内に AFP の局在を認めた。

一方胃癌切除症例の中から無作為に選出した50例中免疫組織化学的に CA19-9 を腫瘍細胞内に認めた症例は33例であり、そのうち血中 CA19-9 値高値例は4例のみであった。以下にその症例の詳細を示す。

CA19-9 産生胃癌 4 症例

症例 1 : 56歳, 男性

術前血中 CA19-9 値 : 33,700 U/ml

胃精査の結果, 胃体部から幽門部にかけての潰瘍浸潤型の腫瘍であった。幽門側切除術を施行した。手術所見は ML, post, 3 型, T3, N2, H0, P0, CY0, M0, Stage III B, D2, Cur B であった。組織型は乳頭状腺癌であり, PAP 法にて腫瘍細胞内に褐色顆粒として CA19-9 を認めた。本症例は術後化学療法を施行し, 術後 4 年生存した。

症例 2 : 74歳, 男性

術前血中 CA19-9 値 : 390 U/ml

術前胃精査では胃体上部から幽門にかけての浸潤型であり幽門狭窄を呈していた。幽門側胃切除術を施行した。手術所見は ML, circ, 5 型, T4,

N3, H0, P1, CY1, M0, Stage IV, D0, cur C であった。組織型は中分化型腺癌であり, PAP 法にて腫瘍細胞内に CA19-9 を認めた。本症例は術後 4 ヶ月目に癌死した。

症例 3 : 69歳, 女性

術前血中 CA19-9 値 : 12,900 U/ml

術前胃精査では幽門側後壁に隆起型病変を認め, 幽門側胃切除術, リンパ節郭清を施行した。手術所見は A, post, 1 型, T2, N1, H0, P0, CY0, M0, Stage II, D2, Cur A であった。組織型は高分化型腺癌であり, PAP 法にて腫瘍細胞内に CA19-9 を認めた (図 4)。本症例は術後化学療法により術後13年目の現在も生存中である。

症例 4 : 55歳, 男性

術前血中 CA19-9 値 : 12,700 U/ml

術前胃精査では胃体部後壁の限局性潰瘍性病変であり, 幽門側胃切除術, リンパ節郭清を施行した。手術所見では MA, post, 3 型, T3, N1, H0, P0, CY0, Stage III A, D2, Cur A であった。組織型は中分化型腺癌であり, PAP 法にて腫瘍細胞内に CA19-9 を認めた。本症例は術後15年目の

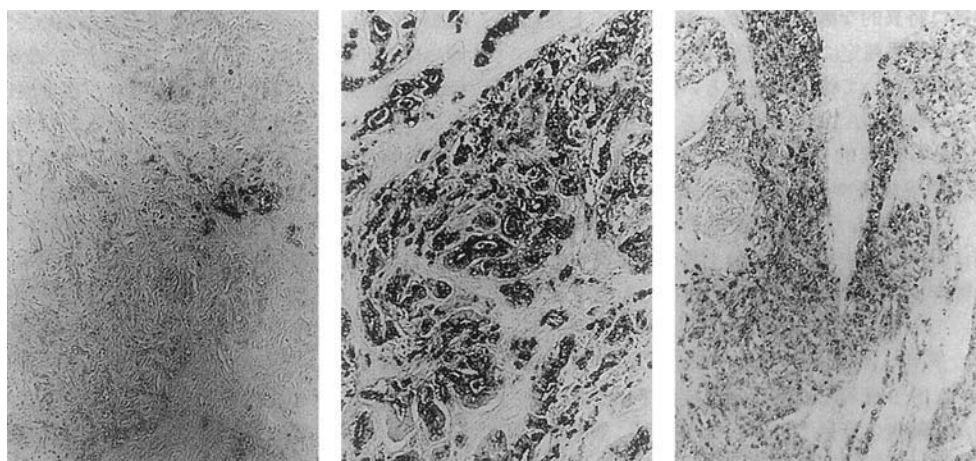


図 5

今回の自験例33例での腫瘍組織中の CA19-9 染色性は上図に示すように左から apical type, cytoplasmic type, stromal type の 3 型に分類した。それぞれの染色形態を示す。Hamada¹²⁾ にも同様の区別分類している。

現在も健在である。

考 察

AFP 産生胃癌は1970年 Bourreille ら⁵⁾が報告して以来、報告例も多い。著者も AFP 産生胃癌の4例の臨床例を報告して以来^{6,7)}、今回さらに2例の AFP 産生胃癌症例を経験した。AFP 産生胃癌の発生頻度は全胃癌の2～9%とされ、手術時に肝転移、腹膜播種症例が多く、予後は極めて不良である。石倉ら⁸⁾は AFP 産生胃癌のうち組織学的に肝細胞に類似し、腫瘍細胞の産生する AFP の Concanavalin A 結合性や他の肝細胞マーカーの検索から肝様腺癌という疾患概念を提唱し、この腫瘍細胞が単に組織学的類似性のみならず機能的にも肝細胞へ分化していると報告している。一般に胃癌は殆どが de novo 発癌の腺癌であり、その組織型から腺管構築の明瞭な乳頭型、管状型腺癌は分化型腺癌とされ、一方ではその構築が不明瞭な低分化型腺癌と印環細胞癌は未分化癌とされ、二分業されてきた。従来より分化型胃癌は萎縮性胃炎による腸上皮化生粘膜より発生し、未分化胃癌は胃固有粘膜形質を有する分化型微小癌から発生する事が多い点が明らかであり、分化型胃癌と未分化型胃癌の相違点は組織型に加え細胞形質による発癌経路の差異が示唆されている。この中で AFP 産生胃癌の発癌過程については現在2つの仮説がある。第1は未分化髓様癌や乳頭管状癌の混合性増殖から成る AFP 産生胃癌と卵黄囊、胎児性癌との間に共通する胚細胞分化説であり、第2は肝細胞への逆分化説が提唱されている⁹⁾。しかし発生機序については不明な点も多い。

AFP 産生胃癌は進行癌が多く、肝転移をきたし易い。その理由は1)細胞増殖能が非常に速い

事、2)髓様構造を示し、間質が毛細血管に富む点が挙げられている。AFP 産生胃癌の肝転移率は全体の73.7～60.9%、仮に早期胃癌であっても58.3%と報告され、また平均生存期間は肝転移(-)症例で21.6ヶ月、肝転移(+)症例で7.3ヶ月と肝転移例では極度に生存期間は短い。

一方、今回無作為選出した臨床的 Stage II～IIIの胃癌50症例につき CA19-9 の腫瘍細胞組織内染色性を検討した。CA19-9 は一般的に胃癌に特異性はないがその腫瘍マーカーとして重要である¹⁰⁾。しかし胃癌組織中における CA19-9 発現形式、意義についての報告は欧米では Koprowski、本邦では多淵¹⁰⁾、高橋ら¹¹⁾の検討が報告されているのみである。そこで今回、著者は胃癌組織中の CA19-9 発現率及び、発現形式を検討するため著者が切除した肉眼的 Stage II～III胃癌症例で根治度 A、B であった症例の集団から無作為に抽出した50例の胃癌組織を用いその発現形式を検討した。結果は CA19-9 染色陽性例が50例中33例(66.0%)に認められた。

免疫染色形態の判定法は Hamada ら¹²⁾の分類に従い、図5に呈示したように1)apical type, 2)cytoplasmic type, 3)stromal type の3分類し、その染色様式にて CA19-9 陽性染色例33例の累積生存率を Kaplan-Meier 法で検討したところ強染色群(染色形態 cytoplasmic type, stromal type)の生存率は apical type, 無染色群に比べ有意差はないものの低率であった(図6)。

総括すれば AFP 産生胃癌は予後不良で早期に肝転移をきたす特徴を有する。他方 CA19-9 産生胃癌は比較的予後良好である症例も存在するが進行癌では依然として予後不良である。また AFP 産生胃癌は臨床的には稀な疾患であるが、CA19-9 産生胃癌は今回の染色結果に示されたように胃

CA19-9染色強度別の累積生存率(Kaplan-Meier法)

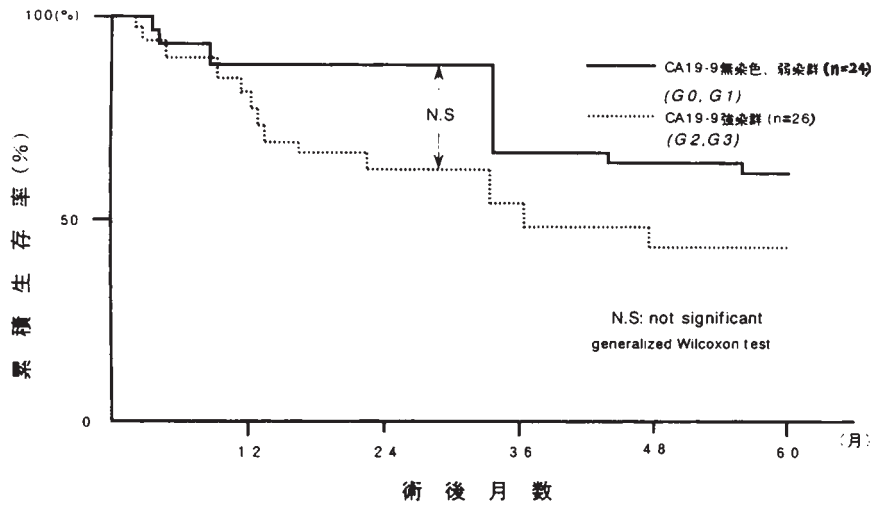


図6

CA19-9染色陽性例の中では cytoplasmic type, stromal type (強染色群) の予後は apical type, 無染色群に比べ不良であった。(Kaplan-Meier による)

	AFP 産生胃癌 (n=6)	CA19-9 産生胃癌 (n=33)
Ag NOR count	7.28 ± 1.19	5.68 ± 1.02
Ag NOR area (μ m ²)	8.68 ± 1.11	6.64 ± 1.12

※p<0.001 by Student's t-test

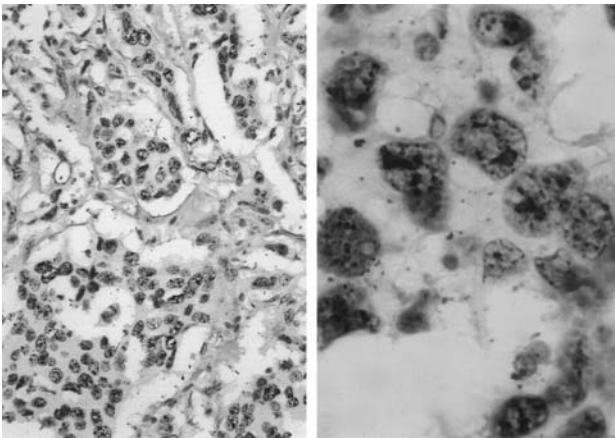


図7

AFP産生胃癌 (n=6) の Ag-NORs 数は 7.28 ± 1.19 であり、Ag-NORs 面積 (μm^2) は 8.68 ± 1.11 であった。CA19-9産生胃癌 (n=33) はそれぞれ 5.68 ± 1.02 , 6.64 ± 1.12 であり、AFP産生胃癌の Ag-NORs 数、面積は CA19-9産生胃癌に比べ有意に高値であった。(p<0.001) 図は AFP産生胃癌における腫瘍細胞核内 Ag-NORs を示す。腫瘍細胞核内に認める黒点が Ag-NORs である。(左図は $\times 200$, 右図は $\times 1,000$)

癌組織内には高頻度とその発現を認め、その染色形態が予後規定因子であると推測された。また免疫組織化学的に癌組織内 CA19-9 陽性33症例のうち血中 CA19-9 値の高値例は僅か4例であり CA19-9 の胃癌組織内発現性と血中 CA19-9 値は相関しない点を示唆された。今回の血中 CA19-9 値高値4症例中長期生存した症例3, 及び4の染色形式はすべて apical type であった。

AFP産生胃癌と CA19-9産生胃癌の細胞増殖能にはどのような差異が存在するのか検討する必要がある。著者の開発した細胞増殖能判定法である腫瘍細胞核内 Argyrophilic nucleolar organizer regions (Ag-NORs) 数, Ag-NOR面積^{13,14,15)}にて AFP産生胃癌, CA19-9産生胃癌の腫瘍細胞増殖能を検討した。比較検討する症例数が少ないが図7に示した様に CA19-9産生胃癌 (n=33) に比べ、AFP産生胃癌 (n=6) においては Ag-NORs 数及び、Ag-NORs 面積は有意に高値を示した。この事は Ag-NORs による腫瘍細胞増殖能判定では圧倒的に AFP産生胃癌の生物学的悪性

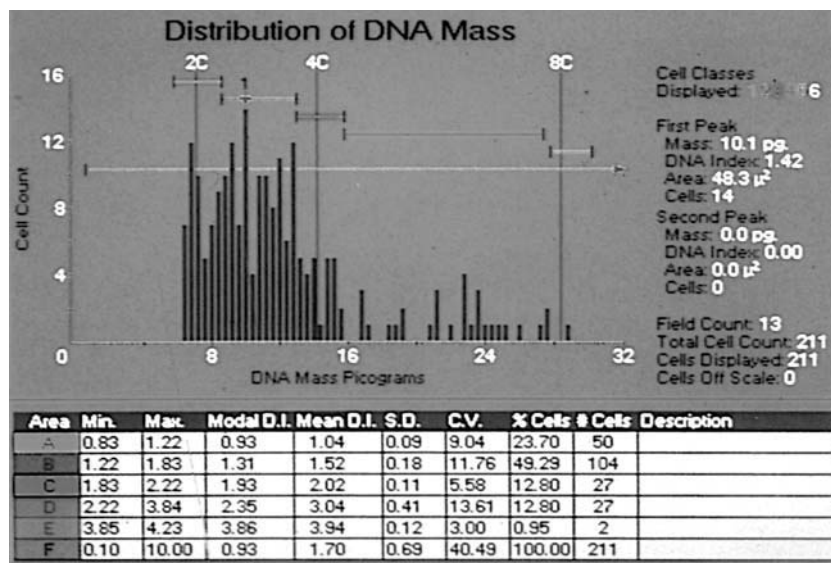


図8 AFP産生胃癌におけるDNA histogram

腫瘍細胞核内のDNA量は正常(2c)よりもむしろ4cから8cに多く分布していた。

度が高い点が窺えた。また胃癌切除標本からの腫瘍中心部の組織をホルマリン固定後に脱パラフィンしFeulgen染色を施し、Cell Analyzer System (CAS) : コンピュータ画像解析装置による腫瘍核細胞内のDNA ploidy pattern (DNA分布図)を調べたところAFP産生胃癌の腫瘍核中DNA量は正常(2倍体)よりも4倍体, 8倍体まで大きく分布しAneuploidy patternを示した

(図8)。他方CA19-9産生胃癌では33例中10例にAneuploidy patternを認め、腫瘍細胞核中のDNA ploidy patternはAFP産生胃癌においてAneuploidy patternの頻度が高くこの点からもAFP産生胃癌の高悪性度が示唆された。従ってこの様な胃癌症例に対しては徹底的なAdjuvant Therapyが必要と考えられる。

文 献

- 1) 浅岡忠史, 近藤 礎, 永野浩昭, ほか: 肝細胞癌との鑑別が困難であったalpha-fetoprotein産生胆嚢癌の1切除例. 日消外会誌38: 655-660, 2005
- 2) 原 利晃, 斉藤 孝, 鈴木克彦: AFPおよびCEA産生胆嚢癌の1切除例. 日消外会誌33: 730-743, 2000
- 3) Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K, et al: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Somat Cell Genet, 5: 957-971, 1979
- 4) 胃癌研究会編: 胃癌取り扱い規約. 改訂第13版, 1999年, 金原出版社, 東京
- 5) Bourreille J, Metayer P, Sauger F, et al: Existenced'

- alpha fetoprotein au cours d'Uncancersecondaire du foied' origine. Press Med 78: 1277-1278, 1970
- 6) 長見晴彦, 田村勝洋, 野原隆彦, ほか: Alpha-fetoprotein (AFP)産生胃癌の4症例—免疫組織化学的方法による組織学的検索を中心として—. 日臨外医会誌52: 789-793, 1991
- 7) 長見晴彦, 福田貴好, 田村勝洋, ほか: Alpha-fetoprotein, human choriogonadotropine産生巨大胃癌の1例. 日消外医会誌 24: 98-102, 1991
- 8) 石倉 浩, 水野一也, 社本幹博, ほか: 胃の肝様腺癌. 疾患単位の提唱とその臨床病理学的特性. 胃と腸

- 22 : 1277-1278, 1970
- 9) 高橋 豊, 摩伊正義, 秋本龍一, ほか: 胃癌の肝転移 high risk 症例の臨床病理学的検討—とくに AFP 産生胃癌との関連について—. 日消外会誌 7 : 1732-1736, 1984
- 10) 多淵芳樹, 出口浩之, 斉藤洋一: 胃癌における腫瘍関連抗原 CEA と CA19-9 の末梢移行機序に関する臨床病理学的, 免疫組織化学的研究. 日外会誌 89 : 1181-1191, 1988
- 11) 高橋 豊, 南 修二, 摩伊正義: 胃癌の原発と転移リンパ節巢の生物学的差異について. CEA, CA19-9 の免疫組織化学的検討より. 癌と化学療法 13 : 2233-2234, 1986
- 12) Hamada Y, Yamamura M, Hioki K, et al: Immunohistochemical study a carcinoembryonic antigen in patients with colorectal cancer. Correlation withy plasma carcinoembryonic antigen levels. Cancer 55: 136-141, 1985
- 13) 長見晴彦, 金聲根, 矢野誠司, ほか: Ag-NORs 染色よりみた浸潤型膵癌および粘液産生膵癌の生物学的悪性度について. 外科治療 70 : 228-229, 1994
- 14) 長見晴彦, 田村勝洋, 金聲根, ほか: 浸潤型膵癌における argyrophilic nucleolar organizer (Ag-NORs) の意義. 膵臓 10 : 19-23, 1995
- 15) Nagami H, Tamura K, Kin S, Yano S, et al: Nucleolar organizer regions in invasive ductal carcinoma of the pancreas: Quantative and qualitative evaluation in predicting biological potential and prognosis. J Exp & Clin Cancer Res 15: 71-76, 1996