

AFP 産生胃癌の腫瘍細胞悪性度の評価

なが み はる ひこ
長 見 晴 彦

キーワード：AFP 産生胃癌，腫瘍生物学的悪性度

要 旨

AFP 産生胃癌は外科領域で経験することも珍しくはないが，仮に治癒切除し得ても予後不良である。今回，著者がこれまでに経験した AFP 産生胃癌と AFP 非産生胃癌につき臨床病理学所見，腫瘍生物学的悪性度につき検討した。術前血中 AFP 値 20 ng/ml をカットオフ値として，AFP 値 20 ng/ml 以上かつ切除標本にて癌部を抗 AFP 抗体を用い免疫染色を行ない染色陽性例を AFP 陽性群 (n=12)，他方 AFP 20 ng/ml 未満，かつ免疫染色陰性症例を AFP 非産生群 (n=72) とし両群において病理学的所見，また腫瘍悪性度を Ag-NOR 染色，Feulgen 染色による DNA 解析にて判定した。結果は AFP 産生胃癌にて v 因子，術後肝転移，術後早期死亡が有意に高値であった。腫瘍の生物学的悪性度は AFP 産生胃癌において Ag-NOR score, Ag-NOR area, 4cER % も有意に高値であり腫瘍増殖能の高さが窺えた。

はじめに

血中 alpha-fetoprotein (AFP) は通常は肝細胞癌，Yolk-sac 腫瘍などの腫瘍マーカーとして日常臨床で繁用されている。一方血中 AFP 値が高値を示し，免疫組織学的に腫瘍細胞中に AFP の局在を証明しえた AFP 産生胃癌症例も多く報告され胃癌の中でも悪性度の高い臨床症状を示す。一般に胃癌の発生機序として *Helicobacter Pylori* (H.P) 感染症や食事性因子との関係が指

摘され¹⁾，他方，糖尿病をはじめ生活習慣病と胃癌との関連についても論文が散見される^{2,3)}。

AFP 産生胃癌は臨床的には肝転移を合併し予後不良である。そこで今回著者がこれまで経験した原発性胃癌の中で検索し得た AFP 産生胃癌と AFP 非産生胃癌の病理所見との関連，両群の切除標本の癌部腫瘍細胞悪性度について分子レベルで比較検討した。

対象と方法

著者が島根医科大学第一外科在籍中に経験した原発性胃癌が対象例に含まれる。術前血中 AFP 値 20 ng/ml を cut off 値とし術前血中 AFP 値

Haruhiko NAGAMI

長見クリニック

連絡先：〒699-1311 雲南市木次町里方633-1

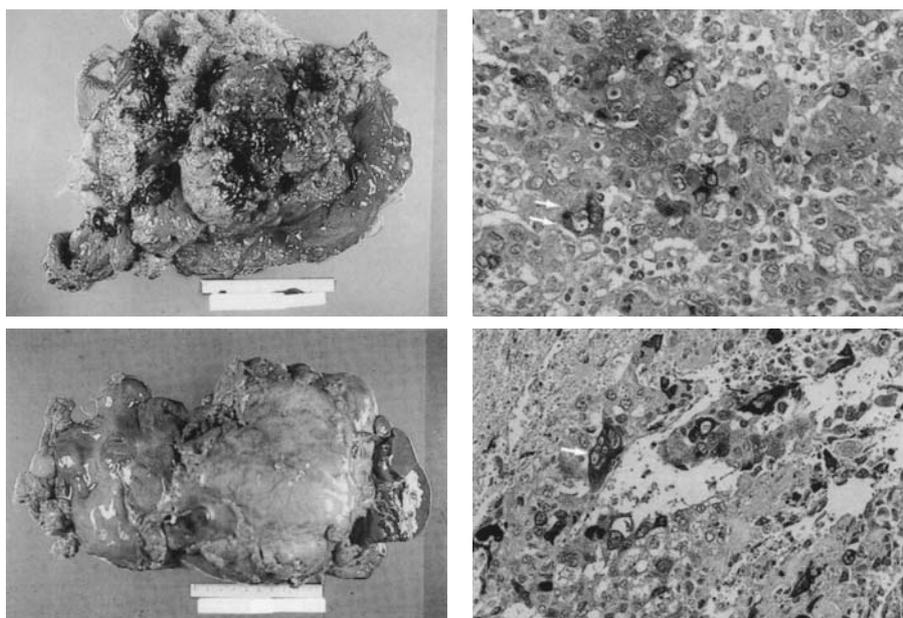


図1

AFP 産生胃癌の1 症例である。胃全摘後の切除標本の粘膜像 (左上段) と漿膜像 (左下段) を示す。腫瘍重量は約 3 kg であった。また組織型は肝様腺癌とランゲルハンス細胞, 合体細胞を含む絨毛癌であった。抗 AFP 抗体による染色像 (右上段) と抗 HCG 抗体を用いた染色像 (右下段) を示す。

が 20 ng/ml 以上であり, かつ切除標本の癌部腫瘍細胞を抗 AFP 抗体を用い免疫染色を行ない染色陽性であった12 症例と術前 AFP 値が 20 ng/ml 未満でかつ AFP 免疫染色陰性であった72 症例を対象とした。対象84 例の平均年齢は62.2 (26~74) 歳, 男性35 例, 女性49 例であった (図 1, 2)。AFP 陽性胃癌の術前血中 AFP 値は48 ~14,700 ng/ml までの範囲内に分布していた。

AFP 産生胃癌, AFP 非産生胃癌ともに切除標本から臨床病理学的所見を検討した。

何れの症例も腫瘍の生物学的悪性度については既報^{4,5)}の如く腫瘍細胞の生物学的悪性度評価法の一つである銀染色と DNA 染色を行なった。すなわち切除標本の癌部を 4 μ m に薄切後, 脱パラフィンした切片を用いて銀染色を行ない腫瘍細胞核中の Argyrophilic nucleolar organizer regions (Ag-NORs) を染色後に CAS 200 Image Analysis System (Cell Analysis System, Inc.,

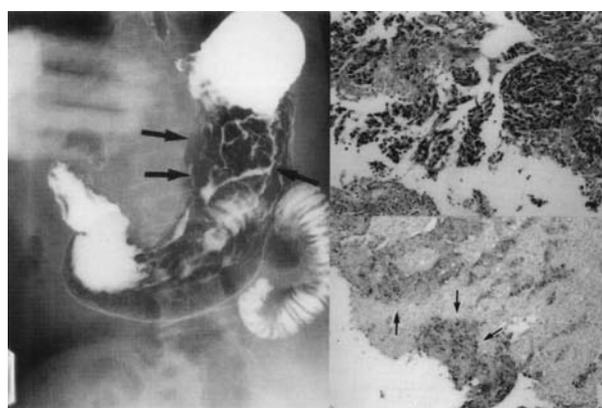


図2

低分化型腺癌症例の術前胃透視像 (左図) と生検組織像 (右上図), 抗 AFP 抗体による染色像 (右下図) を示す。

Lombard, IL) を用いて Ag-NOR score, Ag-NOR area (μ m²) を測定した。また腫瘍細胞内の DNA 分布は DNA 染色キット (Cell Analysis System, Inc., Elmhurst, IL) による Feulgen 染色により行なった。Ag-NOR score, Ag-NOR area, DNA 解析とも CAS 画像上少なくとも同一

腫瘍内において最低5箇所の領域(癌中心部, 先進部)を選択し, 1領域200個以上の腫瘍細胞を検討し腫瘍細胞1個当たりの平均値を求めた。また Feulgen 染色においては腫瘍細胞の DNA 分布図を求め DNA ploidy pattern と 4 倍体 (4c) 以上の比率を求めた (図 3)。正常胃粘膜細胞の基準値を求めるため切除胃の正常粘膜部も同様に染色し胃粘膜の基礎値とした。結果は M±SD で記載し統計は Student' t test あるいは χ^2 検定にて行なった。

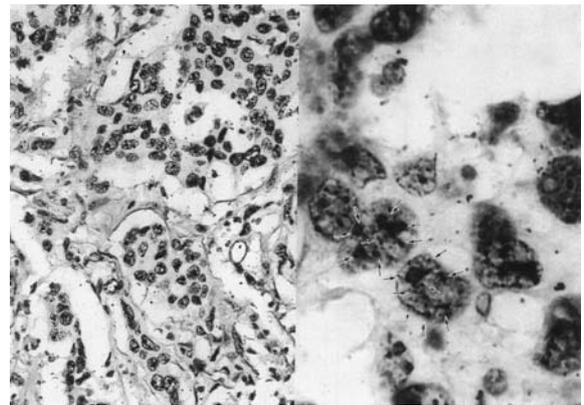


図 3

AFP 産生胃癌における Ag-NOR 染色像を示す。低分化型胃癌の染色像を示す。(弱拡大×100:左図) 細胞核内に black dots として Ag-NOR が観察される。また(強拡大×400:右図)にて腫瘍細胞内に大小不同, 壁不整の Ag-NOR を多数認める。

結 果

1) AFP 産生胃癌と AFP 非産生胃癌の病理学的所見の相違, 肝転移率, 術後早期(2年以内)死亡率の比較
両群においてその組織型には有意差は認めな

かったが, AFP 産生胃癌群にて低分化型症例が多い傾向にあった。組織学的に静脈侵襲(v因子)は AFP 産生胃癌群において有意に (p<0.01) 高

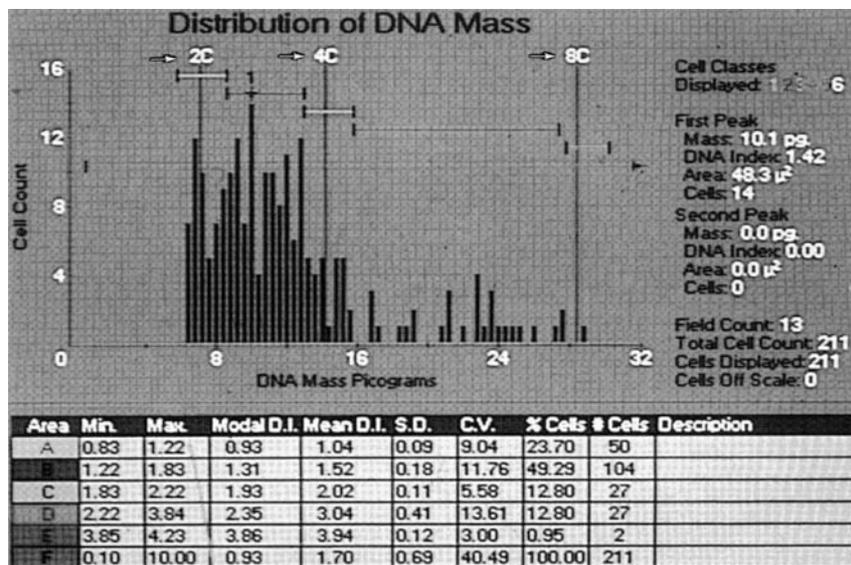


図 4

Feulgen 染色による DNA 分布図を示す。Diploid pattern では 2c を中心に細胞が収束するが, 腫瘍細胞では旺盛な細胞分裂のため Aneuploid pattern を呈し特に, 2c~8c までの分布が高度に認められ polyploidy pattern である。4 倍体以上の腫瘍細胞も多く認められる。検索下細胞における 4c 以上の細胞比率 (4cER) を求めた。(→)は 2c, 4c, 8c を示す。2c は正常細胞核の DNA 量であるが, 腫瘍細胞核内には 2c~4c と核分裂した DNA 量が存在し, さらに 4c 以上の無秩序な異常分裂による核内 DNA 量の増加を示す。その 4c 以上の割合が 4cER% で表わされる。

表 1

AFP 産生胃癌と AFP 非産生胃癌との病理組織所見, 肝転移率, 術後 2 年以内生存率を比較した。v 因子, 術後肝転移率, 術後 2 年生存率において有意差が認められた。

operation		AFP positive group (n=12)		AFP negative group (n=72)	
well differentiated adenocarcinoma		4 cases (33.3 %)		30 cases (41.7 %)	
low differentiated adenocarcinoma		8 cases (66.7 %)	N.S	42 cases (58.3 %)	
venous invasion	v0	0	-	v0	55 cases (76.4 %)
	v1	0	-	v1	11 cases (15.3 %)
	v2	4 cases (33.3 %)	100% ※	v2	4 cases (5.6 %)
	v3	8 cases (66.7 %)		v3	2 cases (2.8 %)
lymphatic invasion	ly0	2 cases (16.7 %)		28 cases (38.9 %)	
	ly1	7 cases (58.3 %)		31 cases (43.1 %)	
	ly2	2 cases (16.7 %)		11 cases (15.3 %)	
	ly3	1 cases (8.3 %)		2 cases (2.8 %)	8.4%
liver metastasis (synchronously or unsynchronously)		10 cases (83.3 %)	※	3 cases (4.2 %)	
macroscopic staging					
Stage I		0	-	28 cases (38.9 %)	
Stage II		0	-	38 cases (52.8 %)	
Stage III		2 cases (16.7 %)	100% ※	6 cases (8.3 %)	8.3%
Stage IV		10 cases (83.3 %)		0	
Death cases within two years after operation		11/12 cases (91.7 %)	※	3/72 cases (4.2 %)	

※χ² square test

値であった。AFP 産生胃癌は手術時に既に Stage III 以上の進行胃癌が有意に (p<0.01) 多く, 術後肝転移, 術後 2 年以内死亡率も有意に (p<0.01) 高値であった (表 1)。

2) AFP 産生胃癌, AFP 非産生胃癌における Ag-NOR 染色結果

全症例において正常胃粘膜細胞, 腫瘍細胞のいずれも Ag-NOR は鏡検上黒褐色の dots として観察され (図 3), CAS Image analysis にて Ag-NOR score, Ag-NOR area を計測することができた。表 2 に示すように Ag-NOR score, Ag-NOR area とも AFP 産生胃癌症例 (n=12), AFP 非産生胃癌 (n=72) とも正常胃粘膜細胞 (n=84) に比べ有意に (p<0.001) 高値であり, さらに AFP 産生胃癌は AFP 非産生胃癌に比べ有意に (p<0.01) 高値であった (表 2)。

表 2

正常胃粘膜細胞, AFP 産生胃癌 AFP 非産生胃癌の Ag-NOR score, Ag-NOR area を比較した。Ag-NOR score, Ag-NOR area ともに AFP 産生胃癌, AFP 非産生胃癌は正常胃粘膜に比べ, また AFP 産生胃癌は AFP 非産生胃癌に比べ有意に高値であった。

	Normal gastric epithelium (n=84)	AFP producing gastric cancer (n=12)	AFP non-producing gastric cancer (n=72)
Ag NOR score	1.85±0.21	3.28±1.19	2.45±0.98
Ag NOR area (μ m ²)	1.54±0.32	4.68±1.11	2.68±1.12

※p<0.001 by Student's t test

3) AFP 産生胃癌, AFP 非産生胃癌における DNA ploidy pattern (4cER%)

正常胃粘膜細胞は全て Diploid pattern であった。AFP 産生胃癌は12例中 9 例 (75%), AFP 非産生胃癌は72例中 8 例 (11.1%) が aneuploidy

pattern であり他は全て Diploid pattern であった。Aneuploidy pattern は AFP 産生胃癌において有意に ($P < 0.01$) 多く認められた。また DNA 分布図における 4c ER はそれぞれ $23.07 \pm 7.97\%$, $1.80 \pm 0.86\%$ であり AFP 産生胃癌において有意に ($P < 0.001$) 高値であった (表 3)。

考 察

AFP 産生胃癌は1970年 Bourreille ら⁶⁾が報告して以来その報告例も少なくない。著者も AFP 産生胃癌 4 例の臨床例を報告して以来^{7,8)}, 合計12例の追加症例を経験した。AFP 産生胃癌を定義する明確な基準は特でない。過去の報告では術前血中 AFP 値が高値で、胃癌の生育に相関し、免疫組織化学的に癌細胞に AFP 産生を確認し得たものを AFP 産生胃癌と定義している。その頻度は全胃癌の 2 ~ 9 % とされ⁹⁾, Chang ら¹⁰⁾は AFP 陰性胃癌に比べて早期胃癌が少ない点、肉眼的に Bormann 2, 3 型の潰瘍形成型、進行例が多いとし脈管侵襲も高度で特に経過中に肝転移が多いと報告している。その肝転移率は AFP 産生胃癌では 60.9 ~ 73.7% に認められ、早期癌でも 58.3% に認められる¹¹⁾。AFP 産生胃癌は細胞増殖能が高く、抗腫瘍剤に対する感受性が高いが、術後化学療法のスケジュールは現段階では確立的なものはない。また予後は通常の胃癌より悪く、5 年生存率は 11.6%, 治癒切除例でも 33.3%, 平均生存期間は 13.5 ヶ月とされている¹¹⁾。AFP 産生胃癌における AFP 産生機序については現在石倉ら¹²⁾の提唱した肝細胞化生という説以外に、組織学的に肝様腺癌を呈さない症例もあり胎生期腸管への過形成や卵黄囊腫瘍への過形成説もある¹³⁾。

ところで AFP 産生胃癌の生物学的悪性度は癌細胞増殖活性の測定により、その旺盛な増殖能と

表 3

DNA 分布図により AFP 産生胃癌, AFP 非産生胃癌における 4cER を求めた。AFP 産生胃癌が有意に高値であった。

	AFP producing gastric cancer (n=12)	AFP non-producing gastric cancer (n=72)
4cER(%)	23.07 ± 7.97	1.80 ± 0.86

※ $p < 0.001$ by Student's *t* test

生物学的悪性度の高さが推定されてきたが、残念ながら系統的な検討は文献上ない。そこで今回その手掛かりを求めるために、AFP 産生胃癌の生物学的悪性度を著者が以前から腫瘍悪性度の指標として臨床応用してきた腫瘍細胞核内 Argyrophilic nucleolar organizer regions (Ag-NORs) 数、面積、及び腫瘍細胞核内の DNA 量測定により検討した。結果、AFP 産生胃癌は AFP 非産生胃癌に比べて Ag-NOR score, Ag-NOR area とともに有意に高値であった。また核内 DNA 量分布パターンは Aneuploidy pattern が圧倒的に多く、さらに腫瘍悪性度を直接的に反映する 4cER については AFP 産生胃癌が AFP 非産生胃癌に比べ凌駕すべき結果であった。これらは AFP 産生胃癌の驚異的な腫瘍増殖能の高さを示唆するに足るものである。

AFP 産生胃癌の高悪性度の分子機構は十分に解明されていない。最近、胃癌における AFP 産生は遺伝子転写因子である ATBF1 により抑制される事が判明した¹³⁾。ATBF1 は癌細胞増殖に関与する c-Myb 癌遺伝子を抑制する事も知られ、これらの因子を介した腫瘍の悪性度への関与が指摘されている。野口ら¹⁴⁾は脳転移合併 AFP 産生胃癌症例において胃、リンパ節、脳のいずれの部位でも AFP 産生部では ATBF1 発現が欠落し、ATBF1 の欠落が腫瘍悪性度を上昇させる可能性

を示唆している。また zink finger などの多数の DNA 結合ドメインが存在し、核移行シグナルの存在も明らかになり¹⁵⁾、核での機能が想定されている。さらに Kataoka ら¹⁶⁾は ATBF1 が AFP 遺伝子抑制後に核から細胞質へ移行する可能性、細胞質での局在や作用機序につき言及している。

最後に治療についての報告として小林ら¹⁷⁾は AFP 産生胃癌肝転移巣に対しては肝動注, transarterial embolization (TAE) が有効とし、

肝転移巣に対し TAE 後に肝切除を行ない100% 壊死させた症例を報告した。また肝転移 AFP 産生胃癌に対する全身化学療法は TS-1/CDDP 療法, FEP (5FU, epirubicin, cisplatin) 療法, CPT-11 (irinotecan)/CDDP 療法, 肝動注療法は CDDP/5-FU 療法 low-dose FAP (5-FU, adriamycin, cisplatin) 療法が有効とされるがそれぞれ症例に応じ臨機応変な選択が必要である。

文 献

- 1) 上村直美 : H.pylori 感染と胃炎, 胃潰瘍, 胃癌. 日医師会雑誌 135 : 285-290, 2006
- 2) 八木邦公, 他. : 早期未分化胃癌を伴った若年発症糖尿病の2女性症例. 内分泌, 糖尿病科 23 : 231-236, 2006
- 3) 池田文恵, 他. 生活習慣と胃癌 : (2)血糖と胃癌. 臨床消化器内科21 : 1163-1168, 2006
- 4) 長見晴彦, 他. : 浸潤型膵癌における argyrophilic nucleolar organizer (Ag-NORs) の意義. 膵臓 10 : 19-23, 1995
- 5) Nagami H, et al: Nucleolar organizer regions in invasive ductal carcinoma of the pancreas: Quantitative and qualitative evaluation in predicting biological potential and prognosis. J Exp & Clin Cancer Res 15: 71-76, 1996
- 6) Bourreille J, et al: Existence d' alpha-fetoprotein au cours d' un cancer secondaire du foie d' origine. Press Med 78: 1277-1278, 1970
- 7) 長見晴彦, 他. : 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—. 日臨外医学会誌 52 : 789-793, 1911
- 8) 長見晴彦, 他 : Alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropine 産生巨大胃癌の1例. 日消外医学会誌 24 : 98-102, 1991
- 9) 村上義昭 : α -fetoprotein (AFP) 産生胃癌の1例. 一本邦報告114例の検討. 広島医 38 : 1204-1208, 1985
- 10) Chang Yu, et al: Comparison between the clinicopathological features of AFP positive and negative gastric cancers. Am J Gastroenterol 87: 321-325, 1992
- 11) 国枝克之, 他. : 血清 α fetoprotein 産生胃癌の臨床病理学的特徴と増殖活性, 基底膜形成に関する検討. 日消外会誌 30 : 2231-2238, 1997
- 12) Ishikura H, et al. Hepatoid adenocarcinoma of the stomach. An analysis of seven cases. Cancer 58: 119-126, 1986
- 13) Iso Y, et al: Solitary AFP-and PIVKA-II-producing gastric cancer with giant lymph node metastasis. Hepato-Gastroenterology 52: 1930-1932, 2005
- 14) 野口純也, 他. : 脳転移をきたした AFP 産生胃癌の長期生存例の1例. 日消外会誌 36 : 1659-1664, 2003
- 15) Kasper P, et al: Myb interacting protein. ATBF1, repress transcriptional activity of Myb oncoprotein. J Biol Chem 274: 14223-14428, 1999
- 16) Kataoka H, et al: Alpha fetoprotein producing gastric cancer lacks transcription factor ATBF1. Oncogene 20: 869-873, 2001
- 17) 小林泰三, 他. : TAE が著効した AFP 産生胃癌肝転移再発の1例. 癌と化療 23 : 1705-17-8, 1996