

# **Annals of Cancer Research and Therapy**

掲載原著／要旨録

**Ann Cancer Res Ther (Pub quart)**  
**Official Journal of the Japanese Society of  
Strategies for Cancer Research and Therapy**

## *A case of multiple myeloma terminating in acute promyelocytic leukemia* Vol. 6, No. 2, p81~84

Yasuko Murakawa et al.

多発性骨髄腫 (MM) 治療中に急性前骨髄性白血病 (AML, M3) を発症した症例を経験した。1992 年前胸部痛にて発症。入院時検査で胸骨体部および右胸壁の腫瘤, 左恥骨の骨融解像を認め, IgG 4120mg/dl と高値であり MM (IgG) 病期 III A と診断した。胸骨体部腫瘤に 50Gy の照射後, MP 療法 (melphalan 8 mg + prednisolone 40 mg) × 4 日間/1 カ月を開始し 1994 年 7 月には骨病変はほぼ骨化し IgG も正常化したため完全寛解と判定した。

しかし 1994 年 9 月急激な汎血球減少が出現したため再入院となった。この時点で melphalan の総投与量は 512mg であった。入院時検査では高度の汎血球減少 (WBC 1000/ $\mu$ l, Hb 9.2g/dl, plat. 4.8 万/ $\mu$ l) と DIC (fibrinogen 123 mg/dl, FDP 80  $\mu$ g/ml, D-dimer 2~4  $\mu$ g/ml) が認められたが末梢血中に芽球は認められず, 骨髄は

dry tap で骨髄生検でも確定診断は得られなかった。感染症が認められたため G-CSF を投与したところ急激に末梢血中に芽球が出現した。この時点で骨髄穿刺再検したところ芽球 (骨髄芽球 1.6%, 前骨髄球 65%) が多数認められ, AML (M3) と診断した。骨髄中の形質細胞は 1% 以下で, IgG は 1912mg/dl と正常範囲であった。ATRA が phase study 中で入手不能であったため low dose Ara-C (10 mg/day 皮下注 14 日間) を施行したが末梢血, 骨髄の改善認められず 12 月 30 日敗血症で永眠された。

Low dose Ara-C 開始直前の染色体分析では多彩な異常が認められたが, 終了直後には 46, XX, t (15:17) (q22:p11-12) と M3 に特徴的な染色体異常を示した。MM の melphalan 治療施行中およびその後に生じる二次性白血病において AML (M3) は非常に珍しいと思われた。

(村川康子, 東北大学加齢医学研究所)

## *Molecular analysis of chromosome 14q32 abnormalities in esophageal and gastric carcinoma*

Vol. 6, No. 2, p85~88

Fuminori Yamagishi et al.

【目的】 Vogelstein が示したような多段階発癌は胃癌においても示唆されているが, 大腸癌の場合と異なり K-ras の異常も APC 遺伝子の変異も少ないとされている。したがって胃癌の場合, 多段階発癌を起こすには別の未知の遺伝子の変異が必要と思われる。ところで高頻度の染色体の欠失は癌抑制遺伝子の存在を示唆しており, われわれの教室では未知の遺伝子を探すべく大腸癌を対象として 14 番染色体 q32 領域の欠失の詳細な検討を行ってきた。その頻度は約 40% に上ることからこの領域に癌抑制遺伝子の存在が推測された。

この領域の欠失は大腸癌以外では腎癌で核型解析により, 神経芽細胞腫では RFLP 法により 30~50% の頻度で報告されており, 本領域に推測される遺伝子はこれらの腫瘍に共通すると思われる。しかし胃癌も含め他の消化器系の腫瘍での検討は行われていない。そこで 14 番染色体の大腸癌と共通の領域に胃癌においても欠失が起きていないか検討した。

【方法】 手術標本より採取した約 60 症例の胃癌組織および正常胃粘膜より DNA を抽出しそれぞれに対して 14 番染色体 q32 領域の 6 個のマイクロサテライトマーカーを用いて PCR を行っ

た。ヘテロ接合性の検出は非 RI による SSCP 法で検出した。

【結果】本領域において約 40% の頻度で欠失を認めた。その欠失領域は大腸癌と共通してお

り、未知の癌抑制遺伝子が存在するなら両腫瘍に共通すると思われた。

(山岸文範, 富山医科薬科大学第二外科)

## *Inhibition of the proliferation of human small cell lung carcinoma by vasoactive intestinal peptide and enhanced inhibition by anti-bombesin antibody: Role of cyclic AMP*

Vol. 6, No. 2, p89~93

Kaname Maruno et al.

【目的】私どもは最近、肺小細胞癌 (SCLC) 細胞において、adenylate cyclase と連携した vasoactive intestinal peptide (VIP) に対する receptor が存在することを報告した<sup>8)</sup>。さらに VIP が SCLC 細胞の増殖を抑制し、その抑制効果は抗 bombesin monoclonal 抗体 (mAb)<sup>6)</sup> により増強されることを明らかにした<sup>9)</sup>。ここでは VIP の増殖抑制効果における cAMP の役割について検討する。

【材料と方法】① SCLC 細胞 NCI-H 345 に 1.0 nM から 1.0  $\mu$ M までの濃度の VIP を加えた。② 抗 bombesin mAb による VIP の効果の増強を調べるため、3.0  $\mu$ g/ml の mAb を 1.0  $\mu$ M の VIP と共に加えた。③ isobutyl methylxanthine (IBMX, 1.0  $\mu$ M~1.0 mM), forskolin (100 nM~100  $\mu$ M) を単独で、または 1.0  $\mu$ M の VIP と共に加えた。④ 細胞に抗 bombesin mAb (10  $\mu$ g/ml~10  $\mu$ g/ml) を単独で、または 1.0  $\mu$ M の VIP と共に加えた。①②③において trypan blue を加え、生細胞数を測定した。①③④において [methyl-<sup>3</sup>H]thymidine を加え、<sup>3</sup>H]thymidine の細胞内への取り込みを測定した<sup>9)</sup>。③において methanol で細胞内 cAMP を抽出し、radioimmunoassay により測定した<sup>8)</sup>。

【結果】VIP は NCI-H 345 の増殖を抑制した (Fig. 1)。VIP による SCLC の増殖抑制は、抗 bombesin mAb により増強された (Fig. 2, 3)。細胞内 cAMP 値を上昇させる IBMX と forskolin

は、VIP による細胞内 cAMP の産生を促進した (Fig. 4)。IBMX と forskolin は SCLC 細胞の増殖を抑制し、また VIP による増殖抑制を増強した (Fig. 5, 6)。VIP, IBMX, forskolin による増殖の抑制は、それらによる細胞内 cAMP 産生の促進と相関していた。

【考察】私どもの研究では VIP は classic subclass である NCI-H 345 細胞の増殖を抑制したが、variant subclass の SCLC 細胞や non-SCLC 細胞の増殖は促進したという報告がある<sup>11,14)</sup>。VIP は classic subclass においてと、variant subclass や non-SCLC においてでは、反対の作用を示すことが考えられる。抗 bombesin mAb による VIP の増殖抑制効果の増強は、細胞内で産生され、その産生が VIP によって促進されている GRP<sup>7)</sup> の細胞増殖促進効果を、この抗体が打ち消すことに起因していると考えられる。

VIP による細胞数の増加の抑制率は、<sup>3</sup>H]thymidine の取り込みの抑制率より有意に大きかった。同様の差異は神経芽細胞における VIP による細胞数と <sup>3</sup>H]thymidine の取り込みの抑制率の差についても報告されている<sup>15)</sup>。このような差は、VIP が細胞の増殖だけでなく細胞の生存までも抑制し、細胞数の変化がその両者の影響を受けていることにより説明されうる<sup>16,17)</sup>。そして細胞分裂すなわち細胞数は、DNA 合成すなわち <sup>3</sup>H]thymidine の取り込みよりも抑制に関しては、より鋭敏な指標となりうるといえる<sup>15)</sup>。

VIP による SCLC の増殖抑制効果と、抗 bom-

besin mAb や他の cAMP 産生促進因子によるその効果の増強作用は、SCLC 増殖制御の新しい一

歩の可能性を示唆するものである。

(丸野 要, 帝京大学溝口病院外科)

**Recombinant interleukin-2 therapy for angiosarcoma of the breast ;  
Efficacy of daily or weekly administration—A case report—  
Vol. 6, No. 2, p94~98**

Shigeru Tsuyuki et al.

【目的】乳房悪性血管内皮細胞腫はまれで、悪性度が高く予後の悪い腫瘍である。この疾患の発病後平均生存率は1.9~2.1年と低く、効果的な治療法はまだ確立されていない。頭皮の悪性血管内皮細胞腫に対して、rIL-2の全身および局所投与が有効であったとの報告があり、これはrIL-2により活性化されたリンパ球が内皮細胞に接着し攻撃するのではないかと推測されている。今回、われわれは左乳房悪性血管内皮細胞腫を経験し、これに対して乳房切断術後にrIL-2の全身投与を試み、rIL-2療法に対する宿主の免疫学的変化を検討した。

【症例】25歳女性。主訴は左乳房全体を占める左乳房腫瘍である。徐々に増大し1995年2月に当院を受診。同年3月に左乳房切断術を行い、悪性血管内皮細胞腫と診断され、術後2週間より週5日間rIL-2:100万単位/日i.v.を4週間行った。退院後は週1回のrIL-2間欠投与を行ったが、術後8週目には早くも術創部に局所再発を認めた。さらに術後5カ月目に局所の再々発を認めたため、同切除後に再び週5日間rIL-2:100万単位/日i.v.を5週間連日投与を行うも、同年12月に右卵巣転移を認めた。

【方法】患者の末梢血リンパ球を用い、下記の経時的推移を解析した。①細胞表面抗原をflow cytometryにて解析。②NK活性、LAK活

性を $^{51}\text{Cr}$ 遊離試験を用いて測定。③血漿中の可溶性CD25(IL-2R $\alpha$ )をELISA法にて測定。

【結果】治療前は健常人と比べてCD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>、CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>の細胞数およびNK活性、LAK活性の低下を認めたが、IL-2連日投与によりCD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>およびCD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>の細胞数が増加するとともに、NK活性、LAK活性もそれぞれ11%、0.4%から51.5%、15.6%(E/T=20:1)まで増強された。しかし週1回の間欠投与では上記の細胞分画は減少し、それと相応して抗腫瘍活性も激減した。さらに2クール目のrIL-2連日投与を行っても1クール目のような抗腫瘍活性の増強はみられなかった。rIL-2療法によりCD3<sup>+</sup>細胞には、IL-2 $\beta$ は発現せずCD25のみの発現増加を認めた。さらにrIL-2療法に対する一指標である可溶性CD25は、rIL-2の投与前後で変動なく正常範囲内であった。

【結語】抗腫瘍効果の観点からみると、本症例に対するrIL-2療法のプロトコールは、高い抗腫瘍活性の維持には不十分であったことが推測された。しかし、初回の4週間のrIL-2投与により著しい抗腫瘍活性の増加を認めたことから、重篤な副作用に十分注意しつつ可能な限りrIL-2を連日投与することがより効果的であることが推測される。

(露木 茂, 京都大学医学研究科消化器外科)

***Isoperistaltic transverse colon interposition after total gastrectomy for gastric cancer : Effect on the quality of life***

Vol. 6, No. 2, p99~107

Takashi Hara et al.

胃全摘後に空腸を用いた再建後には逆流性食道炎の発生頻度は高い。当教室では胃全摘後の障害をなくす目的で、空腸を代用胃に用いず、再建術式として1986年から現在まで順蠕動性有茎横行結腸間置法(長町-II法)を施行している。本研究では、胃癌に対し同一術者 Y. N. が施行した胃全摘術後再建術式のうち、食道-間置横行結腸吻合を手縫いで施行した、手縫い吻合結腸間置法48例および自動縫合器を用いた、器械吻合結腸間置法54例の計102例を対象とし、対照には空腸  $\rho$ -loop Roux Y法(以下Roux Y法)24例を用いて、酸逆流試験、再建代用胃の運動測定により、食道内への逆流防止機能について比較を行い、術後の社会復帰の程度(以下QOL)に及ぼす影響を術式間で比較検討した。なお食道内pH値の計測群の対照として胃亜全摘Billroth I法再建例8症例を参考にした。

横行結腸間置法は、空腸を用いるRoux Y法に比べ術後QOLの面で優れていた( $p < 0.01$ )。術後逆流性食道炎の発生率を横行結腸間置法とRoux Y法で比較した結果、横行結腸間置法はRoux Y法に比べて低率であった( $p < 0.05$ )。特に手縫い

吻合結腸間置法では術後の逆流性食道炎発生が0%であった。

酸逆流試験による食道内逆流防止機能の評価では、横行結腸間置法がRoux Y法に比べ十二指腸液の食道内逆流の程度が軽く、すぐれた逆流防止機能を有していた。さらに、食道-間置横行結腸吻合を器械吻合で行った群に比べて、手縫い吻合群では高い逆流防止機能を示した。

再建代用胃として用いた消化管の収縮運動測定では、Roux Y法の再建空腸輸出脚内に、口側へ向かう逆行性伝播波を認めたのに対し、横行結腸間置法は、間置結腸内に逆行性伝播を認めず、さらに食道-間置結腸吻合部に高圧部が存在し逆流防止機能を果たしていた。

以上から、横行結腸間置法、特に手縫い吻合結腸間置法は、食道-間置横行結腸吻合部に作製された逆流防止弁と、鋭角なHis角および人工円蓋により、高い食道内逆流防止機能を有し、術後逆流性食道炎の発生を抑止でき、術後早期からの十分な食事摂取が可能であることから、術後のQOLにすぐれ、早期に社会復帰ができる点で理想的な胃全摘後再建術式であることが裏づけられた。

(原 敬, 群馬大学医学部第一外科)

***<sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy for estimating the radiation response of a murine mammary tumor***

Vol. 6, No. 2, p109~112

Osamu Murata et al.

臨床の放射線治療においては、腫瘍の吸収遅延により照射終了後時間を置いてから腫瘍の縮小が起こったり、照射終了時に残存した腫瘍がそのまま再発もなく経過することも珍しくない。放射線

照射効果を早期に予測することは、腫瘍の局所制御の向上に非常に役立つと考えられる。

<sup>31</sup>P-MRSでは、細胞の主要なエネルギー代謝であるリン酸代謝の情報を非侵襲的、経時的に捉えらえることができ、腫瘍のモニタリングに適して

いと期待されている。そこで本研究では、担癌マウスを使用して腫瘍の放射線照射後の  $^{31}\text{P}$ -MR スペクトルを解析し、放射線治療効果の指標となり得るかどうかについて検討した。

## 【結果】

### ① 腫瘍容積の変化

Fig. 1 は Control 群と放射線照射群の腫瘍容積の変化を示したものである。Control 群では腫瘍は移植後増殖をつづけ、doubling time は 5 日であった。放射線照射群では明らかな増殖抑制効果がみられた。腫瘍容積は 2 日後からは縮小をはじめ、11 日後に最低となった(照射前の 30% にまで縮小)。その後は再増大が明らかになり、照射前のサイズにまで増大したのは 20 日後であった。Doubling time は 25 日であった。腫瘍容積が  $1000\text{ mm}^3$  に至るまでの増殖から求めた growth delay は 30 日であった。

### ② $^{31}\text{P}$ -MRS の変化

Fig. 2 に治療開始前および照射 4 日後の Control 群と放射線照射群の  $^{31}\text{P}$ -MR スペクトルの一例を示す。(中略) Control 群では増殖初期には小さなピークであった Pi が腫瘍の増殖に伴って増加し、 $\beta$ -ATP と PCr のピークは低下がみられた。それに対し、放射線照射群の照射 5 日後には ATP ピークと PCr ピークは明らかに増大している。

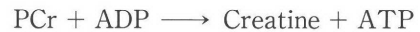
Control 群での  $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi の経時的变化を Fig. 3 に示す。 $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi ともに腫瘍の増殖に伴って減少している。

Fig. 4 は放射線照射群の  $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi の経時的变化である。 $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi は照射後から明らかな上昇を示し、5 日後にピークに達した後急激に低下し、20 日後に前値にまで低下した。PCr/Pi もほぼ同様の变化を示した。

【考察】  $^{31}\text{P}$ -MRS では、細胞のエネルギー代謝を反映するリン酸代謝産物を測定することができ、放射線照射による細胞障害を早期よりエネルギー代謝の変化として捉えられる可能性がある。Karen らは SCC VII を用いた検討で、照射後の腫瘍サイズ、hypoxic fraction と Pi/NTP, Pi/PCr の増大には正の相関が認められたと報告している。

われわれの検討でも、非照射群では放射線照射後に腫瘍増殖に伴う ATP/Pi, PCr/Pi の低下がみられた。

さまざまな腫瘍で報告されている腫瘍増殖に伴うスペクトルの変化は、腫瘍の chronic oxygenation state を表していると考えられている<sup>2,6,8,10,11</sup>。腫瘍は増殖に伴い、相対的な血流の低下により嫌気性解糖系が主体となる。そして非効率になったエネルギー代謝を補うため、低酸素細胞は高エネルギー物質である PCr, ATP を著しく消費する。



その結果として腫瘍増殖に伴うスペクトルの変化として  $\beta$ -ATP, PCr の低下と Pi の上昇が起こるとされている。

Sijens らは NU-82 を用いた検討で、10GY 照射後では照射後早期に一時的な ATP/Pi の上昇がみられたが、20Gy 照射後には ATP/Pi は linear に低下したと報告した。彼らはこの線量によるスペクトルの違いを、照射による壊死組織によるものと考えた。今回のわれわれの検討でも、Control 群では腫瘍が増殖するに従い  $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi の低下がみられた。

Koutcher らは mouse fibrosarcoma を 70~100Gy 照射した 48 時間後に PCr/Pi の上昇を認めた。しかしこの PCr/Pi の上昇は、低酸素細胞分画の少ない、小さな腫瘍 ( $250\text{ mm}^3$  以下) ではみられなかったと報告した。これは低酸素細胞分画の大きな腫瘍では、照射により腫瘍細胞が破壊されて再酸化化が起こった結果、PCr/Pi の上昇が起こったためと考えられる。

Tozer らの検討では、RIF-1 腫瘍の照射後早期に ATP/Pi, PCr/Pi, pH の上昇がみられ、この MR スペクトルの変化に腫瘍血流の変化が正の相関をしていたと報告している。

今回の研究で、放射線照射後 5 日間に  $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi の上昇がみられたのは、照射により腫瘍細胞が破壊され、残存する細胞が相対的に好気的な状態となり再酸化化された結果と考えられる。 $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi は、5 日後にピークに達した後に急激な低下に転じたが、これは腫瘍の再増殖

に伴い再び hypoxic fraction の増大が生じてきたためと予測される。これらの  $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi の変化は見かけの腫瘍容積の変化に先行して認められ、しかも ATP/Pi, PCr/Pi の低下は腫瘍容積が縮小をつづけている最中に開始していた。Hori らも SCC VII を用いた検討で、照射後の PCr/Pi の変化が腫瘍容積の急激な増大に先だって起こったと報告している。

腫瘍容積の変化は、照射された腫瘍細胞の吸収

遅延などにより影響される。そのため照射の効果が遅れて表現されることは臨床でも経験する。今回の study では、 $\beta$ -ATP/Pi, PCr/Pi のピークは腫瘍容積の変化の現れる前に観察された。このことから、 $^{31}\text{P}$ -MRS の変化が、照射後の再酸素化や再増殖などの早期照射効果を捉え、照射効果の予測に有効であることが示唆された。

(村田 修, 群馬大学医学部放射線医学)

### *Human lung cancer antigen presentation by tumor-associated macrophages to CD4<sup>+</sup> lymphocytes from regional nodes*

Vol. 7, No. 1, p19~24

Ichiro Yoshino et al.

【目的】 原発性肺癌組織内に浸潤するマクロファージの所属リンパ節リンパ球に対する MHC Class II を介した増殖刺激能を解析し (抗原提示による T 細胞反応)、さらにこの反応が腫瘍関連抗原を介するか否かについて検討した。

【対象】 35 原発性肺癌切除症例。

【方法】 新鮮外科切除標本より腫瘍内浸潤マクロファージ (TAM)、非担癌区域由来肺泡マクロファージ (PBM)、および手術直前の前末梢血より単球 (LM) を分離し、同一症例の郭清所属リンパ節より分離したリンパ節リンパ球 (RLNL) と混合培養し、各マクロファージの RLNL に対する刺激能を RLNL の [ $^3\text{H}$ ]-thymidine の取り込みにて比較検討した。また、混合培養中に抗 MHC Class II 抗体を添加して刺激阻止実験を行い、この分子の関与について調べた。また RLNL 中の CD 4<sup>+</sup>/CD 8<sup>+</sup> を分離し、反応細胞の phenotype についても検討を加えた。さらに、35 例中 15 例にお

いて自己腫瘍に対する RLNL の増殖反応を同時に調べ、統計学的に RLNL の TAM と自己腫瘍に対する反応に関連があるか検討した。

【結果】 RLNL は統計学的に有意に PBM より TAM と LM に高い反応を示したが、TAM と LM 間では差がなかった。またこの反応は抗 MHC Class II 抗体にて有意に抑制され、さらに RLNL 中の反応細胞は CD 4<sup>+</sup> 細胞であった。RLNL が自己腫瘍細胞に反応を示した症例では、統計学上有意に高頻度に TAM とも反応を示し、両者の反応に関連があることが示された。一方、RLNL の自己腫瘍細胞および LM に対する反応間には関連は認められなかった。

【考察】 原発性肺癌の組織内に浸潤したマクロファージは MHC Class II を介して、所属リンパ節リンパ球に腫瘍関連抗原を提示していることが示唆された。

(吉野一郎, 産業医科大学第二外科)

## ***Clinical features of long-surviving lung cancer patients without resection***

*Vol. 7, No. 1, p25~28*

Haruhiko Nakamura et al.

肺癌非切除で長期生存（3年以上）した13例の臨床病理学的特徴を、切除後3年以内に死亡した短期生存11例（病理病期IA期）のそれと比較した。非切除長期生存群の平均生存期間が51.8カ月であるのに対し、切除短期生存群のそれは21.5カ月であった。非切除群においては放射線療法との併用のもとで、CCDPによる化学療法がもっとも多く施行されていた（7/13, 53.8%）。切除された病理病期IA期の原発腫瘍の病理検索では顕微鏡

的血管侵襲が6/11（54.5%）に、リンパ管侵襲が2/11（18.2%）に認められた。短期生存群の初発再発巣は通常、遠隔転移であった。長期生存群には女性、75歳以上の高齢者、扁平上皮癌の割合が多かった（ $\chi^2$ 検定,  $p < 0.05$ ）。われわれは、女性、高齢、肺癌組織型としての扁平上皮癌は非切除長期生存の因子であり、また、顕微鏡的血管侵襲は切除後早期死亡の原因となる遠隔転移をきたす危険因子のひとつであると考える。

（中村治彦，東京医科大学外科）

## ***Immunohistochemical expression of bcl-2 and p53 oncoproteins in colorectal adenomas and adenocarcinomas***

*Vol. 7, No. 1, p29~33*

Takahito Inoue

大腸正常粘膜53例、腺腫28例および腺癌43例の新鮮凍結切片を用いて、bcl-2癌遺伝子蛋白とp53癌遺伝子蛋白の免疫組織学的発現を評価し、それぞれの病理学的因子との関連を検討した。bcl-2は正常粘膜や腺腫に比し、腺腫で有意に高率に発現していたが、正常粘膜と腺腫では発現陽性率に差はなかった。

p53は腺癌でもっとも高率に発現し、腺腫でも正常粘膜に比し有意に高率に発現していた。bcl-2とp53の組織発現は腺癌、腺腫ともbcl-2発現陽性例ではp53発現陰性例が有意に多く、またbcl-2発現陰性例ではp53発現陽性例が有意に多か

った。臨床病理学的因子との関連では、p53は腺腫において腫瘍径が小さいほど、また異型度が進んでいるものほど高率に発現していたが、腺癌では関連はなかった。bcl-2に関しては大腸腫瘍の臨床病理学的因子と関連は認められなかった。

以上の結果より、①bcl-2遺伝子蛋白は大腸腫瘍発生比較的早期に影響を及ぼし、②p53遺伝子蛋白は大腸腺腫から腺癌への悪性変換に重要な役割を果たすが、浸潤や転移には関与せず、③p53遺伝子蛋白はbcl-2遺伝子蛋白の発現の低下に関与することが示唆された。

（井上登仁，三重大学医学部第二外科）



## *Relationship between metaplastic changes and occurrence of endocrin cells, lysozyme and lactoferrin in gallbladder carcinoma*

Vol. 7, No. 1, p34~38

Katsutaka Sai et al.

胆嚢癌の組織発生を解明する目的で、胆嚢癌にみられる化生性変化と内分泌細胞、リゾチーム、ラクトフェリン出現との関連性を、50例(うち早期癌9例)の胆嚢癌の連続切片を用いて、組織学的、組織化学的、免疫組織化学的に検討した。

癌巣部にガストリン、ソマトスタチン、セロトニン分泌細胞が認められたものはそれぞれ14例(28%)、10例(20%)、15例(30%)で、非癌粘膜ではそれぞれ19例(38%)、16例(32%)、19例(38%)であった。モチリン分泌細胞は癌巣では認

められず、非癌粘膜に2例(4%)認めたにすぎなかった。リゾチーム、ラクトフェリン免疫活性は、癌巣ではそれぞれ29例(58%)、6例(12%)で、非癌粘膜では29例(58%)、4例(8%)であった。胆嚢の早期癌と進行癌での化生性細胞の出現頻度には差は認められなかった。内分泌細胞やリゾチームなどの化生性変化は胆嚢癌発生に密接な関係があり、胆嚢粘膜腸上皮化生が発癌にかかわる重要病変の可能性が強く示唆された。

(崔 勝隆, 東邦大学医学部外科)

## *Introduction of cytokine genes into rat solid neoplasm with a hand held gene gun —I. Combined effect of IL-12 with TNF $\alpha$ gene transfection on subcutaneous tumor—*

Vol. 7, No. 1, p39~42

Yoshinori Hosoya et al.

【目的】 Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), inter leukin-12 (IL-12) 遺伝子を粒子加速による遺伝子導入法である遺伝子銃を用いて腫瘍局在に導入し、その抗腫瘍効果について検討した。

【研究材料と方法】 固形癌モデルとして、吉田肉腫細胞を $1 \times 10^5$ 個を雄性ドンリュウラット(8週齢)の右前胸部の皮下に注入した。腫瘍細胞注入後、5日目、7日目に手持ち式遺伝子銃であるHelios Gene Gun 遺伝子銃を用いてTNF $\alpha$ 単独、IL-12単独およびTNF $\alpha$ とIL-12の両遺伝子を腫瘍に射入した。コントロールとして $\beta$ -gal遺伝子を同様のスケジュールで投与した(各群n=10)。腫瘍重量の経時的变化を細胞移植後、3, 5, 7, 9日目に腫瘍の長径(a)、短径(b)を計測し、

腫瘍重量を $W$  (mg) =  $a \times b^2 / 2$ として算出した。

【結果】 コントロールと比べTNF $\alpha$ 単独群、IL-12単独群、TNF $\alpha$ とIL-12の併用群とも腫瘍増殖を抑えた( $p < 0.001$ )。またIL-12単独ならびにTNF $\alpha$ との併用でもTNF $\alpha$ 単独に比し、腫瘍増殖を抑制した( $p < 0.05$ )。生存日数については、コントロール群は平均8日で死亡するのに対し、TNF $\alpha$ 治療は12日、IL-12治療は20日、TNF $\alpha$ とIL-12複合治療では30日であった。すべての遺伝子治療群ともコントロールに比べ有意に生存率の改善が得られた。またTNF $\alpha$ 単独群は長期生存例を認めるもののすべてが死亡したのに対し、IL-12単独群では20%が、TNF $\alpha$ とIL-12併用群では40%が癌死を免れ、完治した。

【考察】 遺伝子銃は目的遺伝子を微小金粒子に付着させ、粒子ごと加速させ目的細胞や組織に

遺伝子導入する方法である。本法はウイルスベクターを使用しなくて良いことや、導入側細胞の周期を問わないなどの利点がある。最近、本法を用いた固形癌に対するサイトカイン遺伝子治療が注目されいくつかの実験が報告されているが、われわれは TNF $\alpha$  と IL-12 の併用に着目した。ラット皮下腫瘍モデルにおいて単独遺伝子治療でも腫瘍増殖抑制効果があったが、併用療法は単独療法

に比べ、生存率においてより有効であった。今後、本法を用いて抗腫瘍効果が期待されるサイトカイン遺伝子を組み合わせることで臨床応用が可能となると考えられた。また遺伝子銃は瞬時に直視下で遺伝子導入が可能であることより、術中遺伝子導入法として展望がある。

(細谷好則, 自治医科大学消化器一般外科)

### *A randomized controlled study on immunotherapy for gastric cancer assigned according to CEA and acute-phase reactants levels*

*Vol. 7, No. 1, p43~49*

Kyoji Ogoshi et al.

血清 carcinoembryonic antigen (CEA) や急性相反応物質 (APR) (immunosuppressive acidic protein (IAP),  $\alpha$  1-antichymotrypsin (ACT), acid soluble glycoproteins (ASP), sialic acid (SA)) の術前値が、胃癌の術後補助療法としての PSK 併用免疫療法の効果を予測できるかどうか検討するために多施設共同比較対照試験 (16 施設) を行った。

1987年2月より1989年11月までに712例の症例が登録された。そのうち694例が組織学的に胃癌と診断され適格例とされた。CEA, IAP, ACT, ASP, SA は一括して大塚アッセイ研究所 (徳島) で測定された。測定値により A 群: CEA (-), APR (-) (CEA 7.0ng/ml 以下, IAP 589  $\mu$ g/ml, ASP 1.53 mg/ml, ACT 319  $\mu$ g/ml, SA 0.73mg/ml 以下), B 群: CEA (+), APR (-), C 群: CEA (-), APR (+) (IAP, ASP, ACT, SA のいずれか一つが異常値), D 群: CEA (+), APR (+) に分類し、それぞれ

に、肉眼的 T1 では胃切除術単独群または胃切除術+PSK, 肉眼的 T2 以上では胃切除術+化学療法 (MMC 0.4mg/kg 術当日, MMC 0.2mg/kg 術後1日目, 術後14日目よりフッ化ピリミジン剤 (5-FU 150 mg/day, FT 207 600 mg/day, HCFU 400mg/day) 投与) または胃切除術+化学療法+PSK (PSK 3.0g/day) に割りつけた。フッ化ピリミジン剤の種類に関しては各施設の主治医にまかせた。フッ化ピリミジン剤および PSK の投与は3カ月以上再発までとした。94.5% の症例で5年経過観察が可能であった。CEA (+) (log rank test, p=0.0431) 症例および CEA(+), APR (+) (log rank test, p=0.0431) 症例では PSK 投与、非投与間で有意の差が認められた。しかし、比較対照試験の各群間には症例数が少なく有意の差がみられなかった。PSK 療法は、CEA や APR の術前値が異常を呈する症例が適応となる可能性が示唆された。

(生越喬二, 東海大学医学部外科)

## ***A different response pattern to interleukin-2 in regional lymph node lymphocytes and peripheral blood lymphocytes in patients with lung cancer***

Vol. 7, No. 2, p77~82

Mitsuhiro Takenoyama et al.

【目的】 肺癌患者の癌所属リンパ節リンパ球 (RLNL) は、その細胞表面上の活性化分子の解析より末梢血リンパ球 (PBL) に比較し活性化していることを以前報告した。今回 RLNL が機能的に活性化しているか否か検討するために、interleukin-2 (IL-2) に対する反応を RLNL と PBL で比較検討した。

【対象と方法】 原発性肺癌患者手術症例 25 例より RLNL, PBL を採取調整し、IL-2 に対する反応性を [<sup>3</sup>H]-thymidine の取り込みにて評価した。表面マーカーおよび IL-2 receptor (IL-2 R) をフローサイトメトリーにて測定した。

【結果】 25 例中 21 例 (84%) において、RLNL は PBL に比し 1 単位以上の IL-2 で約 30 倍の高い反応性を示した。RLNL の IL-2 に対する高い反応性は付着細胞を除いても認められた。さらに E-roset 法にて T 細胞 (フローサイトメトリーにて CD 3 陽性細胞が 90% 以上) のみを分離しても RLNL は IL-2 に対し高い反応性を示した。RLNL の IL-2 に反応する細胞の

phenotype を同定するために、RLNL および PBL を IL-2 : 5 unit/ml にて 6 日間刺激培養後の IL-2 R を測定した。PBL に比し RLNL の CD 4 陽性細胞に IL-2 R $\alpha$  鎖の発現増強を認めた。CD 8 陽性細胞では IL-2 R のそれはわずかであった。

【考察】 われわれは以前に RLNL と PBL の細胞表面に発現される活性化分子を比較検討し RLNL が活性化状態にあることを報告したが、今回の結果より低い濃度の IL-2 にも高い反応性を示すことより、RLNL は機能的にも活性化しており *in vivo* においてもさまざまな刺激に対し感受性が高いと予想される。われわれの肺癌に対する IL-2 投与の臨床試験では 100 万単位の皮下投与で患者血清中の IL-2 濃度はピーク値で 35 JRU/ml であった。低い濃度の IL-2 にても高い反応性のある RLNL は、免疫療法を考えるにあたって担癌局所で低い IL-2 濃度でも、十分な local help があれば自己腫瘍細胞に対しても反応しうる可能性が考えられた。

(竹之山光広, 産業医科大学第二外科)

## ***Two cases of colon cancer with a long segmental stenosis mimicking inflammatory bowel disease***

Vol. 7, No. 2, p83~86

Masahito Iizuka et al.

大腸疾患で広範囲にわたる狭窄像や数石状病変を認めた場合、第一に考えやすいのは、潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患である。われわれはそのような所見を呈したために炎症性腸疾患との鑑別に難渋した大腸癌を 2 例経験したので、若干の文献的考察を加えて報告する。

【症例】 第 1 例は、過去に潰瘍性大腸炎の治療歴のある 30 歳の女性で、切迫流産にて当院の産婦人科に入院した。入院後、発熱および下腹部痛などの腹膜炎症状が出現し、緊急帝王切開を施行、同時に S 状結腸に穿孔を認め、単純閉鎖、人工肛門造設およびドレナージのみ施行した。術後の注腸造影にて広範囲に狭窄を認め、炎症性腸疾患の

再燃を疑い、保存的療法を行ったが症状が軽快せず、さらに大腸内視鏡などで再検したところS状結腸癌であることが判明し、S状結腸切除術を施行した。高度進行癌で非治癒切除となったため術後化学療法を行うも、15カ月後に死亡した。

第2例は、貧血および便潜血精査にて入院した48歳の男性で、注腸造影にて横行結腸に広範な狭窄像、また大腸内視鏡で狭窄部肛側に敷石状病変を認めたためクローン病を疑われ、保存的療法を開始した。症状軽快せず、またCEA値の上昇を認めたため、狭窄部全長に及ぶ大腸内視鏡を再施行し、横行結腸癌との診断を得て、横行結腸切除術を施行した。腹膜播種を認め、非治癒切除となったため術後化学療法を行うも、9カ月後に死亡した。

【考察】一般的に、広範囲な大腸の狭窄は炎症性腸疾患の場合、切縁が滑らかで粘膜は保たれているという特徴を呈するといわれているが、著

明な線維化および硬化をきたす癌による広範囲な狭窄との判別は実際はわれわれの症例のように困難である場合も多い。また第2例のように、狭窄に加えて、壁外浸潤をきたしてリンパ流を阻害し、粘膜の浮腫を起こして敷石状病変様変化を呈する場合もあり、さらに注意を要する場合もある。このような症例においては診断のために大腸内視鏡における通常より深層に及ぶ注意深い生検、腫瘍マーカーの測定、CT検査などが不可欠となる。炎症性腸疾患患者においては癌は進行癌の状態で発見されることが比較的多い。また最近、炎症性腸疾患患者におけるdysplasiaと発癌との関係が重視されているため、癌の早期発見のためにそのsurveillanceは定期的に行われることが推奨される。

以上、炎症性腸疾患を疑われた大腸癌の2例を報告した。

(飯塚正仁, 群馬大学医学部第一外科)

## *Further evaluation of factors affecting survival after resection in patients with gastric cancer and simultaneous distant metastases : A multivariate analysis*

*Vol. 7, No. 2, p87~90*

Shiro Kikuchi et al.

【目的】遠隔転移を伴った胃癌切除症例の予後規定因子を検討することを目的とした。

【対象と方法】過去20年間に北里大学病院、北里大学東病院にて切除された遠隔転移(TNM分類第4版)を伴った胃癌切除例300例を対象とし検討した。①単変量解析:13の臨床病理学的因子(年齢,性,術式,リンパ節郭清,根治度,肉眼型,組織型,大きさ,占拠部位,深達度,肝転移,腹膜転移,3~4群リンパ節転移)についてそれぞれの各因子ごとに生存率を算出し(Kaplan-Meier法),有意差検定(log rank test)を行った。②多変量解析:根治度,肝転移,深達度,大きさ,3~4群リンパ節転移,リンパ節郭清,腹膜転移の7因子について多変量解析(Cox比例ハザ

ードモデル,ステップワイズ法)を用いて,独立した予後規定因子を検討した。

【結果】①単変量解析:リンパ節郭清(D1以下vs D2以上,  $p < 0.0001$ ),根治度(B vs C,  $p < 0.001$ ),大きさ( $8\text{ cm} > = \text{vs } 8 >$ ,  $p = 0.027$ ),深達度(T2以下vs T3以上,  $p = 0.016$ ),肝転移(ありvsなし,  $p < 0.0001$ )の5因子について生存率に差異がみられた。②多変量解析:単変量解析にて有意差の認められた5因子と腹膜転移,3~4群リンパ節転移の2因子を加えた計7因子にて検討したところ,リンパ節郭清(D1以下vs D2以上, hazard ratio: 1.470),根治度(B vs C, hazard ratio: 1.581),深達度(T2以下vs T3以上, hazard ratio: 1.571),肝転移(ありvsなし, hazard ratio: 2.067)の4因子が独立

した予後規定因子であった。

【考察】遠隔転移を伴った胃癌切除症例の予後は転移形式により差があり、特に肝転移はもっとも予後不良な因子であった。また、一部の症例

に対してはD2以上のリンパ節郭清、根治度Bの治癒切除が有効であったものと考えられた。

(菊池史郎, 北里大学東病院外科)

## *Expression of estrogen receptor $\alpha$ splice variant mRNAs in human endometrial diseases*

Vol. 7, No. 2, p91~95

Masao Hori

【目的】乳癌・子宮内膜癌に代表されるホルモン依存性腫瘍組織内のエストロゲンレセプター(ER)  $\alpha$  遺伝子の mRNA splice variants の発現は、その腫瘍の内分泌治療抵抗性と関連があるかどうか議論的となっている。

今回さまざまな子宮内膜病変における ER $\alpha$  遺伝子の mRNA splice variants の頻度を RT-PCR 法により検索し、組織型との関連を検討した。

【対象と方法】41例(腫瘍病変15例, 非腫瘍病変およびホルモン異常がないと判断された26例)の凍結組織とER陽性コントロール培養細胞(ISHIKAWA 3-H-12・MCF-7・T-47D)よりRNAを抽出し、ER exon 2/3, 5, 7の領域を挟むprimerを設定してRT-PCRを行った。さらにスプライシングの確認のため、PCR産物をゲルより抽出しそのsequenceを調べた。

【結果】41例中ひとつもしくはそれ以上の領域にスプライシングが認められた症例は34例(82.9%)あり、exon 2/3の欠失頻度(26.8%)に比べるとexon 5, 7の欠失頻度(63.4%, 68.3%)の方が高かった。3種の細胞株はいずれもすべてのexon領域のスプライシングが認められた。ホルモン異常がないと判断された内膜では増殖期の

組織で、よりスプライシングの発現頻度が高かった。良性・悪性疾患の間でスプライシングの発現頻度に差はなく、また閉経前・閉経後の患者の間でもその発現頻度に差は認められなかった。これらの結果は、われわれが以前に報告した乳腺疾患におけるERのスプライシングの検索結果と類似していた。

【考察】今回得られた結果より、子宮内膜疾患に認められるER mRNAのスプライシングは病的なものもしくは腫瘍発生に起因するものとはいえず、むしろ生理的な現象ではないかと推察された。また腫瘍の内分泌療法抵抗性の機序の一因となっている可能性も低いように思われた。その根拠を以下に述べる。

① スプライシングの頻度が高すぎる。この頻度はわれわれの検索した乳腺疾患における頻度とほぼ同様である。

② タモキシフェン感受性細胞株にすべてのexon領域のスプライシングが認められた。

③ スプライシングが増殖期内膜で多く認められた。これはER蛋白が増殖期内膜に多く認められている報告と一致し、ER蛋白陽性の組織にむしろスプライシングが多いのではないかと思われる。

(堀 眞佐男, 茨城県立中央病院・地域がんセンター病理部)

**Direct mediastinal injection of DDS-CDDP prohibited local recurrence in the mediastinum in advanced esophageal cancer patients**  
Vol. 7, No. 2, p97~99

Seiji Akiyama et al.

【目的】 進行食道癌の予後は悪く、5年生存率は10~20%である。大多数の患者は1~2年の間に局所再発や遠隔転移をきたして死亡する。3領域郭清や術前放射線化学療法が行われているが、今のところ予後に結びついていない。CDDPはもっとも期待されている抗癌剤の一つであるが、全身投与では、術後の縦隔内へは十分に到達しない。術後の縦隔内へ直接DDS-CDDPを投与することにより、CDDPがリンパ組織内に高濃度で十分な時間取り込まれることから、縦隔再発を抑制することが可能かどうかを検討した。

【対象と方法】 対象は45例の進行食道癌患者(p-Stage III, IV)で、3群までのリンパ節郭清を受け、治癒切除となった症例である。22例は術後にDDS-CDDPの縦隔内直接投与を受け、23例は受けていない(Table 1)。DDS-CDDPはCDDP-LipiodolとCDDP-FM 127を用いた。CDDP-Lipiodolは粉末状のCDDPをLipiodolに混ぜたもので、CDDP-FM 127は活性炭にCDDPを吸着させたものである。術中に縦隔内に留置したカテーテルを皮下に埋没したリザーバーに接続し、術後にここから薬剤を直接投与した。

【結果】 残念ながら2群の生存率には影響な

かった(Fig. 1)。しかし縦隔再発は有意に減少した(Table 2)。合併症はほとんどなく、1例に投与後縦隔炎がみられたが、数日間の抗生剤投与で治癒した。薬剤の急速な投与により咳嗽反射が認められたが、ポンプによる投与で解決した。

【考察】 気管支食道癌の術後縦隔内局所再発は以前より少なくなったとはいえ、未だに多くの患者が苦しんでいる。縦隔は気管気管支、大動脈など生命に重要な臓器があり、窒息、大出血など患者のQOLを著しく損なう。したがって縦隔再発を抑えることは有意義なことである。食道癌の化学療法はCDDP+5-FUの併用療法により、以前と比べれば格段に良好な結果が得られている。しかし、それが予後の延長に結びついてはいない。それは抗癌剤が、癌細胞を確実に死滅させる濃度と時間が局所に十分ではなく、残存した細胞が再増殖するからである。副作用をできるだけ抑えながら局所に高濃度に、しかも長時間作用させることができるDDSが求められている。DDS-CDDPの縦隔内直接投与により縦隔再発を抑え、さらに癌再発を抑えることができる治療法のヒントになることを期待する。

(秋山清次, 名古屋大学医学部第二外科)

**$G_2/M$  is a critical phase to regulate X-ray-induced apoptosis in EL-4 mouse lymphoma cells**

Vol. 7, No. 2, p101~107

Toshiya Takemura et al.

【目的】 放射線は電磁波の一種であり、ある一定の条件下でアポトーシスを誘導することが知られているが、そのメカニズムについては不明な点が多い。増殖中の細胞の細胞周期には $G_1$ 、 $G_2$ 、

M各期にチェックポイントとよばれる制御部位が存在し、DNAの複製とその分配が正確に行われるように監視していることが知られている。細胞死の原因のいくつかはこのチェックポイント機構の破綻に原因があることも証明されてきている。

今回、われわれはマウスリンパ腫由来の培養細胞を用いて、放射線誘導アポトーシスのパターンについて、主として細胞周期の制御と G<sub>2</sub> チェックポイント機構の観点から解析を試みた。

#### 【対象と方法】

① 培養細胞は、マウス EL-4 リンパ腫細胞を用いた。

② 細胞周期を制御する薬剤として、caffeine (5mM), colchicine (200nM) を用いた。

③ 生死細胞数の計測にはトリパンブルー色素排除法を行った。

④ 細胞の形態学的検索はヘマトキシリンエオジン染色後光学顕微鏡により行った。また DNA 断片化はアガロースゲル電気泳動を行い検出した。

⑤ アポトーシス分画および細胞周期各分画の計測は、ベクトンディッキンソン社 FACStar Plus を用いた。

⑥ CyclinB 1, p 34<sup>cdc2</sup>, bcl-2, p 53 などの細胞内での発現をウェスタンブロット法により計測した。定量化と解析は NIH Image ソフトウェアを用いた。

#### 【成績】

① 放射線照射による細胞増殖抑制と細胞死はおおむね 24 時間後から増大し、線量依存性であった。

② 形態学的検索および DNA ラダーの検出から、今回の実験に用いた線量の範囲では、細胞死

はアポトーシスであった。

③ 放射線照射により細胞周期は G<sub>2</sub> 停止をきたし、数時間後から DNA の断片化が検出されはじめた。

④ 放射線誘導アポトーシスは、G<sub>2</sub> 停止をオーバーライドする caffeine の添加により増強されたが、M 期を阻害する colchicine の添加では抑制されなかった。

⑤ 放射線照射後、G<sub>2</sub> から M 期への細胞周期の進行を司る cyclinB 1/cdc 2 複合体発現はカフェイン添加により抑制された。アポトーシス抑制蛋白である bcl-2 発現はカフェイン添加により抑制された。ゲノム監視蛋白である p 53 発現はカフェイン添加群、非添加群ともに増加したが、相対的にはカフェイン添加により抑制された。

#### 【考察】

① 放射線では G<sub>2</sub> 停止の後アポトーシスの誘導がみられた。チェックポイント通過前の細胞周期停止がアポトーシスの抑制に重要であり、その間に損傷 DNA の修復を行っていることがうかがわれた。

② 放射線誘導アポトーシスの caffeine による増強作用は p 53 非依存性で、さらに bcl-2 発現の低下がアポトーシス進行に関与していることが示唆された。

(竹村俊哉, 防衛医科大学校微生物学)

## *Preoperative CEA or acute phase reactants status predicts survival in gastric cancer patients treated with or without postoperative PSK immunotherapy : Retrospective analysis from a randomized study*

Vol. 7, No. 2, p109~120

Kyoji Ogoshi et al.

血清 carcinoembryonic antigen (CEA) や急性相反応物質 (APR) (immunosuppressive acidic protein (IAP),  $\alpha$  1- antichymotrypsin (ACT), acid soluble glycoproteins (ASP), sialic acid (SA)) の術前値が胃癌の術後補助療法として

の PSK 併用免疫療法の効果を予測できるかどうか検討するために 1987 年 2 月より 1989 年 11 月まで多施設共同比較対照試験 (16 施設) が行われた (Ann Cancer Res Ther 7 : 43-49, 1998). 確実に治療が実行された 653 例で PSK 治療効果を検討した。胃切除術単独は 222 例, 胃切除術+

PSK 184 例，胃切除術+化学療法 146 例，胃切除術+化学療法+PSK 101 例であった。5 年生存率では胃切除術単独と胃切除術+PSK の間で有意の差がみられたが，胃切除術+化学療法と胃切除術+化学療法+PSK との間には有意の差は認められなかった。CEA (-) 症例では胃切除術単独と胃切除術+PSK との間で有意の差がみられたが，CEA (+) 症例では胃切除術+化学療法と胃

切除術+化学療法+PSK との間で有意の差が認められた。Cox の proportional-hazard model を用いた検討では，PSK 療法は IAP, ASP, SA, CEA が異常値を呈する患者，ACT では正常値を示す患者で治療効果が期待できる。また，PSK 療法の responder のもっとも良いマーカーは術前の CEA と SA であることが判明した。

(生越喬二，東海大学医学部外科)