膵癌の DNA 量分析—特に腫瘍径および 組織学的所見との関連について

東京医科歯科大学第1外科 (主任: 遠藤光夫教授)

片 桐 一

DNA ANALYSIS OF PANCREATIC CANCER—WITH SPECIAL REFERENCE TO THE TUMOR SIZE AND THE HISTOLOGICAL FINDINGS

Hajime KATAGIRI

First Department of Surgery, Tokyo Medical
and Dental University, School of Medicine

膵癌の核 DNA 量と腫瘍径および組織学的所見との関連を検討した。対象は膵癌31例の切除原発巣のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックで、これより細胞を単離し、DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)液にて染色した後、遠沈塗抹標本を作製した。これを落射型蛍光顕微鏡を用いて測光し、DNA ヒストグラムを作製した結果、以下の成績を得た。1) T_1 の核 DNA 量は T_{2-4} とはほぼ同等であった。2) 組織学的分化度による核 DNA 量の差は認められなかった。3) n, ne, ly, v, s, rp の各(－)群は各(＋)群と同等の核 DNA 量を有していた。4) $INF\beta$ 群は $INF\gamma$ 群に比べて高い核 DNA 量を有する傾向が認められた。

索引用語: 膵癌, 核 DNA 量, 落射型顕微蛍光測光法, DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) 染色

緒 言

膵癌の予後は著しく不良だが、その原因の1つとして、小膵癌の段階からすでに強い浸潤の性格を有することがあげられている。一方、細胞核 DNA 量は多くの腫瘍で測定され、その生物学的悪性度を反映すると報告されているが、膵癌の核 DNA 量に関する報告はきわめて少ない^{1)~3)}。そこで、著者は膵癌の核 DNA 量を測定、分析し、臨床病理学的に予後との関連が論じられている腫瘍径や組織学的諸因子(組織型、リンパ節転移、膵内神経浸潤、リンパ管浸潤、静脈浸潤、周囲組織に対する浸潤増殖様式、膵前方被膜への浸潤、膵後面に接する組織への浸潤)との関連を検討した。

対象と方法

対象は東京医科歯科大学第1外科および土浦協同病院外科にて切除された膵癌のうち、保存状態良好な31例である。以下の記載はすべて日本膵臓学会編膵癌取り扱い規約第3版⁴⁾に準じた。腫瘍占居部位は、Ph(頭部)

27例、Pb(体部)2例、Pt(尾部)2例であった。切除術式はPD(膵頭十二指腸切除)23例、TP(膵全摘)4例、DP(膵尾側切除)4例であった。腫瘍径は原発巣の切除後断面の最大径により、 T_1 (0~2cm)3例、 T_2 (2.1~4cm)19例、 T_3 (4.1~6cm)6例、 T_4 (6.1cm以上)3例に4分した。組織学的リンパ節転移(n)の有無により、n(+)22例とn(－)9例に2分した。膵内神経浸潤(ne)については、 ne_0 と ne_{1-3} をそれぞれne(－)8例、ne(+)23例とした。リンパ管浸潤(ly)、静脈浸潤(v)もneと同様にly(－)2例、ly(+)29例およびv(－)6例、v(+)25例に2分した。癌の周囲組織に対する浸潤増殖様式(INF)も規約に従い、 α (癌巣が膨張性の発育を示し、周囲組織との間に一線が画されるもの)1例、 β (α と γ の間にあるもの)16例、 γ (癌巣が浸潤性に増殖し、周囲組織との境界が不明瞭なもの)14例に3分した。膵前方被膜への浸潤(s)については、so(被膜への浸潤が認められないもの)をs(－)8例、se(癌浸潤が被膜表層部に直接接しているか、またはこれを破って浸潤するもの)とsi(癌浸潤が被膜面を越えて、直接他臓器に浸潤が

<1988年6月8日受理>別刷請求先: 片桐 一

〒113 文京区湯島1-5-45 東京医科歯科大学医学部第1外科

認められるもの)をs(+)23例とした。脾後面に接する組織への浸潤(rp)も同様に、rpo(脾内に浸潤がとどまるもの)をrp(-)7例、rpe(脾後組織への浸潤が認められるもの)とrpi(他臓器への浸潤が認められるもの)をrp(+)24例とした。

組織学的検索標本はすべて、10%ホルマリン固定後パラフィン包埋された原発巣のブロックを用いた。まず、厚さ4 μ mのH.E.染色標本にて癌巣部を確認した上で、同部位より正常組織を含まない厚さ30 μ mの切片を作製した。これを脱パラフィン、水洗後、細切し、さらに37 $^{\circ}$ C、pH 1.5に調製した0.5%pepsin(Sigma 化学)液にて30分間振盪した。水洗、ナイロンメッシュ(共進理工、148 μ および62 μ)で濾過した後、藤田⁹⁾の方法に従い50ng/mlのDAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)液にて30分間染色した。こうして得られ

た単離細胞浮遊液をCytospin 2(Shandon Southern Products Ltd., Cheshire, England)にて、1,500rpmで5分間遠沈し塗抹標本を作製した。測光はErnst Leitz Wetzlar GMBH(West Germany)のMPV2タイプ落射型顕微蛍光測光装置にTAS PLUS画像解析装置を接続して行った。励起用干渉フィルター365nm、ダイクロイックミラー400nm、蛍光用干渉フィルター450nmを用い、測光用干渉フィルターとして組み合わせた(表1)。

図1に検索に供した具体例を供覧する。左はH.E.染色写真、右は同一症例より得られた単離細胞の顕微蛍光写真である。DAPIにより青白い蛍光を発する大型で不整な癌細胞核と、小型で丸いリンパ球核が識別される。

リンパ球を20個以上測光し、その蛍光値の平均を2cとした。この値をもとに、切断や重ならない癌細胞を無作為に200個以上測光して核DNA量を算出し、ヒストグラムを作製した(図2)。そして、各症例のピーク値、平均値およびポリプロイドの頻度の3つの因子を求め、腫瘍径(T)や組織学的諸因子(組織型, n, ne, ly, v, INF, s, rp)との関連を検討した。ポリプロイドの定義は4.5c以上の核DNA量を有するものとした。

統計学的有意差検定は、比較対象となる両群ともにn $\geq$ 6の場合はStudent's t testにより、どちらか一方が

表1 測定方法

- ① 10%ホルマリン固定パラフィン包埋ブロック
- ② 30 μ m切片作製
- ③ 脱パラフィン
- ④ 水洗
- ⑤ 細切
- ⑥ 0.5% pepsin液 (pH1.5, 37 $^{\circ}$ C) にて30分間振盪
- ⑦ 水洗
- ⑧ ナイロンメッシュ (148 μ , 62 μ) にて濾過
- ⑨ DAPI液 (50ng/ml) にて30分間染色
- ⑩ 遠沈塗抹標本作製
- ⑪ DAPI液にて封入
- ⑫ 落射型顕微蛍光測光

図1 左：高分化型管状腺癌のH.E.染色写真($\times$ 200)、右：同一症例より得られた単離細胞の顕微蛍光写真($\times$ 400)

図2 膵癌31例のDNA ヒストグラム

$n \leq 5$ の場合はMann-Whitney's U testにより行い、危険率0.05未満を有意とした。

成績

1) 腫瘍径 (T) との関連

T_1 を T_2 から T_4 のそれぞれと比較すると、ピーク値では T_3 に対し、平均値およびポリプロイドの頻度では T_2 、 T_3 に対し、それぞれ有意($P < 0.05$)に高値を示し、 T_4 とはいずれの因子においても有意差を認めなかった。また、 T_1 と T_{2-4} 全体との間にはいずれの因子においても有意差を認めなかった(図3)。

2) 組織学的所見との関連

a) 組織型との関連

嚢胞腺癌1例を除く他の30例を組織の分化度により2分した。すなわち、乳頭腺癌9例、高分化型管状腺癌13例、中分化型管状腺癌5例の計27例を分化型、また、低分化型管状腺癌2例、未分化癌1例の計3例を低分化型とそれぞれ定義した。ピーク値、平均値、ポリプロイドの頻度のいずれの因子においても、分化型群と低分化型群との間に有意差を認めなかった(図

図3 腫瘍径と核DNA量

4).

b) 組織学的リンパ節転移 (n) との関連

ピーク値、平均値、ポリプロイドの頻度のいずれの因子においても、 $n(+)$ 群と $n(-)$ 群との間に有意差を認めなかった(図5)。

c) 膵内神経浸潤 (ne) との関連

ピーク値、平均値、ポリプロイドの頻度のいずれの因子においても、 $ne(+)$ 群と $ne(-)$ 群との間に有意差を認めなかった(図6)。

d) リンパ管浸潤 (ly) との関連

ピーク値、平均値、ポリプロイドの頻度のいずれの因子においても、 $ly(+)$ 群と $ly(-)$ 群との間に有意差を認めなかった(図7)。

e) 静脈浸潤 (v) との関連

ピーク値、平均値、ポリプロイドの頻度のいずれの因子においても、 $v(+)$ 群と $v(-)$ 群との間に有意差を認めなかった(図8)。

図4 組織学的分化度と核 DNA 量

図5 組織学的リンパ節転移 (n) と核 DNA 量

f) 浸潤増殖様式 (INF) との関係

INF α は 1 例のみであり, 他の 2 群との比較は行い
えなかった. INF β 群と INF γ 群を比較すると, ピー
ク値, ポリプロイドの頻度では有意差を認めないが,
平均値では INF β 群が有意 ($P < 0.05$) に高値を示した
(図 9).

g) 膵前方被膜への浸潤 (s) との関係

ピーク値, 平均値, ポリプロイドの頻度のいずれの
因子においても, s (+) 群と s (-) 群との間に有意
差を認めなかった (図 10).

h) 膵後面に接する組織への浸潤 (rp) との関係

ピーク値, 平均値, ポリプロイドの頻度のいずれの
因子においても, rp (+) 群と rp (-) 群との間に有
意差を認めなかった (図 11).

考 察

膵癌の症例は増加の一途をたどっており⁸⁾, 本邦で
はその死亡率は消化器癌の約 8 % を占めるようになっ

た⁷⁾. しかしながら, その治療成績は他の消化器癌に比
較してきわめて不良であり, 全国膵癌登録調査報告で
も, 切除例 1,438 例の 5 年生存率はわずか 10 数 % にすぎ
ない. このように膵癌の予後を不良にしている原因と
して, 早期発見が困難な点に加え, 特に膵管癌におけ
る高い生物学的悪性度を指摘する報告が数多くみられ
る⁸⁾⁹⁾. 例えば, 永井ら¹⁰⁾は, 小膵癌 (T₁) でもすでに
血行性転移などの遠隔転移が 43 % に認められたとし,
膵癌の進展様式の特異性を挙げている. また, 菱沼ら¹¹⁾
は, T₁ 8 例の病理所見を検討し, n (+) が 6 例に, ne
(+) が 5 例に, s (+) が 4 例に認められたことから,
小膵癌が必ずしも早期癌とは言い難いと述べている.
以上のごとく, 膵癌の生物学的悪性度は従来, 主に病
理組織像という形態学的見地から検討されてきた. 今
回, 著者は膵癌の生物学的悪性度を検討する目的で,
核 DNA 量という客観的, 定量的指標を用い, 腫瘍径な
らびに組織学的所見との比較検討を行った.

図6 膵内神経浸潤(ne)と核DNA量

図7 リンパ管浸潤(ly)と核DNA量

周知のごとく、細胞核 DNA は遺伝子の担体で、細胞増殖の主体をなすものである。1936年、Caspersson¹²⁾が顕微分光測光法を考案し、個々の細胞核の DNA 量の測定が可能になって以来、腫瘍性病変の性格を検討する上で、種々の臓器において核 DNA 量が測定され、臨床に応用されつつある。本邦においても、胃癌、食道癌、結腸癌などの消化器固型腫瘍を対象に核 DNA 量が測定されているが、例えば、胃癌、食道癌ともに DNA ヒストグラムパターンはリンパ管浸潤の程度と強い相関を示し、特に胃癌では核 DNA 量が増すにつれて予後も不良であった¹³⁾と報告されている。また、直腸癌でも、DNA ヒストグラムのピーク値が高いほどリンパ節転移が高率であった¹⁴⁾と報告されている。他方、消化器以外でも、甲状腺癌¹⁵⁾、乳癌¹⁶⁾、卵巣癌¹⁷⁾などで、組織学的所見や予後と核 DNA 量との関連が検討され、核 DNA 量が多いものは生物学的悪性度が高いと結論づけられている。しかしながら、膵癌の核

DNA 量に関する報告はきわめて少なく¹⁾⁻³⁾、腫瘍径や組織学的所見との関連について検討したのは今回の著者の報告が最初と思われる。

今回比較検討した組織学的所見 n, s, rp に相当する肉眼的所見 N, S, Rp についてはあえて検討を行わなかったが、これは肉眼的判定と組織学的判定とが必ずしも一致しない¹⁸⁾ためである。また、肉眼的進行度 (Stage) との関連についても同様の理由で検討を控えた。なお、術後 8 年 11 カ月生存している膵体部の嚢胞腺癌 1 例を除く他の症例の大半が術後 2 年以内に死亡しているため、予後との関連についての検討は今後の症例数の増加を待つこととした。

核 DNA 量の測定方法は、顕微測光法と flow cytometry に大別される。flow cytometry は短時間に多数の細胞を測定し、客観性の高いデータが得られるという長所を有するが、固型腫瘍を対象とすると腫瘍細胞だけでなく間葉系の細胞も同時に測定してしまう

図8 静脈浸潤 (v) と核 DNA 量

図9 浸潤増殖様式 (INF) と核 DNA 量

という短所を合わせもつ。そこで、比較的間質結合織に富む膀胱癌の核 DNA 量測定には flow cytometry は不向きであると考え、著者は細胞を 1 個ずつ識別する顕微測光法を用いた。顕微測光法のなかでも、今回、落射型顕微蛍光測光法を用いたのは、本法では励起システムと測光システムが顕微鏡に対して同側にあり、励起光は測光光電管とは反対の方向に向かうため、理想的な暗視野が得られるという利点を有するからである。

測定する検体としては、薄切切片と、単離細胞の塗抹標本の 2 種類があるが、薄切切片上での測定では、核の切断や隣接細胞の重積などにより正確に細胞 1 個の核 DNA 量を表わさない可能性があるため、単離細胞の塗抹標本を用いて、切断や重なりのない核のみを測定対象とした。

また、染色液として DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)を用いた理由は、DNA に対する特異性

が高く、長時間の照射でもほとんど減衰せず、パラフィン包埋過程に由来する非特異蛍光も問題にならないなどの有利な特徴を有する⁹⁾からである。

DNA ヒストグラムの解析方法も報告者により異なる。例えば、ピークの位置によってパターン分類する報告がいくつかあるが、その名称は diploid type, near-diploid type, aneuploid type¹⁴⁾,あるいは diploid tumors, polyploid tumors, aneuploid tumors¹⁹⁾などとまちまちである。また、ピークの位置と分散幅による分類でも、diploid pattern, aneuploid pattern, mosaic pattern の 3 つに分類する報告²⁰⁾や、low ploidy, high ploidy に 2 分した上で、さらに 4 つの亜型に分類している報告²¹⁾もある。他方、パターン分類を行わずに、いくつかのパラメーターを用いて検討している報告もある。例えば、2.5c 以上および 5c 以上の細胞の頻度の 2 つを用いたり¹⁶⁾, ピーク値, 分散幅, 平均値, over 3c の出現率の 4 つのパラメーターを用いて

図10 膵前方被膜への浸潤(s)と核DNA量

図11 膵後面に接する組織への浸潤(rp)と核DNA量

解析を行っている報告²²⁾などがある。このように、施設・研究者により、DNA ヒストグラムの解析あるいは分類の方法は個々別々であり、diploid, aneuploidなどの名称の定義も統一されていないのが現状である。著者は今回得られた31例のヒストグラムを、明瞭に3つないし4つのパターンに分類するには無理があると判断し、核DNAの“量”を表わすパラメーターとして、ピーク値、平均値、ポリプロイドの頻度の3つを用いて腫瘍径や組織学的所見との関連を検討した。ポリプロイドの定義も報告者により異なるが、著者は、4.5c以上の核DNA量を有するものをポリプロイドと定義した。

1) 腫瘍径との関連について

胃癌²⁰⁾²³⁾、食道癌²⁴⁾などの管腔臓器に発生する腫瘍では深達度が増すに従い、また、乳癌²⁵⁾、甲状腺癌²⁶⁾などの実質臓器に発生する腫瘍でも腫瘍径が増大するに従い、核DNA量が増加すると報告されている。しかし

ながら、膵癌ではT₁とT₂₋₄の核DNA量がほぼ同等であるという結果が得られた。この結果に関して、現時点では2通りの解釈が考えられる。その第1は、膵癌では小膵癌の段階で進行癌と同等の核DNA量を有しており、これが小膵癌といえども強い浸潤傾向を有するという臨床病理学的所見の裏付けとなっているという解釈である。第2は、膵癌は浸潤硬化性に増殖する例が多く結合組織に富むため、中心部と周辺部で個々の細胞に対する間質環境はミクロのレベルでは差がなく、その結果腫瘍が増大しても個々の細胞の核DNA量には影響が及ばないからではないかという解釈である。第1の解釈は、換言すれば“膵癌は小さい段階から高い生物学的悪性度を有する”というもののだが、この点をより客観的に検討するには、発生母地が近接するにもかかわらず後が大きく異なる腫瘍（例えば膵頭部癌と乳頭部癌および下部胆管癌）の核DNA量を腫瘍径を揃えて比較することが有効であろう。また、

第2の解釈に対しては、腫瘍の中心部と周辺部の核DNA量を比較することによって、より詳細な評価が行えると思われる。

2) 組織学的所見との関連について

甲状腺癌¹⁵⁾²⁶⁾、腎癌²⁷⁾、乳癌²⁵⁾、卵巣癌²⁸⁾などで、癌の分化度が低下すると核DNA量が増加すると報告されている。しかし、膵癌では分化型群も低分化型群と同等の核DNA量を有していた。また、胃癌²⁰⁾²³⁾、食道癌²¹⁾²⁴⁾²⁹⁾などで、n, ly, vなどの各組織学的因子の(+)群は(-)群に比べて高い核DNA量を有していたと報告されているが、膵癌では、n, ne, ly, vの各(-)群は各(+)群と同等の核DNA量を有していた。INFに関して、胃癌²⁰⁾ではINF γ 群はINF α 群に比べて高い核DNA量を有していたと報告されているが、膵癌では、INF β 群の方がむしろINF γ 群よりも高い核DNA量を有する傾向が認められた。

上記のごとく、膵癌原発巣の核DNA量は、組織の分化度やn, ne, ly, vの有無、INFの程度と相関しないという結果が得られた。この結果に関して、現時点では2通りの解釈が考えられる。第1は、膵癌では他の癌と異なり、各組織学的因子が(-)の、いわゆる早期の段階で進行癌と同等の核DNA量を有しており、膵癌の高い生物学的悪性度を裏付けているという解釈である。これは、腫瘍径との関連に対する第1の解釈と同様のもので、この点をより客観的に評価するには、例えば、膵頭部癌と乳頭部癌および下部胆管癌の核DNA量を、各組織学的因子を揃えて比較することが有効であろう。第2の解釈は、切除された段階(すなわち発生した時点より増殖をくり返して臨床的に診断されるまでに発育した段階)での癌組織を構成する個々の癌細胞にはそれぞれ特性があると考えられ(例えば、リンパ管内に浸潤しやすいか否か)、原発巣全体の核DNA量を“mass survey”しても、必ずしも各組織学的因子の有無が反映されないのではないかというものである。そこで、例えば、ly, vに結びつく終末像であるリンパ節転移巣や血行性転移巣(代表的には肝転移巣)における核DNA量を測定し、原発巣と比較することにより、組織学的所見との関連についてより詳細な評価が行えると考えている。また、比較する両群間の症例数が一部(組織型やlyとの関連についての検討)において大きく異なるために有意差がでなかったという可能性もあげられよう。

s, rpについても、それぞれの(-)群は(+)群と同等の核DNA量を有するという結果が得られた。膵

という限られた大きさの臓器に発生した腫瘍が増大すれば、膵前方被膜や膵後面に接する組織へ浸潤するのは自然の経過と考えられ、s, rpはTとある程度相関すると思われる。したがって、s, rpの各(-)群が各(+)群と同等の核DNA量を有するという結果は、T₁とT₂₋₄がほぼ同等の核DNA量を有するという結果と軌を一にすると考えられる。

結 論

1) 膵癌31例の切除原発巣のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより細胞を単離し、DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole)液にて染色した後、遠沈塗抹標本を作製した。これを落射型蛍光顕微鏡を用いて測光し、DNAヒストグラムを作製した。そして、核DNA量と腫瘍径および組織学的所見との関連を検討した。

2) T₁の核DNA量はT₂₋₄とほぼ同等であった。

3) 組織学的分化度による核DNA量の差は認められなかった。

4) n, ne, ly, v, s, rpの各(-)群は各(+)群と同等の核DNA量を有していた。

5) INF β 群はINF γ 群に比べて高い核DNA量を有する傾向が認められた。

稿を終えるにあたり、御助言御校閲を賜りました遠藤光夫教授に深甚なる謝意を表します。また、御指導御校閲を賜りました春日 孟教授(本学病理部、第2病理学教室)に厚く御礼申し上げます。さらに、直接御指導を頂いた鶴田耕二、岡安 勲、桑井康宏、大谷啓一の諸先生方、および標本を提供して下さった土浦協同病院(登内 真院長)外科岡本浩平先生、同病院検査室病理部の諸兄に深謝致します。

本論文の一部は第45, 46回日本癌学会総会、日本膵臓学会第18回年次大会において発表した。

文 献

- 1) Leuchtenberger C, Leuchtenberger R, Davis AM: A microspectrophotometric study of the desoxyribose nucleic acid (DNA) content in cells of normal and malignant human tissues. *Am J Pathol* 30: 65-85, 1954
- 2) Böhm N, Sandritter W: DNA in human tumors: A cytophotometric study. *Curr Top Pathol* 60: 151-219, 1975
- 3) Kozuka S, Nagasawa S, Tsubone M et al: DNA content of pancreatic duct hyperplasia and carcinoma. *Gann* 73: 119-123, 1982
- 4) 日本膵臓学会編: 膵癌取扱い規約(第3版)。金原出版、東京、1986
- 5) 藤田哲也: 蛍光顕微測光法。日本組織細胞化学会

- 編. 組織細胞化学, 学際企画, 東京, 1986, p261—276
- 6) Schouten JT: Operative therapy for pancreatic carcinoma. *Am J Surg* 151: 626—630, 1986
 - 7) 尾崎秀雄, 中村耕三, 吉森正喜ほか: 膵癌. *日臨* 41: 1358—1368, 1983
 - 8) 宮下 正, 真辺忠夫, 鈴木 敏ほか: 拡大膵亜全摘術. *肝胆膵* 12: 47—53, 1986
 - 9) 尾崎秀雄, 木下 平, 辻 一弥: 膵体尾部癌に対する膵尾側切除術. *肝胆膵* 15: 534—537, 1987
 - 10) 永井秀雄, 黒田 慧, 和田祥之ほか: 膵癌根治手術の条件. 主として小膵癌 (T₁) の組織学的進展様式の検討から. *胆と膵* 4: 1091—1104, 1983
 - 11) 菱沼正一, 尾形佳郎, 大山廉平ほか: 小膵癌とその外科治療. *胆と膵* 4: 1077—1083, 1983
 - 12) Caspersson T: Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. *Scand Arch Physiol* 73(Suppl. 8): 1—151, 1936
 - 13) 三戸康郎, 平塚隆三, 土器辰雄: 細胞核内 DNA 分析による癌の悪性度分類に関する研究—胃および食道癌を対象として—. *日消外会誌* 15: 531—543, 1982
 - 14) 西 律, 岡島邦雄, 富士原彰ほか: 核 DNA 量よりみた直腸癌のリンパ節転移の検討. *日臨外医会誌* 47: 1396—1402, 1986
 - 15) 吉田 明: 甲状腺癌における核 DNA 量と悪性度についての研究. *日外会誌* 85: 1261—1272, 1984
 - 16) Erhardt K, Auer G, Fallenius A et al: Prognostic significance of nuclear DNA analysis in histological sections in mammary carcinoma. *Am J Clin Oncol* 9: 117—125, 1986
 - 17) Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW et al: Influence of cellular DNA content on survival in advanced ovarian cancer. *Cancer Res* 44: 397—400, 1984
 - 18) 和田祥之, 黒田 慧, 森岡恭彦: 膵癌の診断と治療—最近の進歩—膵癌の発生と組織学的進展様式. *消外セミナー* 25: 31—50, 1986
 - 19) Bondeson L, Azabedo E, Bondeson A et al: Nuclear DNA content and behavior of oxyphil thyroid tumors. *Cancer* 58: 672—675, 1986
 - 20) 三樹 忍: ヒト胃癌における予後判定因子の検討—特に核 DNA 量と CEA 産生の意義について—. *日臨外医会誌* 47: 1377—1388, 1986
 - 21) Sugimachi K, Koga Y, Mori M et al: Comparative data on cytophotometric DNA in malignant lesions of the esophagus in the Chinese and Japanese. *Cancer* 59: 1947—1950, 1987
 - 22) 本多栄一: 担癌大腸粘膜の組織 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
 - 23) 芳野裕明, 曾和融生, 蔡 榮若ほか: 核 DNA 蛍光測定による胃癌の検討. *日消病会誌* 83: 1960—1967, 1986
 - 24) Matsuura H, Sugimachi K, Ueo H et al: Malignant potentiality of squamous cell carcinoma of the esophagus predictable by DNA analysis. *Cancer* 57: 1810—1814, 1986
 - 25) Dowle CS, Owainati A, Robins A et al: Prognostic significance of the DNA content of human breast cancer. *Br J Surg* 74: 133—136, 1987
 - 26) Joensuu H, Klemi P, Eerola E et al: Influence of cellular DNA content on survival in differentiated thyroid cancer. *Cancer* 58: 2462—2467, 1986
 - 27) Ljungberg B, Stenling R, Roos G et al: DNA content between primary tumors and metastases. *Cancer* 57: 2346—2350, 1986
 - 28) Rodenburg CJ, Cornelisse CJ, Heintz PAM et al: Tumor ploidy as a major prognostic factor in advanced ovarian cancer. *Cancer* 59: 317—323, 1987
 - 29) 小関和士, 栗谷義樹, 豊田統夫ほか: DNA Histogram からみた食道早期癌および食道表在癌の検討. *日外会誌* 85: 548—554, 1984