

Title	Clinical Significance of Genetic Staging using K-ras Gene Mutations in Patients with Pancreatic Adenocarcinoma
Author(s)	山田, 晃正
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42785">https://hdl.handle.net/11094/42785</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	山田 晃 正
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 15876 号
学位授与年月日	平成13年2月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Clinical Significance of Genetic Staging using K-ras Gene Mutations in Patients with Pancreatic Adenocarcinoma (膵癌患者における K-ras 遺伝子点突然変異を用いた進展度診断の臨床的意義)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人  (副査) 教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

膵癌は外科的に切除可能であっても、累積5年生存率が約18% (日本膵臓学会・膵癌登録集計結果、1997) と極めて予後不良である。また、比較的予後良好とされるリンパ節転移陰性例でも、早期にリンパ節などの局所再発をきたし、従来の組織学的進行度と矛盾する症例もしばしば認められる。本研究は、K-ras 遺伝子コドン12点突然変異を癌の分子生物学的マーカーとして用い、その膵癌進展度診断における有用性を検討した。

#### 【対象・方法】

対象は1994年以降3年間に、治癒切除が施行された膵癌25症例。男性17例、女性8例、年齢は52-77歳 (平均66歳) であった。部位は膵頭部癌18例、膵体尾部癌7例で、Stage (TNM) は各々Stage II : 11例、III : 5例、IVA : 9例であった。

切除原発巣組織およびリンパ節は二分し、一方はHE染色による組織学的検索を、他方は凍結保存後DNA抽出を行った。末梢血標本は切除可能9例および切除不能6例より採取し、血漿分離後DNA抽出を行った。PCRはK-ras 遺伝子コドン12の変異塩基配列に特異的な primer を設定した MASA (Mutant Allele Specific Amplification) 法を用い、電気泳動により変異を検出した。

#### 【成績】

(1) 原発巣 K-ras 変異 : 膵癌原発巣における K-ras 変異は18例 (72%) に認められ、その内8例は K-ras 遺伝子コドン12の第1塩基、10例は第2塩基の変異であった。K-ras 変異の有無と臨床病理学的因子 (n・ly・v等) との関連性は認めなかった。

(2) リンパ節 K-ras 変異 : 原発巣での K-ras 変異陽性18例の周囲リンパ節に対して K-ras 変異の検索を行った (計440個・平均24.4個/症例)。全リンパ節中21個 (4.8%) は組織学的に転移陽性であり、これらは同時に K-ras 変異も認めた。組織学的に転移陰性であったリンパ節419個中35個 (8.4%) は K-ras 変異陽性であった。原発巣での K-ras 変異陽性18例中6例は組織学的・分子生物学的共にリンパ節転移陽性であった。残りの12例は組織学的にはリンパ節転移陰性であったが、うち7例は K-ras 変異陽性であり、分子生物学的には転移が疑われた。K-ras 変異を考慮した staging では Stage II の8例中2例が Stage III、2例が Stage IV に、Stage III の4例中2例が Stage IV となり、計6例において進行度が増加した。

(3) 術後生存率：組織学的なリンパ節転移陽性例 (n=6) と陰性例 (n=12) の生存率に有意差は認めなかった ( $p=0.95$ )。一方、分子生物学的なリンパ節転移陽性例 (n=13) と陰性例 (n=5) の生存率では有意差を認めた ( $p<0.01$ )。また、分子生物学的リンパ節転移陰性例では、観察期間中死亡例を認めなかった。分子生物学的なリンパ節転移陽性13例を、腓周囲リンパ節転移群 (Group I : n=6) と遠隔 (腓周囲以遠) リンパ節転移群 (Group II : n=7) に分け比較すると、Group II が Group I に比し有意に予後不良であった ( $p=0.02$ )。

(4) 血漿中 K-*ras* 変異：K-*ras* 変異陽性原発巣の15例中9例 (60%) で原発巣と同塩基の K-*ras* 変異が血漿において検出された。血漿中の K-*ras* 変異陽性例 (n=9) と陰性例 (n=6) との背景因子の比較では、陽性例は陰性例に比し有意に腫瘍径が大きかった ( $p=0.04$ )。血漿中の K-*ras* 変異が陰性で原発巣が切除された4例中3例は観察期間中無再発であったが、陽性例では4症例 (80%) に術後遠隔転移を認めた。

#### 【総括】

K-*ras* 遺伝子変異を利用した腓癌の進展度診断や血漿中 K-*ras* 遺伝子変異の検索は、従来の組織学的診断に比べてより再発や予後の予測に有用であることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

腓癌は極めて予後不良であり、現在でも、外科的切除が唯一根治を得る手段とされている。しかし、従来の診断方法で根治切除と考えられる症例においても、早期再発をきたすことが少なくない。そこで、術前には切除の可否をできる限り非侵襲的に判断し、切除の際には至適切切除範囲を決定したり、術後の補助療法の要否を判断する新しい手段が必要となってきた。本研究では、腓癌で高頻度に認められる K-*ras* 遺伝子コドン12における突然変異を分子生物学的マーカーとして用い、血漿中 DNA および摘出リンパ節を材料として、腓癌進展度診断を行い、その臨床応用の可能性を検討した。

その結果、(1) 局所進展に関しては、組織学的に診断し得なかった微小リンパ節転移が認められ、それに基づく進行度診断は、よりの確に予後を反映する。(2) 分子生物学的なリンパ節転移が腓周囲以遠におよぶ症例は極めて予後不良である。(3) 術前血漿中 DNA より変異が検出された症例は (遠隔転移) 再発を来しやすく、根治切除例でも再発のハイリスク・グループである。以上のことが明らかになった。

従って、本研究は腓癌における再発ハイリスク・グループの選別や、治療 (切除) 効果の正確な把握を可能にし、腓癌治療戦略の決定に有用であると評価でき、博士 (医学) の学位に値するものと認める。