The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Genetic Detection of Lymph Node Micrometastases in Patients with Gastric Carcinoma by Multiple-Marker Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Assay
Author(s)	岡田, 善裕
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44747
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【62】

氏　　名	岡　田　善　裕（おか　だ　よし　ひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　18188　号
学位授与年月日	平成15年10月28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	Genetic Detection of Lymph Node Micrometastases in Patients with Gastric Carcinoma by Multiple-Marker Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Assay （分子生物学的手法を用いた胃癌郭清リンパ節微小転移の検出）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　門田　守人 （副査） 教　授　野口眞三郎　　教　授　青笹　克之

論　文　内　容　の　要　旨

【目　的】

胃癌においてリンパ節転移は、重要な予後予測因子の1つである。一方、胃癌にて治癒切除を行ったにもかかわらず、術後約20%の再発死亡例が存在することより従来の病理組織学的診断法では検出し得ない微小リンパ節転移の存在が示唆される。

本研究では、Multiple-marker RT-PCR（Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction）法を用いた微小リンパ節転移検出法を確立し、胃癌手術症例における郭清リンパ節内微小転移の実態と、解剖学的な分布状況を検討した。さらに、対象患者の予後を解析し、微小リンパ節転移の臨床的意義についても検討した。

【対象と方法】

1998年8月から1999年7月までに、当科において切除術を行った胃癌患者28例の郭清リンパ節435個を半割し、一方でRT-PCR法による遺伝子診断を、他方でH-E染色による従来の病理組織学的な検索を行った。胃癌組織及び胃癌細胞株で高発現を示し、正常リンパ節では発現の認められない遺伝子（CEA、Cytokeratin-20及びMAGE-3）を分子マーカーとして用い、1個以上のマーカーで陽性の場合を遺伝子診断陽性とした。さらに遺伝子診断によるUp-stage例について、遺伝子診断陽性リンパ節を、抗ヒトCEA抗体と抗ヒトCytokeratin抗体（AE1/AE3）を用いて免疫組織化学的に検証した。

【成　績】

全28症例の435個のリンパ節中、14例（50%）69個（15.9%）にRT-PCR陽性リンパ節を認め、組織学的転移陰性リンパ節414個のうち50個（12.1%）はRT-PCR陽性で、微小転移の存在が示唆された。

非治癒切除例2例を除いた26例の検討では、12例（46.2%）に遺伝子診断陽性リンパ節（深達度M症例で11例中2例、SM症例で6例中3例、MP症例で3例中2例、SS症例で4例中3例、SE例で2例中2例）を認め、そのうち10例は遺伝子レベルでstage-upした。この10例の遺伝子診断陽性リンパ節計31個を免疫組織化学的に検証したところ、免疫染色陽性細胞を孤立性に認めたリンパ節6個と免疫染色陽性細胞の集合体（cluster）の形成を認めたリンパ節2個が存在した。

術後のfollowにて遺伝子診断陽性の治癒切除例12例中2例に1年以内に各々肺、リンパ節に再発を認めた。一方、

遺伝子診断陰性の 14 例には xx ケ月で再発は認めなかった。

遺伝子診断陽性 12 例について、郭清リンパ節の遺伝子診断、免疫染色による微小転移診断結果と主腫瘍との解剖学的位置関係を図示（マッピング）し検討した結果、これらは代表的な３つのパターンに分類することができた。

1)微小転移リンパ節が主腫瘍近傍およびそれにつながる主な血管沿いに想定されるリンパ流の経路上にあってかつⅠ群に限定されて存在するもの。

2)微小転移リンパ節が各主腫瘍の部位によって想定されるリンパ流の経路上にあってかつⅡ群にまで進展を認めるもの。

3)微小転移リンパ節が各主腫瘍の部位によって想定されるリンパ流の経路外、またⅡ群より遠位に存在するもので広範囲な癌の進展が示唆されるもの。

3)に分類された症例は組織的にはリンパ節転移陰性（pN0）にもかかわらず、術後早期に遠隔臓器に再発を認めており、微小リンパ節転移が予後に対して重要な意味を持っていることが示唆された。

【総括】

胃癌細胞検出に有効な Multiple-marker RT-PCR 法を確立し、リンパ節内微小転移の検出を行った。組織学的転移陰性リンパ節でも高率に RT-PCR 陽性リンパ節を認め、治癒切除例の 38%に遺伝子レベルで新たに stage up する症例を認めた。

検出された微小転移リンパ節の解剖学的な分布状態の検討において、微小リンパ節転移が、想定されるリンパ流の経路外またはⅡ群より遠位に存在するものは手術時すでに広範囲な癌の進展が示唆された。このような症例では現在行われている手術術式のリンパ節郭清でも微小転移リンパ節が郭清されていない可能性が高く、組織学的にはリンパ節転移陰性でも、予後不良群として術後慎重な follow と補助療法等が必要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

根治手術が行われた場合でも癌の術後再発がしばしば認められるが、このような症例では、遠隔臓器やリンパ節に手術の時点ですでに微量の癌細胞が転移、着床していたと考えられるようになってきた。近年、微小転移の検出に関する種々の検討がなされているが、これまで、胃癌微小転移の検出及びその臨床的意義についての詳細な報告はない。そこで本研究では、まず胃癌微小転移検出に有効な Multiple-marker RT-PCR（Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction）法を確立し、この手法を用いて胃癌リンパ節内微小転移の検出を行い、これにより正確な遺伝子レベルの癌進展度診断を行うことを目的とした。さらにそれに基づいた癌治療を実践することを念頭に置きその臨床的意義について検討を加えた。

まずリンパ節内微小転移の検出に有効な Multiple-marker RT-PCR 法を確立した。つまり PCR の感度を正常組織では発現の認められない程度に設定し、胃癌細胞の検出に有効な３種の分子マーカーを用いて RT-PCR assay を行い、そのいずれかのマーカーの発現を認めた場合微小転移陽性とすることで感度、特異性の両面の改善を計った。この手法を用いてリンパ節内微小転移の検出を行った結果、組織学的転移陰性リンパ節でも高率に微小転移リンパ節を認め、遺伝子レベルで新たに stage up する症例を多く認めた。

検出された微小転移が、想定されるリンパ流の経路外または遠位のリンパ節にまで広範に存在する症例では早期再発を認め、手術時すでに広範囲な癌の進展が示唆された。このような症例では現在行われている手術術式のリンパ節郭清でも微小転移リンパ節が郭清されていない可能性が高く、組織学的にはリンパ節転移陰性でも、予後不良群として術後慎重な follow と補助療法等が必要であると考えられた。

この研究により遺伝子レベルの転移リンパ節の解剖学的な分布状況を検討することにより正確な癌進展度診断が可能となり、再発の予測あるいは補助療法の適応決定に役立つことが示された。よって、この研究結果は外科診断学の発展に大きく寄与することが期待されるものであり、博士の学位に値するものと認める。