



| | |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | Diagnosis of intrahepatic metastasis and multicentric carcinogenesis by microsatellite loss of heterozygosity in patients with multiple and recurrent hepatocellular carcinomas |
| Author(s) | 森本, 修邦 |
| Citation | 大阪大学, 2003, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45227 |
| 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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

| | |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名 | 森 本 修 邦 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 18107 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 15 年 9 月 30 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻 |
| 学 位 論 文 名 | Diagnosis of intrahepatic metastasis and multicentric carcinogenesis by microsatellite loss of heterozygosity in patients with multiple and recurrent hepatocellular carcinomas (マイクロサテライトマーカーを用いた肝細胞癌再発形式の検討) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 林 紀 夫 教 授 青 笹 克 之 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

肝細胞癌は日本、アジア諸国のみならず欧米においても、きわめて予後不良の悪性腫瘍である。その理由の一つとして、手術を含めた種々の局所治療を試みたとしても、高頻度に肝内再発することが挙げられる。この再発は、肝内転移（以下 IM）と多中心性発生（以下 MC）に分類され、再発時の治療方針決定においては、この再発形式の正確な診断が重要な意味を持つ。従来その診断は、画像所見や腫瘍マーカーさらには病理学的検索によって行われてきたが、それだけでは鑑別困難な症例が存在する。そこで、本研究においては、この肝内再発形式の診断をより正確にすることを目的として、肝細胞癌で高頻度に認められる Loss of heterozygosity（以下 LOH）のパターンを比較することにより再発形式の分類を試み、従来の臨床診断と比較検討した。

【方法】

大阪大学消化器外科および大阪府立成人病センター外科における肝細胞癌切除標本 37 例を対象とした。腫瘍内の heterogeneity を検討するために同一腫瘍内より無作為に複数カ所 sampling した 7 例（A 群）、同時性多発腫瘍 9 例（B 群）、肝細胞癌再切除例 21 例（C 群）の 3 群に分けて検討した。これらの癌組織と非癌部肝組織の凍結標本より DNA 抽出を行い、これまでに肝細胞癌において LOH が報告されている 1p36 (D1S233, D1S225)、4q24 (D4S1615)、4q35 (D4S1554)、8p22 (D8S261)、8p23 (D8S277)、8q23.3 (D8S539)、9p21 (D9S156)、13q14 (D13S284, D13S133)、16q24 (D16S515)、16q12 (D16S419)、17p13 (D17S578, D17S513)、22q13 (D22S445) の計 15 種類の microsatellite marker を用いて LOH の解析を行った。

【結果】

1. LOH はすべてのマーカーで認められ、その頻度は 15% (D8S539) から最大 48% (D8S261) であった。
2. A 群では、全例に LOH を認め、そのうち 3 例は単一腫瘍内で同一の LOH パターンを示し、4 例は異なった LOH パターンを示した。その異なった LOH パターンを示した marker 数の、情報のあった全体の marker 数に対する割

合 (%) は 9.1% から最大 30% であった。最も異なった LOH パターン (30%) を示した症例は、肉眼的には nodule-in-nodule type で組織学的に高分化と中分化の混在する腫瘍であった。これらの結果をふまえて、B、C 群の解析では、同一パターンを示したものを IM 群に、30% 以上の差を示したものを MC 群に、0~30% は判定不能とした。

3. B 群では全例に LOH を認め、遺伝子診断した 4 例 (IM 2 例、MC 2 例) はすべて臨床診断と一致し、5 例が判定不能であった。これらの症例は臨床診断では 4 例が MC 再発と 1 例が IM 再発と診断された。IM 例では最大 5 カ所で LOH が一致し、MC 例では個々の腫瘍で最大 5 カ所 (38.5%) で異なった LOH パターンを示した。

4. C 群では 19 例 (90%) LOH を認め、5 例が IM 群に、10 例が MC 群に、4 例が判定不能であった。IM 群では最大 7 カ所で LOH が一致し、MC 群では最大 8 カ所 (80%) で異なった LOH パターンを示した。判定不能例は最大 3 カ所 (25%) で異なった LOH パターンを示し、臨床診断では 3 例が IM 再発で、1 例が MC 再発であった。遺伝子診断と臨床診断が一致したのは 10 例 (IM 5 例、MC 5 例) で、IM 再発に関しては全例臨床診断と一致したが、MC 再発に関しては 5 例が臨床診断と異なり、これらの症例は臨床診断では 3 例が IM 再発で 2 例が判定不能であった。

5. C 群において、遺伝子診断による IM 群と MC 群の累積生存率を比較すると MC 群よりも有意 ($p < 0.01$) に IM 群の予後が悪かったが、臨床診断では両群に差を認めなかった。このことにより、遺伝子診断を加えることにより、臨床診断だけでは判別不能な症例での再発形式を判定しうる可能性が示された。

【総括】

肝細胞癌症例における LOH パターンの比較による解析法が、肝細胞癌切除後の再発形式の鑑別診断に有効である可能性が示された。今後は、この分子生物学的な解析を加味することにより、その鑑別診断の精度が上昇し、肝細胞癌再発に対する治療方針の一助となりうるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

肝細胞癌切除後の肝内再発は、肝内転移 (以下 IM) と多中心性発生 (以下 MC) に分類され、再発時の治療方針決定においては、この再発形式の正確な診断が重要な意味を持つ。従来その診断は、画像所見や腫瘍マーカーさらには病理学的検索によって行われてきたが、それだけでは鑑別困難な症例が存在する。そこで、本研究においては、この肝内再発形式診断をより正確にすることを目的として、肝細胞癌では高頻度に Loss of heterozygosity (以下 LOH) が認められることを応用し、肝細胞癌切除標本を用いて、計 15 種類の microsatellite marker を用いた LOH のパターンを比較することにより再発形式の分類を試み、従来の臨床診断と比較検討した。肝細胞癌切除標本 37 例を対象とし、腫瘍内の heterogeneity を検討するために同一腫瘍内より無作為に複数カ所 sampling した 7 例 (A 群)、同時性多発腫瘍 9 例 (B 群)、肝細胞癌再切除例 21 例 (C 群) の 3 群に分けて検討した。A 群では、全例に LOH を認め、そのうち 3 例は単一腫瘍内で同一の LOH パターンを示し、4 例は異なった LOH パターンを示した。その異なった LOH パターンを示した marker 数の、情報のあった全体の marker 数に対する割合 (%) は 9.1% から最大 30% であった。これらの結果をふまえて、B、C 群の解析では、同一パターンを示したものを IM 群に、30% 以上の差を示したものを MC 群に、0~30% は判定不能とした。B 群では全例に LOH を認め、遺伝子診断した 4 例 (IM 2 例、MC 2 例) はすべて臨床診断と一致し、5 例が判定不能であった。C 群では 19 例 (90%) に LOH を認め、5 例が IM 群に、10 例が MC 群に、4 例が判定不能であった。遺伝子診断と臨床診断が一致したのは 10 例 (IM 5 例、MC 5 例) で、IM 再発に関しては全例臨床診断と一致したが、MC 再発に関しては 5 例が臨床診断と異なり、これらの症例は臨床診断では 3 例が IM 再発で 2 例が判定不能であった。遺伝子診断による IM 群と MC 群の累積生存率を比較すると MC 群よりも有意に IM 群の予後が悪かったが、臨床診断では両群に差を認めなかった。このことより、遺伝子診断により臨床診断だけでは判別不能な症例における真の再発形式を判定しうる可能性が示され、以上の研究は学位の授与に値するものと考えられる。