The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Real-time rapid reverse transcriptase-polymerase chain reaction for intraoperative diagnosis of lymph node micrometastasis : Clinical application for cervical lymph node dissection in esophageal cancers
Author(s)	吉岡, 節子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45507
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

【12】

氏　　名	吉　岡　節　子（よし おか せつ こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８９４３　号
学位授与年月日	平成 16 年 6 月 23 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	Real-time rapid reverse transcriptase-polymerase chain reaction for intraoperative diagnosis of lymph node micrometastasis : Clinical application for cervical lymph node dissection in esophageal cancers **（術中迅速遺伝子診断の臨床応用：食道癌頸部リンパ節郭清適応決定への有用性の検討）**
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〕

胸部食道癌は胸部、腹部、頸郡と広範囲にリンパ節転移をきたしやすい悪性度の高い疾患であり、胸腹部リンパ節に加えて、頸部リンパ節を郭清する３領域郭清が推奨されている。しかし、頸部リンパ節郭清の追加は、術後の嚥下機能の低下や誤嚥性肺炎の増加等、侵襲的な一面もあるため、頸部リンパ節郭清の適応基準を明らかにすることが臨床上必要である。

反回神経周囲リンパ節（以下 106 recLN）は解剖学的に縦隔と頸部の境界に位置することより、胸部食道癌が頸部リンパ節に転移する場合の sentinel node（見張りリンパ節）の役割を有する可能性がある。我々は以前、術中迅速病理標本および食道癌切除標本の病理学的検討を行い胸部中下部食道癌において 106 recLN の転移状況が頸部 LN 転移と相関すること（p＝0.0002）を報告した。

しかし、術中病理診断による 106 recLN 転移陰性例の 11.6%に頸部リンパ節転移を認めたため、さらに感度の高い転移診断法の開発が必要であると考えた。

そこで、従来の病理診断では検出不可能である微小転移を術中診断することを目的に、LightCycler を用いた定量的 PCR 法による術中迅速微小転移診断法を確立し、その臨床上の有用性について検討した。

〔方法と成績〕

術中迅速診断法の確立：RNA マーカーとして、SCC、CEA、MAGE-3 の３遺伝子について、正常リンパ節（非癌患者より摘出したリンパ節）、食道癌細胞株、及び食道癌切除標本における発現を LightCycler（Roche Diagnostics による定量的 RT-PCR 法により検討した。

正常リンパ節では３遺伝子とも発現を認めず、食道癌細胞株（TE1、TE2、TE3、TE8、TE10、TT）では高頻度に発現を認めた（SCC 6/6、CEA 5/6、MAGE-3　5/6）。また食道癌切除標本においても３遺伝子は高頻度に発現した（SCC 10/12、CEA 12/12、MAGE-3　7/12）。この３遺伝子に housekeeping 遺伝子 PBGD を加え LightCycler による定量的 RT-PCR を行った。LightCycler を用いることにより迅速 PCR が可能となり、遺伝子診断全行程の所

要時間は約2.5時間に短縮され、術中迅速診断が可能となった。

術中迅速診断の臨床応用：一期的根治切除術を施行した胸部中下部食道癌 50 症例を対象とした。右開胸操作開始直後に採取した106 recLNを半割し、迅速病理診断（HE染色法）および迅速遺伝子診断を行った。判定は少なくとも1マーカーが陽性になるものを転移ありとした。

106 recLN術中迅速病理診断（以下病理診断、HE）と迅速遺伝子診断（以下遺伝子診断、PCR）の結果と頸部リンパ節転移、および頸部リンパ節再発の状況をretrospectiveに検討した。50例中、HE+/PCR+　9例、HE+/PCR-　1例、HE-/PCR+　15例、HE-/PCR-　25例で、病理診断陽性率は20%（10/50）、遺伝子診断陽性率は48%（24/50）であった。頸部リンパ節郭清は22例（HE+　10例、HE-/PCR+　6例、HE-/PCR-　6例）に行い9例に頸部LN転移を認めた。転移のあった9例中、7例はHE+/PCR+であったが、2例はHE-/PCR+であった。また、HE-/PCR+で頸部リンパ節郭清を省略した9例中2例に頸部リンパ節再発を認めた。一方、HE-/PCR-例には頸部リンパ節転移、および頸部リンパ節再発を認めなかった。

〔総　括〕

遺伝子診断を併用した106 recLN術中迅速診断において、病理診断陰性であるが遺伝子診断陽性であった症例の一部に頸部リンパ節転移や頸部再発を認めた。一方、病理診断、遺伝子診断とも陰性であった症例には、頸部リンパ節転移、頸部再発を全く認めなかった。

以上より、胸部中下部食道癌において106 recLNの術中迅速遺伝子診断を付加することにより、頸部リンパ節郭清の適応決定が可能となることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

胸部食道癌は広範囲にリンパ節転移をきたす悪性度の高い疾患である。そのため、根治性を重視した頸胸腹部リンパ節郭清、すなわち3領域郭清が推奨されているが、未だ侵襲的な頸部郭清の適応基準は明らかになっていない。反回神経周囲リンパ節（106 recLN）は解剖学的に縦隔と頸部の境界に位置し、縦郭から頸部に向かうリンパ流の通過点となる可能性がある。

当科で行った病理診断によるretrospectiveな検討では、胸部中下部食道癌における106 recLNの転移状況は頸部リンパ節転移と相関した。その一方で106 recLN転移陰性例に頸部リンパ節転移を認めたものもあり、病理診断による106 recLN転移陰性は頸部郭清省略の指標にするには不十分と考えられた。そこで、さらに迅速転移診断法の感度を向上させることを目的に定量的 RT-PCR 法による術中迅速遺伝子診断法を確立と臨床上の有用性について検討した。

術中応用可能な迅速遺伝子診断法を確立するため、リアルタイムモニタリング機能を特徴としたLightCyclerを用いてPCRの迅速性を向上させた。また食道癌に高頻度な発現を認める3遺伝子SCC、CEA、MAGE-3をmultiple markerとして用いることで検出感度も向上させることができた。

次に、確立した術中遺伝子診断を食道癌手術に応用した。病理・遺伝子診断を併用した術中迅速転移診断により106 recLN転移陽性率が20%から48%に上昇した。さらに106 recLN転移診断結果と臨床病理学的所見を比較した場合、迅速病理診断のみで診断できなかった頸部リンパ節転移や頸部リンパ節再発を予測、診断することができた。また病理・遺伝子診断陰性では頸部に転移や再発を認めず、このような症例では頸部郭清が省略できる可能性があると考えられた。

このように胸部中下部食道癌において106 recリンパ節の術中迅速転移診断に遺伝子診断を導入することにより、頸部リンパ節郭清の個別化が可能になることが示唆された。

以上の研究は胸部食道癌の頸部リンパ節郭清の適応決定に有用で、個々の症例に適した術式の選択に貢献するものと考えられ、学位の授与に値すると認める。