



Title	Application of Molecular Diagnosis for Detection of Peritoneal Micrometastasis and Evaluation of Preoperative Chemotherapy in Advanced Gastric Carcinoma.
Author(s)	森, 琢児
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45534
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏 名 ^{もり}森 ^{たく}琢 ^し児

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 18942 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 Application of Molecular Diagnosis for Detection of Peritoneal Micrometastasis and Evaluation of Preoperative Chemotherapy in Advanced Gastric Carcinoma.
(進行胃癌における腹腔内微小転移検出法の確立とその術前化学療法の効果判定への応用)

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〕

腹膜播種は、進行胃癌治療切除後の再発形式として最多である。このことは術中すでに肉眼では同定できない微小腹膜転移が存在することを示唆している。本研究の目的は、微小腹膜転移を検出する遺伝子解析法を確立し、この診断法を用いた定量的解析が、術前化学療法の治療効果判定に応用できるか否かを検討することである。

〔方 法〕

1) 緑色蛍光蛋白 (EGFP) のプラスミッドベクターを導入し微小転移が観察可能となったヒト胃癌細胞 MKN-45 をヌードマウスの腹腔内に移植し、腹腔内微小転移モデルを作成した。腹腔内移植 14 日目、21 日目に安楽死させ、腹腔内を蛍光顕微鏡にて観察し、腹膜播種結節数を測定した。また同時に腹腔内洗浄液を採取し、洗浄液中の癌細胞量を定量した。微小な癌細胞を検出するために carcinoembryonic antigen (CEA) mRNA を標的とした RT-PCR 法を導入した。さらに、LightCycler (Roche International Co.) を用いたリアルタイム PCR 法による癌細胞定量法を確立した。腹膜播種結節数と腹腔洗浄液中の CEAmRNA 値との関係を検討した。

2) 胃癌 137 症例において、手術時に採取した腹腔洗浄液の遺伝子解析を行ない、その結果と患者の再発予後との関係を検討した。

3) 1999-2001 年の期間に術前 staging laparoscopy により T3、T4 と診断された進行胃癌症例のうち、術前腹腔内化学療法を施行した 19 例を対象とした。全身麻酔下で staging laparoscopy を施行し、腹腔内洗浄液を採取した。その後、腹腔内化学療法を施行し、後に開腹手術あるいは staging laparoscopy を行ない、再度腹腔洗浄液を採取した。化学療法前後で採取した腹腔洗浄液を遺伝子解析し、CEAmRNA の定量値の変化と予後との関係を検討した。

〔成 績〕

1) 腹膜播種モデルを用いた検討により、腹腔内の蛍光結節数 (微小転移も含めた) と腹腔洗浄液の CEAmRNA の定量値は相関していた ($r=.05$, $p=.0012$)。

2) 臨床例では、開腹手術時の腹腔洗浄液診断と予後は相関した。細胞診陽性例、これらは全例遺伝子解析でも陽

性、の予後は最も悪く ($p=0.001$)、細胞診陰性例に限っても、遺伝子解析陽性は有意に陰性より予後不良であった ($p=0.002$)。

3) 術前化学療法施行例の解析では、定量的遺伝子解析が陽性から陰性化したものが6症例、陰性のまま不変であったのが5症例、一方、化学療法前後とも遺伝子診断が陽性であったのが8症例あった。これらの結果と予後との関係は、治療後に遺伝子解析が陰性であった11症例中、腹膜播種再発で死亡した1例をのぞき全例生存中であるのに対し、治療後も陽性であった8症例は、1例を除き全例死亡した ($p<0.05$)。再発形式のほとんど (8/10例) が腹膜播種であった。

〔総括〕

CEAをターゲットとした腹腔洗浄液定量的遺伝子解析は、肉眼では観察困難な微小な腹膜播種の程度を反映することを、動物モデルを用いて示した。臨床例においては、開腹手術時の腹腔洗浄液遺伝子解析は、従来の細胞診陰性症例における予後因子となりうることを示した。さらに、化学療法前後の腹腔洗浄液遺伝子解析値の変化が予後と相関したことより、腹膜再発高危険群といわれる漿膜浸潤陽性胃癌において、腹腔洗浄液を用いた遺伝子解析法は、感度よく腹腔内の遊離癌細胞を検出し、予後予測に有効な手段であるとともに、化学療法の効果判定にも有用である可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

進行胃癌では根治手術が行われた場合でも術後腹膜再発をしばしば認める。これは術中すでに肉眼では同定できない微小腹膜転移が存在することを示唆している。近年この微小転移検出のためさまざまな研究がなされているが、臨床応用可能な診断、予防的治療の評価の方法は確立されていない。そこで本研究では、微小腹膜転移を検出する遺伝子診断法を確立し、この診断法を用いた定量的診断が、術前化学療法の治療効果判定に応用できるか否かを検討した。

まず胃癌137症例において、手術時に採取した腹腔洗浄液のCEAmRNAを標的とした遺伝子診断を行ない、従来の細胞診陰性症例においても遺伝子診断で陽性患者の予後は陰性より予後不良であることを示した。つまり従来の細胞診では検出できなかった微小転移を遺伝子診断にて検出し、再発高危険群の予測が可能となった。

次に腹腔内微小転移モデルにて腹腔洗浄液の定量的遺伝子診断を行うことにより腹腔洗浄液中の癌細胞量と腹腔内微小転移数とが相関することを示した。これをもとに臨床例で腹腔洗浄液を化学療法前後で採取し、定量的遺伝子診断を行った。遺伝子診断の化学療法前後での定量値の変化と予後との関係の検討により、治療後に遺伝子解析が陰性であると予後が良好であり、治療後も陽性であると予後が不良となることを示した。これは化学療法前後での腹腔洗浄液の定量的遺伝子診断が、腹膜播種に対する化学療法の効果判定法の新たな指標になりうる可能性を示した。

以上の研究は、胃癌腹膜播種の早期診断、および化学療法の効果判定予測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。