

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10086

研究課題名(和文) 胃癌腹膜播種の早期診断・モニタリングを目指した新規バイオマーカーの確立

研究課題名(英文) Establishment of the novel bio-marker for early detection and monitoring of gastric cancer with peritoneal dissemination

研究代表者

山口 博紀(Yamaguchi, Hironori)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：20376445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：腹腔内化学療法を行った68症例より得られた1268検体の腹腔洗浄液サンプル中のCEAmRNA定量測定を行った。68症例中39例に胃切除が施行された。手術前CEAmRNA Indexが100未満であった20症例のMSTは41.8ヶ月、100以上の19症例のMSTは20.8ヶ月であり有意差を認めた( $P<0.001$ )。多変量解析の結果、「術前洗浄腹水中CEAmRNA Index 100以上」は胃切除症例における独立した予後危険因子であった( $P=0.042$ )。腹腔洗浄液中CEAmRNA値は予後予測可能な新たなバイオマーカーとして期待される。

研究成果の概要(英文)：We quantitatively measured CEA mRNA in the 1268 samples of peritoneal lavage from 68 gastric cancer patients with peritoneal metastasis who received intraperitoneal chemotherapy. The MST of the 20 patients whose CEA mRNA index were below 100 in the preoperative samples was significantly higher compared with the 19 patients whose CEA mRNA index was over 100 ( $P<0.001$ ). Multivariate analysis revealed that "CEA mRNA index over 100 in preoperative peritoneal lavage samples" was independent risk factor for over all survival in the patients who received gastrectomy after intraperitoneal chemotherapy. The value of CEA mRNA in peritoneal lavage samples is expected as a novel bio-marker for the prediction of the patient's prognosis who received intraperitoneal chemotherapy.

研究分野：胃癌 化学療法 手術療法

キーワード：胃癌 腹膜播種 腹腔内化学療法 バイオマーカー

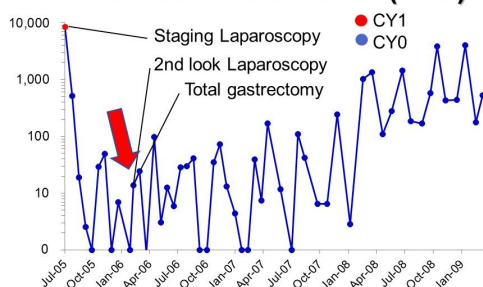
1. 研究開始当初の背景

胃癌において腹膜播種は転移再発部位として最多であり、胃癌の治療対象として最も解決すべき病態である。また、根治手術が行われた漿膜浸潤陽性例において、その約半数は腹膜播種再発を生じているにも関わらず、腹膜播種を生じる症例を選択する手段がないのが現状である。我々は胃癌腹膜播種に対し、パクリタキセルを腹腔内に投与する腹腔内化学療法の臨床試験をすすめており、その6割の症例において一時的にせよ腹膜播種病変を縮小・消失といった制御下におくことが可能となっている。これまでは腹膜播種を既に有する症例を対象に腹腔内化学療法を行ってきたが、今後、解決すべき重要な課題は根治的手術がなされた進行胃癌症例において腹膜播種再発を起こす症例を予測し、腹腔内化学療法を予防的に行うことにより腹膜播種再発を防ぐことである。

腹腔洗浄細胞診が陰性である漿膜浸潤陽性進行胃癌において、腹腔洗浄液中の CEA mRNA 値を定量測定することにより、術後腹膜播種再発を来す症例を正確に選択し、周術期に腹腔内化学療法を行えば、進行胃癌の手術成績が飛躍的に向上することが期待される。

一方、実際に腹膜播種を来した症例においては、どのタイミングで胃切除やレジメン変更を行うのかを決定するのに、腹膜播種病変の詳細な状況把握は治療を行うに際して必要不可欠である。しかし現状では、CTやPETなどの画像所見、腫瘍マーカーなどの血液検査所見では高度に進行した状態でしかその異常を捉えることができず、審査腹腔鏡検査や試験開腹手術などで腹膜播種病変を直接観察する以外に効果判定をする方法がない。申請者は予備的検討として、腹腔内化学療法を施行した腹膜播種症例において、腹腔ポートより経時的に腹腔洗浄液を採取しその CEA mRNA 値を定量測定した。この結果、CEA mRNA 定量値は、審査腹腔鏡時には6万コピーあった CEA mRNA 値は腹腔内化学療法開始後に急激に減少し7コース後に0となった。11コース後に行ったセカンドルックの審査腹腔鏡では、腹膜播種病変の消失を認め胃全摘術を行ったが、その後腹膜播種病変は再燃とともに、CEA mRNA 値は上昇し、腹膜播種病変を忠実に反映した。

CEA mRNA index: CmRI (61 F)



この症例からは腹腔洗浄液中の CEA mRNA を定量することにより、腹膜播種病変のモニタリングをすることが可能であることが示唆された。画像診断ではもちろん、病理学的にも診断することのできない癌細胞をマイクロレベルで正確に把握することにより、胃癌腹膜播種に対する腹腔内化学療法の効果判定の新たなモダリティーに、ひいては、適切な時期に適切な治療法を選択する際に必要とされる腹膜播種病変における新規バイオマーカーとして期待できる。

2. 研究の目的

胃癌の腹膜播種に対する診断・治療における問題点として、手術時に肉眼的に播種がなく、洗浄細胞診が陰性であっても腹膜播種再発が高率に生じること、また、腹膜播種の状態は、実際に腹腔内を観察する以外には正確に把握できないことが挙げられる。胃癌腹膜播種に対し腹腔ポートを介して抗癌剤を直接腹腔内に投与する腹腔内化学療法が行われるようになり、腹膜播種病変を一定の期間制御下におくことが可能となってきた。今後は腹腔内化学療法を必要とする播種再発リスクの高い症例を正確に選択し、またどのタイミングで胃切除やレジメンを変更するのかを判断するにあたり、腹膜播種病変をモニタリングすることが必要とされている。そこで、本研究では、腹膜播種再発リスクの高い症例を対象に腹腔内化学療法を行い、同時に腹腔洗浄液検体中の CEA mRNA 値を定量することにより、腹腔内に遊離する癌細胞の存在およびその総量を精密に把握し、胃癌腹膜播種の早期診断および治療モダリティーの選択に際して必要不可欠な新たなバイオマーカーを確立することを目的とした。

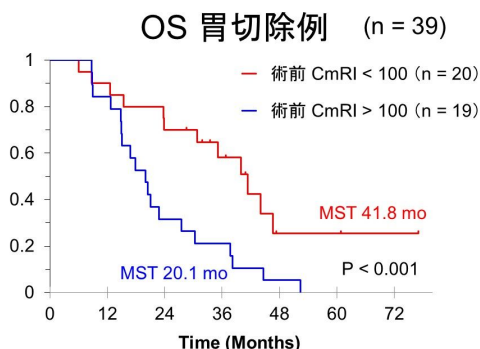
3. 研究の方法

先進医療 B 告示番号 47 として承認された、「根治切除可能な漿膜浸潤を伴う胃癌に対する周術期化学療法 (TS-1、パクリタキセル経静脈・腹腔内投与併用療法) 第 相試験 (GAPS study)」に登録される 50 症例において、初回の審査腹腔鏡時および化学療法の各コース開始時に腹腔洗浄液を採取する。各施設において mRNA の抽出保存操作を行い -20 以下に保存し、定期的に東京大学に低温輸送し、TRC 法により一括して東京大学にて CEA mRNA の定量測定を行う。臨床試験より得られた腹膜播種再発の有無と CEA mRNA 定量値を比較検討し、腹膜播種再発予測における有用性について検討する。また CEA mRNA 定量値が陽性を示した症例においては、規定の腹腔内化学療法が終了した後も定量測定を継続して行い、腹膜播種の臨床所見と比較検討することにより、腹膜播種病変をモニタリングにおける有用性について検討することを計画していた。しかしながら研究代表者の研究期間中途での施設異動によりこのままの計画では研究の遂行が困難

となった。このため、所属施設で採取していた、68 症例の胃癌腹膜播種症例から得られた 1268 サンプルを対象として解析を行い、研究目的を変更することなく研究を遂行した。

#### 4. 研究成果

各腹腔洗浄液サンプル中の CEA mRNA 定量測定を行った。また各症例の追跡調査を行った。68 症例中 39 例に胃切除が施行された。手術前 CEA mRNA Index が 100 未満であった 20 症例の生存期間中央値 (MST) は 41.8 ヶ月、100 以上の 19 症例の MST は 20.1 ヶ月であり有意差を認めた ( $P < 0.001$ )。

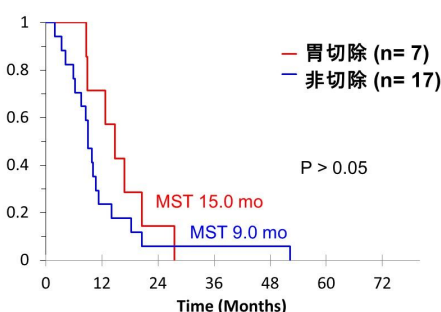


多変量解析の結果、「術前洗浄腹水中 CEA mRNA Index 100 以上」は胃切除症例における独立した予後危険因子であった ( $P=0.042$ )。

予後危険因子	単変量解析 多変量解析	
	P-value	
化学療法前因子		
性別(男性 VS 女性)	0.485	-
年齢 ( $\geq 60$ vs. $<60$ )	0.597	-
ECOG PS (1 vs. 0)	0.817	-
Type4 vs. 他	0.168	-
治療前 CEA (高値 vs. 基準内)	0.316	-
治療前 CA19-9 (高値 vs. 基準内)	0.480	-
治療前 CA-125 (高値 vs. 基準内)	0.241	-
癌性腹水 (有 vs. 無)	0.630	-
PCI score ( $\geq 10$ vs. $<10$ )	0.530	-
開始時 CmRI ( $\geq 20000$ vs. $<20000$ )	0.623	-
化学療法後因子		
化学療法施行回数 ( $\geq 6$ vs. $<6$ )	0.443	-
術前 CmRI ( $\geq 100$ vs. $<100$ )	0.004	0.042
術前 CEA (高値 vs. 基準内)	0.740	-
術前 CA19-9 (高値 vs. 基準内)	0.013	0.019
術前 CA-125 (高値 vs. 基準内)	0.030	0.056
組織学的効果 Grade IA vs. IB-III	0.054	-

また手術前の CEA mRNA Index が一度でも 100 未満になった 32 症例 (MST 35.5 ヶ月) は、非手術 12 症例 (MST 13.0 ヶ月) と比較して生存率に有意差が認められたが ( $P < 0.001$ )、手術前に一度も 100 未満にならなかった 7 症例 (MST 15 ヶ月) は非手術 17 症例 (MST 9 ヶ月) と比較して生存率に有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。

#### OS 一度も CmRI < 100 なし 24 例



洗浄腹水中 CEA mRNA 定量値は腹膜播種病変の抗癌剤感受性をよく反映し、腹腔内化学療法中に手術適応を決定するための有用なバイオマーカーとなることが明らかとなった。以上の結果を国内外の学会、英文誌にて報告した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

佐藤 優実子, 山口 博紀, 高井 大哉, 北山 丈二, 大久保 滋夫, 矢富 裕. TRC 法を用いた腹腔内洗浄液 CEA mRNA 定量検査の治療効果判定における有用性、日本臨床検査自動化学会会誌、査読有り、2015、40:603-609.

Yamaguchi H, Kitayama J, Ishigami H, Emoto S, Nishikawa T, Tanaka J, Tanaka T, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Nozawa H, Kazama S, Ishihara S, Sunami E, Watanabe T. A patient with gastric cancer with peritoneal carcinomatosis treated with intraperitoneal chemotherapy who survived more than 5 years receiving repeated laparoscopic examinations: a case report. 査読有り, J Med Case Rep, 10, 2016. 14, DOI 10.1186/s13256-016-0799-5

Yamaguchi H, Kitayama J, Ishigami H, Kazama S, Nozawa H, Kawai K, Hata K, Kiyomatsu T, Tanaka T, Tanaka J, Nishikawa T, Otani K, Yasuda K, Ishihara S, Sunami E, Watanabe T. Breakthrough therapy for peritoneal carcinomatosis of gastric cancer: Intraperitoneal chemotherapy with taxanes. World J Gastrointest Oncol. 査読有り, 7, 2015, 285-91, DOI 10.4251/wjgo.v7.i11.285.

Yamaguchi H, Satoh Y, Ishigami H, Kurihara M, Yatomi Y, Kitayama J, Peritoneal Lavage CEA mRNA Levels Predict Conversion Gastrectomy Outcomes after Induction Chemotherapy with Intraperitoneal Paclitaxel in Gastric Cancer Patients with Peritoneal Metastasis, Annals of Surgical Oncology, 査読有り, 24, 2017, 3345-3352, DOI 10.1245/s10434-017-5997-x

[学会発表](計 9 件)

北山 丈二, 石神 浩徳, 山口 博紀, Quantification of CEA mRNA in peritoneal fluids in patients with peritoneal metastasis of gastric cancer. 第 74 回日本癌学会学術総会 2016

山口博紀, 石神浩徳, 北山丈二, 渡邊聡明, 胃癌腹膜播種症例の治療効果予測因子としての腹腔洗浄液中 CEA mRNA 定量. 第 53 回日本癌治療学会総会 2015

山口博紀, 石神浩徳, 北山丈二, 渡邊聡

明 胃癌腹膜播種の新規バイオマーカーとしての腹腔洗浄液中 CEA mRNA 定量値の有用性、第 71 回日本消化器外科学会総会、2016

Yamaguchi H, Intraperitoneal chemotherapy with Paclitaxel for peritoneal metastasis of gastric cancer :from basic research to clinical practice, The Shanghai Clinical Seminar on Gastrointestinal Oncology( 招待講演 )( 国際学会 ), 2016

山口博紀 石神浩徳 北山丈二、Stage IV 胃癌への新たな治療戦略 腹膜播種陽性胃癌に対する腹腔内化学療法と手術を組み合わせた治療戦略、第 25 回 日本消化器関連学会週間、2017

北山 丈二, 山口 博紀, 石神 浩徳, 大澤英之, 細谷 好則, 山下 裕玄, 瀬戸 泰之, 佐田 尚宏、消化器癌の診断・治療を含めた新規分子腫瘍マーカーの意義と展望 胃癌腹膜播種治療における腹腔内液中バイオマーカーの意義、第 72 回 日本消化器外科学会、2017

山口博紀、石神浩徳、金丸理人 大澤英之 松本志郎 倉科憲太郎 春田英律 細谷好則 北山丈二 佐田尚宏、胃癌腹膜播種に対する腹腔内化学療法における腹腔洗浄液中 CEA mRNA 定量—手術適応決定のバイオマーカーとしての意義、第 118 回日本外科学会総会、2018

Yamaguchi H, Intraperitoneal chemotherapy with paclitaxel for peritoneal metastasis of gastric cancer, 2017 中山腫瘍フォーラム( 招待講演 ), 2017

Yamaguchi H, Intraperitoneal chemotherapy with paclitaxel for peritoneal metastasis of gastric cancer, 2018 温州胃癌国際フォーラム ( 招待講演 ) ( 国際学会 ), 2018

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

山口 博紀 ( YAMAGUCHI Hironori )  
自治医科大学医学部 教授  
研究者番号 : 20376445

### (2)研究分担者

北山 丈二 ( KITAYAMA Joji )  
自治医科大学医学部教授  
研究者番号 : 20251308

石神 浩徳 ( ISHIGAMI Hironori )  
東京大学医学部附属病院 講師  
研究者番号 : 80372382

石原 聡一郎 ( ISHIHARA Soichiro )  
東京大学医学部附属病院 講師  
研究者番号 : 00376443

渡邊 聡明 ( WATANABE Toshiaki )

東京大学医学部附属病院 教授  
研究者番号 : 80372382