

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591021

研究課題名(和文) 胃SM癌の術前転移予測と分子病理マーカーによる新たな内視鏡的根治判定基準の開発

研究課題名(英文) Predictor of lymph node metastasis using molecular marker for submucosal invasive gastric cancer

研究代表者

岡 志郎 (OKA, SHIRO)

広島大学・大学病院・病院助教

研究者番号：30403538

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ節転移の有無が確認できた内視鏡的治療根治適応外胃SM癌のホルマリン固定パラフィン切片を用いて腫瘍表層部とSM浸潤先進部よりDNAを抽出し、microsatellite instability (BAT26)とmitochondria DNAを中心に発現を検討したが、上記マーカーの発現およびheterogeneityはほとんど認めず、腫瘍表層部の生検組織を利用した胃SM癌のリンパ節転移予測は臨床的に困難と結論づけた。また、未分化型早期胃癌ではSM癌はいずれの臨床病理学的因子にも関わらずリンパ節転移率が高く、内視鏡的摘除のみでは根治が得られないことを長期経過例の検討から明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the expressions of micro satellite instability (BAT26) and mitochondria DNA between the surface and the deeper site of submucosal invasive early gastric cancers, which were indication of non-curative after endoscopic resection. However, there was no significant difference of these 'molecular markers' expression between these sites (no heterogeneity). These data suggested that it is not clinically usefulness to predict lymph node metastasis from the biopsy specimen of submucosal invasive gastric cancer using molecular marker.

The incidence of lymph node metastasis of submucosal invasive undifferentiated-type early gastric cancers was high regardless of their clinicopathologic factors. The expanded criteria (ulcer-negative, intramucosal cancer 20mm or less without lymphovascular invasion)of endoscopic resection for undifferentiated-type early gastric cancer was pertinent based on long-term outcomes.

研究分野：消化器内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：胃SM癌 リンパ節転移 内視鏡的根治判定基準 分子病理学的マーカー 未分化型胃癌

1. 研究開始当初の背景

(1) 早期胃癌に対する内視鏡的切除の現状 早期胃癌に対する内視鏡的切除は、対象者を厳密に選べば外科手術と同等の成績が得られること、開腹手術に比べて侵襲がはるかに軽微であり、機能温存、QOL、入院治療短縮による医療費削減効果が得られることから確固たる地位を占めつつある。日本胃癌学会治療ガイドラインや日本消化器内視鏡学会卒後教育委員会によりまとめられた消化器内視鏡ガイドラインでは、T1N0 胃癌症例が内視鏡的粘膜切除術 (endoscopic mucosal resection: EMR) を標準治療としている。本邦では早期胃癌に対する新しい内視鏡治療手技として内視鏡的粘膜切除術 (endoscopic submucosal dissection: ESD) が開発され (Gut 2001; 48: 225-9)、2006年4月の保険収載後、従来の EMR に変わり急速に普及しつつある。我々は2002年4月より ESD を積極的に導入し、従来の EMR では摘除困難であった大きな病変や潰瘍を伴う早期胃癌の完全一括摘除に ESD が有用であることを報告してきた (Gastrointest Endosc 2006; 64: 877-883, Endoscopy 2006; 38: 996- 1000)。

(2) 早期胃癌に対する内視鏡的切除の問題点 胃 SM 癌の診断に関しては、超音波内視鏡などの各種画像診断を用いて術前の正診率は 80~90%程度 (Gut 1999; 44: 361-5) と報告されている。このため臨床の現場では最終的な追加切除の有無の評価は切除標本から予測するしかなく、ESD は治療手技のみならず完全摘除生検法としての役割を担っている。現在、切除標本の評価に関しては Hematoxyline-Eosin (HE) 標本のみによる病理組織学的基準に従って追加手術の有無が判定され、SM 癌は原則外科的切除の対象である。しかしながら、SM 癌のリンパ節転移率 (分化型) は 3~20%と報告されており、リンパ節転移のない多くの SM 癌が over-surgery されているのが現状である。今後、さらなる ESD の普及とともにますます over-surgery 例が増加していくことが予想され、患者の生活の質 (QOL) および医療経済面からみても、リンパ節転移陰性例に対する ESD 後の外科的追加切除術は問題が多い。さらに、現在の根治判定基準は外科的切除例の検討から導かれたもので微小転移が考慮されていないことも問題である。

2. 研究の目的

(1) 既存の概念とは全く異なった分子病理学的マーカーによる新たな内視鏡的治療根治判定基準を策定することで over-surgery 例を減少させることを目標とする。また、病変部の生検組織に対して DNA を用いた遺伝子診断にて術前リンパ節転移を予測する手法を開発する。

(2) 新たに策定した内視鏡的治療根治判定基準の臨床的有用性に関して、何らかの理由 (手術拒否、合併症など) により内視鏡治療後に経過観察された胃 SM 癌症例について長期予後を解析し検証する。生検組織による DNA 遺伝子解析によるリンパ節転移の術前予測診断の開発および分子病理学的マーカーによる胃 SM 癌に対する新たな根治判定基準を策定し臨床的有用性を明らかにすることで over-surgery 症例をなくし、患者の QOL の向上、医療費削減の点で貢献することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) リンパ節転移の有無が確認された胃 SM 癌症例のホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫染色法あるいは ISH により最も効率の良い分子病理マーカーによる胃 SM 癌の内視鏡的根治判定基準を策定する。内視鏡治療適応外胃癌のホルマリン固定パラフィン切片を用いて、表層部と SM 浸潤先進部から DNA を抽出し、heterogeneity とリンパ節転移に関連する癌遺伝子を明らかにする。具体的には、DNA 抽出液を生検組織では 10-20 μ l / サンプル、ESD 標本や外科的切除例では 100-400 μ l / サンプル用意し、SURF Sol: proteinase K (10mg/ml) = 48:2 の比率で作成 (組成: 100mM Tris-HCl, 2mM EDTA, 400 μ g/ml) する。その後、DNA 抽出液を各々分注し 18G 注射針で組織を削り DNA 抽出液内に浮遊させ、Thermal cycler にて DNA を抽出する (Shibata D, et al Am J Pathol 1992; 141: 539-543)。この手法によりリンパ節転移と関連が報告されている K-ras, APC, microsatellite instability (BAT26), mitochondrial DNA などに関する DNA 異常について検索する。

(2) 臨床面からの検討として、分子病理マーカーの解析に結果に基づく内視鏡的治療根治判定基準あるいは HE 標本による胃癌治療ガイドラインによる内視鏡治療根治判定基準に

関して、その臨床的妥当性を評価するために種々の理由により経過観察された胃 SM 癌症例を集積し、リンパ節転移、遠隔転移を end point とした解析を行い、内視鏡的摘除後根治判定基準の妥当性について検証する。

4. 研究成果

(1) 1990 年 1 月から 2010 年 3 月までに、外科的切除され、リンパ節転移の有無が確認された内視鏡的摘除適応外胃 SM 癌症例 100 例 (リンパ節転移陽性 75 例、陰性 25 例) に対してホルマリン固定パラフィン切片を用いて腫瘍表層部と SM 浸潤先進部から DNA を抽出し、microsatellite instability (BAT26)、mitochondrial DNA を中心に発現を検討した結果、今回のサンプルのうち病変表層および SM 浸潤先進部に発現を認められたものは約 5% 程度であり、さらに病変表層部と SM 浸潤先進部の発現の比較検討でも両者に heterogeneity を認めなかった。以上の結果より、胃 SM 癌に対する腫瘍表層部の生検組織標本を利用した分子病理マーカーでは、従来の内視鏡切除標本を用いた HE 標本によるリンパ節転移 (微小転移を含む) 予測の信頼度を上回することは不能であり、臨床応用は困難と結論づけた。

(2) 2002 年 4 月～2010 年 9 月までに広島大学病院内視鏡診療科にて ESD を施行した胃 SM 癌 173 例のうち 3 年以上経過が追跡可能であった 99 例について長期予後解析の結果からリンパ節転移陰性のリスク因子に関する検証を行った。その結果、胃 SM 癌における胃癌治療ガイドラインの内視鏡的摘除根治判定基準とされる「径 30mm 以下、SM 浸潤実測値 500 μm 未満、潰瘍陰性、脈管侵襲陰性」では経過観察中にリンパ節転移例はなくガイドラインの適応条件が妥当であることを明らかとなった。一方、SM 2 癌ではその他の因子と比較し有意に全生存期間が短かった。

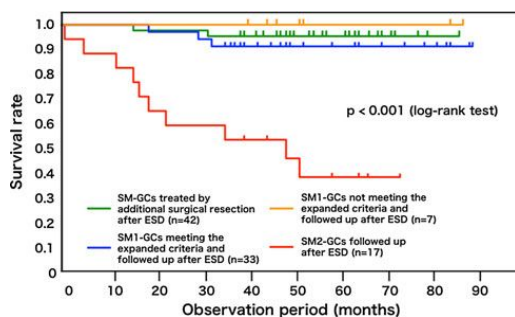
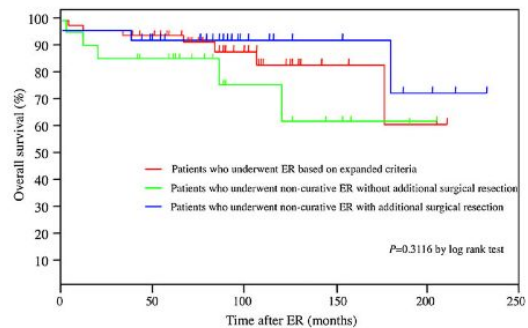


Fig. 1 Kaplan-Meier analysis of overall survival in patients with submucosal invasive gastric cancer (SM-GC) treated by endoscopic submucosal dissection (ESD)

(3) SM 浸潤距離早期胃癌の中でも特にリンパ節転移が高いとされる未分化型早期胃癌に関しても、1990 年 4 月～2011 年 3 月に ER を施行した 125 例のうち 5 年以上経過観察された 84 例 (平均観察期間 101.9 ヶ月) を対象に臨床病理学的特徴と長期予後の点からリンパ節・遠隔転移のリスク因子について解析した。その結果、SM 癌例はいずれの臨床病理学的因子存在に関わらずリンパ節・遠隔転移再発例を認め、内視鏡的摘除のみでは根治とは判定できず追加外科的摘除が必須であり、「径 20mm 以下、粘膜内、潰瘍陰性、脈管侵襲陰性」が内視鏡的摘除の適応病変であることが実証された。



Kaplan-Meier overall survival curves for patients with UEGC treated by ER

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 2 件)

Shiro Oka, Shinji Tanaka, et al. Clinical validity of the expanded criteria for endoscopic resection of undifferentiated-type early gastric cancer based on long-term outcome. Surg Endosc 28:639-647, 2014 (査読あり)

Yoji Sanomura, Shiro Oka, Shinji Tanaka, et al. Clinical validity of endoscopic submucosal dissection for submucosal invasive gastric cancer: a single-center study. Gastric Cancer 15: 97-105, 2012 (査読あり)

[学会発表](計 5 件)

Yoji Sanomura, Shiro Oka, Shinji Tanaka, et al. Endoscopic submucosal dissection for Tib gastric carcinoma. 第 86 回日本胃癌学会総会. 2014 年 3 月 21 日、横浜

東山 真、岡 志郎、茶山一彰. 治療成

績と長期予後からみた未分化型早期胃癌
に対する ESD の妥当性. 第 99 回日本消
化器病学会総会、2013 年 3 月 23 日、鹿
児島.

佐野村洋次、岡 志郎、田中信治、他.
当科における胃 pSM2 癌に対する ESD の現
状. 第 84 回日本胃癌学会総会、2012 年
2 月 9 日、大阪

佐野村洋次、岡 志郎、田中信治、他.
胃 SM 癌に対する ESD の有効性と限界.
第 81 回日本消化器内視鏡学会総会、2011
年 8 月 17 日、名古屋

Shiro Oka, Shinji Tanaka, et
al. Long-term follow-up investigation
of the expanded indications for
endoscopic submucosal dissection for
submucosal gastric cancer. Digestive
Disease Week 2011, May 10, 2011,
Chicago, USA

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
home.hiroshima-u.ac.jp/endosc/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 志郎 (OKA Shiro)
広島大学・病院・病院助教
研究者番号： 3 0 4 0 3 5 3 8

(2) 研究分担者

田中信治 (TANAKA, Shinji)
広島大学・病院・教授
研究者番号： 0 0 2 6 0 6 7 0