

氏 名	かがのい じゅん いち 加賀野井 純 一
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2763 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	The detection of circulating oesophageal squamous cancer cells in peripheral blood and its impact on prognosis (末梢血中浮遊食道扁平上皮癌の検出と予後における意義に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 武 藤 誠 教 授 今 村 正 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (緒言)

近年、担癌患者の末梢血液中の浮遊癌細胞および骨髄やリンパ節の微小転移を reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を利用して検出できるようになった。申請者は RT-PCR 法を用いて扁平上皮癌の抗原である SCC の mRNA を標的として末梢血液中の浮遊食道癌細胞を検出し、食道癌患者の長期観察をすることで再発予測および予後予測における意義を検討した。

### (材料と方法)

(1) 健常者から採取した末梢血液 10ml に培養食道扁平上皮癌細胞株の KYSE-273 細胞を混入し希釈系列を作成し検出感度を検定した。

(2) インフォームドコンセント下に 1997 年 6 月から 2000 年 6 月までに京都大学腫瘍外科にて治療切除を施行した食道扁平上皮癌患者 70 人から入院時・術前・術中・術後の計 4 回 10ml ずつ採血し、単核球分画より RNA を抽出して nested RT-PCR 法にて SCC mRNA の発現を検討した。患者の術後経過観察は 1997 年 6 月より 2002 年 6 月までの 5 年間施行した。

### (結果)

(1) はじめに食道扁平上皮癌細胞が末梢血液中に存在することを確認した。食道扁平上皮癌細胞は、ヒト上皮抗原体でコーティングした磁気ビーズを用いた細胞分離 (MACS) 法にて単核球分画層に免疫細胞染色法にて確認できた。以上の事より食道扁平上皮癌細胞検出のために単核球分画層を分離して RNA を抽出した。また本研究における SCC mRNA に対する RT-PCR 法は、末梢血液 1ml (単核球  $10^6$  個) あたり食道扁平上皮癌細胞 1 個の存在で検出可能であった。

(2) 入院時に SCC mRNA が陽性であった患者は 70 人中 23 人 (32.9%) であり、その内 17 人 (73.9%) が再発した。また入院時 SCC mRNA 陽性率と食道癌原発巣の腫瘍深達度 (pT) および静脈侵襲因子との間にそれぞれ正の相関を認めた ( $p < 0.001$ )。

(3) 入院時 SCC mRNA 陰性の 47 人の内 11 人 (23.4%) が術中のみ陽性であった。その内 7 人 (63.6%) が再発した。

(4) 術後 5 年以内に再発した患者は 70 人 28 人 (40%) であった。その内 24 人 (85.7%) が入院時もしくは術中の SCC mRNA が陽性であり両者間に有意な相関を認めた ( $p < 0.001$ )。

(5) Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析では、入院時もしくは術中の SCC mRNA 陽性状態は独立した予後因子であった ( $p < 0.008$ )。また Log-rank test による Kaplan-Meier 生存分析では入院時もしくは術中 SCC mRNA 陽性患者は陰性患者と比較して有意に再発率が高く ( $p < 0.008$ )、また有意に予後不良であった ( $p < 0.032$ )。

### (結論)

食道扁平上皮癌細胞において、本法を用いた入院時と術中採血中の SCC mRNA 発見の検討は術後再発予測および予後予測に有用であった。

## 論文審査の結果の要旨

申請者は腫瘍抗原 SCC の mRNA を標的とした RT-PCR 法にて食道癌患者の末梢血液中の浮遊癌細胞を検出し、患者の再発予測および予後予測における SCCmRNA の検出意義を検討した。

(1) 食道癌細胞は、免疫細胞染色法にて単核球分画層に確認できた。単核球分画層により抽出した mRNA を使用することで、末梢血液 1 ml (単核球  $10^6$  個) あたり食道扁平上皮癌細胞 1 個の存在で検出可能であった。

(2) 入院時に SCCmRNA が陽性であった患者のうち 73.9% の患者が再発した。また入院時 SCCmRNA 陽性率と食道癌原発巣の腫瘍深達度 (pT) および静脈侵襲因子との間にそれぞれ正の相関を認めた ( $p < 0.001$ )。

(3) 23.4% の患者が SCCmRNA 発現が術中のみ陽性であり、そのうち 63.6% が再発した。

(4) 術後 5 年以内に再発した患者のうち 85.7% の患者が、入院時もしくは術中の SCCmRNA が陽性であった。

(5) 多変量解析では、入院時もしくは術中の SCCmRNA 陽性状態は独立した予後因子であった ( $p < 0.0038$ )。また生存分析では入院時もしくは術中 SCCmRNA 陽性患者は陰性患者と比較して有意に再発率が高く ( $p < 0.008$ )、また有意に予後不良であった ( $p < 0.032$ )。

以上の研究は食道癌患者の予後因子の解明に貢献し、術後再発・予後予測、治療法選択などに寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 16 年 2 月 23 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。