

氏 名	加 納 まさと
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2403 号
学位授与の日付	平 成 13 年 7 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	Detection of Lymph Node Metasatasis of Oesophageal Cancer by RT-nested PCR for SCC antigen mRNA (SCC 抗原遺伝子 mRNA に対する RT-nested PCR による食道癌リンパ節転移巢の検出)
論文調査委員	(主 査) 教 授 平 岡 真 寛 教 授 山 岡 義 生 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

食道癌ではリンパ節転移が重要な予後因子である。このため、癌細胞の分布を正確に判定することが、患者の再発危険度や予後を判定する上で重要である。近年、分子生物学的技術の進歩により、微小癌細胞を検出することが可能になってきた。

本研究では食道癌の微小転移を検出するための RT-nested PCR の標的遺伝子として、扁平上皮癌に対する血清腫瘍マーカーとして用いられている SCC 抗原遺伝子の有用性について以下のごとく検討した。

1. SCC 抗原を分泌する KYSE273 細胞を健康成人末梢血単核球で段階希釈して SCC 抗原遺伝子に対する RT-nested PCR の感度を検定した。

1. 京都大学医学部附属病院で食道癌に対し食道切除術を受けた14名の患者から620個のリンパ節を採取し、各々のリンパ節について HE 染色による通常の病理組織検査、抗サイトケラチン抗体 (AE1/AE3) による免疫染色及び SCC 抗原遺伝子に対する RT-nested PCR を行い、転移の検出個数を比較するとともに TNM 分類における進行度への影響について検討した。

末梢血単核球による KYSE273 細胞の段階希釈試験では、我々の用いた RT-nested PCR は 10^7 個の末梢血単核球中、10 個の KYSE273 細胞を検出することができた。また、対照に用いた食道癌以外の患者から採取した転移陰性のリンパ節43個からは、PCR サイクル40サイクルに増やしてもバンドは検出されなかった。

通常の病理組織検査、免疫染色及び RT-nested PCR はそれぞれ36個、45個および65個のリンパ節を転移陽性と判定した。そのうち26個のリンパ節は RT-nested PCR でのみ陽性と判定された。免疫染色で転移陽性と判定され、RT-nested PCR で検出できなかったリンパ節が6個あったが、そのうち3個は類基底扁平上皮癌の症例であり、2個は腺癌の症例であり、1個のみ扁平上皮癌の症例であった。

扁平上皮癌患者12例に限ると RT-nested PCR は全ての病理学的に転移陽性のリンパ節と1個を除く全ての免疫染色陽性リンパ節を検出した。それぞれの症例でみると、免疫染色が5症例で組織学的に検出できなかったリンパ節を検出したのに対し、RT-nested PCR は14例中13例で検出した。

pN0 であった3例では RT-nested PCR のみが原発巣近くのリンパ節に転移を検出した。また、pN1 であった症例でも3症例で所属リンパ節を超えた陽性リンパ節の拡がりを検出した。

SCC 抗原遺伝子に対する RT-nested PCR は統計学的有意差を持って、通常の組織検査や抗サイトケラチン抗体による免疫染色よりも多くのリンパ節を検出した。

TNM 分類の N 因子と M 因子は RT-nested PCR による検出により5症例で進行度が上がった。

SCC 抗原遺伝子の RT-nested PCR は、潜在的な食道扁平上皮癌細胞を検出するのに有用な標的遺伝子で、食道癌のリンパ節転移の広がりを正確に診断でき、外科臨床への応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

食道癌ではリンパ節転移が最も重要な予後因子である。近年、分子生物学的技術の進歩により、癌細胞の微小クラスターの検出が可能になった。申請者は、食道癌の微小リンパ節転移巣を検出するための RT-nested PCR の標的遺伝子として、扁平上皮癌に対する血清腫瘍マーカーとして用いられている SCC 抗原遺伝子の臨床上の有用性について検討した。

SCC 抗原遺伝子に対する RT-nested PCR は、末梢血単核球による KYSE273 細胞（食道扁平上皮癌に由来した SCC 抗原産生細胞）の段階希釈試験で、 10^6 個の末梢血単核球中、1 個の KYSE273 細胞を検出した。対照に用いたリンパ節では SCC 抗原遺伝子の発現を認めず、微小リンパ節転移巣検出のために十分な感度と特異性を持つことを示した。

食道癌患者14名から得られたリンパ節620個を用いた検討において、SCC 抗原遺伝子に対する RT-nested PCR は、従来の HE 染色法及びサイトケラチンに対する免疫染色法に対し有意に多くの微小転移巣を検出した ($p < 0.01$, Wilcoxon signed-rank test)。また、組織型では扁平上皮癌症例で感度、特異性とも高い傾向を示し、従来報告されている CEA や サイトケラチン遺伝子とは異なり、有用性が高いと考えられた。

以上の研究は、SCC 抗原遺伝子が食道癌の微小転移巣検出のための標的遺伝子として有用であることを示唆し、今後の臨床への応用が期待される。

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13年5月14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。