

氏名(本籍)	井坂直秀(徳島県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第2662号		
学位授与年月日	平成13年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	直腸癌におけるリンパ節内微小転移の予後因子としての意義		
主査	筑波大学教授	医学博士	野口雅之
副査	筑波大学助教授	医学博士	中原朗
副査	筑波大学助教授	医学博士	西田正人
副査	筑波大学講師	医学博士	岩川真由美

論文の内容の要旨

(背景)

リンパ節転移は直腸癌において最も重要な予後因子のひとつであり、リンパ節転移陽性群は、明らかに予後が悪い。本邦では、リンパ節転移のない、筋層を越えた浸潤のある直腸癌(Dukes B)の5年生存率は79%であるが、リンパ節転移のある直腸癌(Dukes C)の5年生存率は52%にまで低下し、アメリカにおいても同様に55%が41%へと低下する。しかし同じDukes B直腸癌において、再発群と無再発群における違いはどこにあるのかは、未だに不明である。

近年様々な悪性腫瘍について、免疫組織学的染色法やpolymerase chain reaction(PCR)などの手法を用いて、従来の方法では検出できなかった微小な癌細胞(微小転移)の存在が検討されている。消火器癌に関しては、食道癌や胃癌で、免疫組織学的染色法を用いたリンパ節内微小転移の存在とそれらの予後との有意な関係が報告されている。大腸癌についても、いくつかの報告があるが予後に関係するという報告と関係しないという報告が認められている。これらの報告では結腸癌と直腸癌が様々な頻度で一括した対象として扱われているが、結腸癌と直腸癌は国際的な生存率の統計などでも別に分類されているように、両者は予後、再発形式、リンパ節転移が予後に与える重要性などで異なっていることが知られている。一方、直腸癌のみを対象としたリンパ節内微小転移の検討は、未だに報告がない。本研究の目的は、直腸癌(Dukes B)におけるリンパ節内微小転移の存在、およびその予後との関係を免疫組織学的染色法により検討することである。

(対象と方法)

1994年までに筑波大学付属病院で開腹手術をうけ、治癒切除された組織学的にリンパ節転移陰性の腫瘍で深達度が筋層を越えた進行直腸癌(TNM stage II, Dukes B)42例から得られたリンパ節644個(平均15.3個/例)を対象とした。

各症例のパラフィン包埋された原発巣および摘出リンパ節に対し、免疫組織学的染色(avidine-biotin-peroxidase complex method)を行った。1次抗体には抗ヒトサイトケラチン抗体CAM5.2(Becton Dickinson社, USA)を用いた。予備実験として抗原性の賦活化に関して検討した。Dukes C症例の原発巣と摘出リンパ節を用いて、トリプシンによる賦活化群と(賦活化を行わなかった)対照群に分けて免疫組織学的染色を行った。両群で染色結果に差

が認められなかった為に、手技の客観性を高める目的で、本検討では抗原性の賦活化を施工しなかった。各標本を100倍で検鏡し、免疫組織学的染色陽性細胞（群）の有無を判定した。統計学的処理は χ^2 検定, Fisher's exact test, Wilcoxon rank-sum test を用い、生存率の統計学的処理にはKaplan-Meier 法（Log-rank 検定）を行った。 $P < 0.05$ をもって有意と判定した。

（結果）

免疫組織学的染色で陽性の組織1個以上の存在を認め、リンパ節内微小転移陽性と判定されたリンパ節は19個（19/644 = 2.9%）であり、リンパ節内微小転移陽性例は9例（9/42 = 21.4%）、であった。42例のうち術後再発を認めた症例は10例（10/42 = 23.8%）であった。その再発例のうちリンパ節内微小転移陽性例は5例（5/9 = 55.6%）、陰性例は5例（5/33 = 15.2%）であり、両群間には有意差（ $P = 0.02$ ）を認めた。再発形式に違いは認められなかった。また5年生存率ではリンパ節内微小転移陽性群と陰性群で有意差を認めなかったが、他病死を除外した10年生存率の検討では、リンパ節内微小転移陽性群において予後が悪く、有意差（ $P = 0.03$ ）が認められた。他の臨床病理学的因子とリンパ節内微小転移の有無の間に相関は認められなかった。

（考察）

直腸癌摘出リンパ節において従来の検索では転移陰性とされた中に微小転移が存在することが示された。今回の検討では、Dukes B直腸癌においては、リンパ節内微小転移陽性群は再発率が高く、予後も不良であり予後因子として有用であることが示唆された。しかし、免疫組織学的染色法によるリンパ節内微小転移の予後因子としての意義を一般化するためには、抗原性の賦活化をどのように客観化するか。1症例あたりの検討リンパ節個数をいくつ以上にするか。結腸癌と直腸癌の対象としての分類を、結腸癌の部位も別として扱うのか、一括して扱うのか。といった問題を解決した上での大規模な prospective study が必要であろうと思われた。

（結論）

免疫組織学的染色法を用いたリンパ節内微小転移の検索はDukes B直腸癌術後の再発予測、予後予測の層別化に有用であり、術後補助療法の適応決定にも用いることができる可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

大腸癌においてDukes分類は広く世界中で用いられている予後判定分類である。リンパ節転移の有無はこの分類でも重要な因子として扱われているが、著者らが指摘するように筋層を越えた浸潤があるがリンパ節転移のないDukes Bグループに分類される症例の再発群、無再発群についてはその予後に関係する因子は明らかとは言えない。本論文では実際の直腸癌切除材料を用いて、廓清され転移なしと判定されたリンパ節をサイトケラチンの免疫染色によって再評価し、微小転移の有無を解析した。その結果、同じDukes B群の症例の中でも微小転移を認める群が認めない群が認めない群に比べて有意に予後が悪いことを明らかにした。将来的にこの方法が一般診療に応用されるためには免疫染色の評価の客観化など解決されなければならない問題があるが、いかに微小であってもリンパ節転移を的確に診断できれば直腸癌の予後がより正確に評価できることを示した重要な研究であると考えられる。なおこの研究結果はClinical Cancer Research (vol5, 2065 - 2068, 1999)に掲載された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。