



The Assessment of Gastric Cancer Metastasis via Flow Cytometric DNA Analysis

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 梅原, 靖彦 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/10271/952 |

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

| | | | |
|-------|---|---------|-------------|
| 学位記番号 | 医博第 99号 | 学位授与年月日 | 平成 3年 3月26日 |
| 氏 名 | 梅 原 靖 彦 | | |
| 論文題目 | The Assessment of Gastric Cancer Metastasis via Flow Cytometric DNA Analysis (フローサイトメトリーを用いた DNA 解析による胃癌の転移に関する検討) | | |

論文の内容の要旨

<はじめに>

本邦における胃癌発生頻度、死亡率は近年減少傾向にあるものの、相変わらず最も高い。また胃癌の治療成績に関しては、近年横ばい傾向を示しているのが現状であり、この原因の一つとして再発胃癌に関する問題があると思われる。そして胃癌の生物学的特性、術後の転移、進展形式を知ることは、予後改善にとってはなほ重要と思われる。従来これらの問題に関して、腫瘍側因子として形態学的検討を中心に、また担癌宿主側因子として年齢、性別などの背景因子を中心に検討がなされてきた。最近になり顕微蛍光測光法、flow cytometryの発達に伴い、これらを用いて癌細胞核DNA量を測定し、癌の悪性度、予後に関して論じられるようになってきた。胃癌についても多くの研究があるが、その転移、再発形式に関して詳細に検討した報告は少ない。今回の研究は胃癌の転移、再発形式の特徴について、形態学的ならびにflow cytometerにより測定された核DNA量による細胞生化学的検討を行い、胃癌手術あるいは転移、再発の早期発見とその治療指針としての有用性を評価することを目的とした。

<対象と方法>

当教室において切除され、再発死亡した胃癌95例について、これらのパラフィン包埋標本を研究材料とした。方法は、病理検索後、腫瘍組織より50 μ m切片を2枚作成し、脱パラフィン後、0.1%collagenaseによる酵素処理を行ない、ultrasonicatorにて機械的分散を施した。ナイロンメッシュにて濾過、洗浄、遠沈後単離細胞群を得た。得られた細胞群をpepsin、RNaseにて酵素処理後、propidium iodideにてDNA染色を行った。染色後flow cytometerにてhistogramを作成し、各々の核DNA量をDNA Indexで表現した。

<結果>

- (1) DNA ploidy と初回手術時リンパ節転移の関係では、aneuploid cancerはdiploid cancerに比べ転移率が高く($P<0.02$)、第2群以上の転移が高率であった。
- (2) 肝転移はaneuploid cancerに頻度が高く、肺転移はdiploid cancerに頻度が高い傾向が認められ、それぞれに有意差が認められた。また腹膜転移は特にdiploid cancerの未分化型に頻度が高かった。その他の転移に関しては細胞分化度に依存していた。
- (3) 治癒切除例におけるリンパ節再発は、有意な差をもってaneuploid cancerに高率であった($P<0.01$)。
- (4) 治癒切除例におけるDNA ploidyによる予後の比較は、有意差をもってdiploid cancerで良好であった($P<0.05$)。

<考察>

それぞれの癌における転移というものは、ある程度臓器選択性が認められている。そして胃癌についても同様のことが言えると思われる。最近までの癌細胞核DNA量の研究は、主に悪性度の評価、予後規定因子に言及したretrospective studyによる報告が多かった。本研究もretrospective studyであるが、今回の核DNA量という細胞生化学的定量解析の結果、胃癌の転移形式に関するDNA ploidyの臓器選択性が客観的に示された。つまり今後の胃癌手術の留意点、術後再発早期発見に際して、画像診断と従来の形態学的検討に加わるfactorとしての重要性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

胃癌のDNA量に関して、フローサイトメトリー（以下FCと略）による多数の研究発表が現在までなされている。しかし、胃癌とその転移形式の関係をDNA量を指標として調べた研究は数少ない。そこで申請者らは、胃癌患者のうち、開腹切除を受けた後に再発死亡した95例を選び出し、次のような検索を行った。

切除胃癌および転移巣のパラフィンブロックから50 μ m切片を作製し、すでに定められている方法で単離癌細胞を得た後、DNA染色を施しFCを行いヒストグラムを作成した。Coefficient of variation値（以下CV値と略）は $7.4 \pm 1.9\%$ であった。DNA indexは、腫瘍のpeak channel numberと標準ピークのそれとの比で表した。DNA indexを0.90から1.10までをdiploidyとして、それ以上をaneuploidyと定めた。

検索結果

1. aneuploidの癌はすべてリンパ節転移を示した。また、aneuploidの癌症例の88%は n_2 、 n_3 、 n_4 の転移を示し、diploidの癌の50%と有意の差を示した。
2. 肝転移については、aneuploidの癌の63%が転移を示したが、diploidは24% ($p < 0.01$) であった。
3. 肺・胸膜転移については、diploidの癌がaneuploidより転移率が有意に高かった ($p < 0.05$)。
4. 腹膜播腫についてはDNA ploidyと関係なかった。しかし、diploidの癌についてみると、未分化型癌は分化型癌より有意に高かった ($P < 0.01$)。
5. 治癒切除を行った52例の胃癌のうち、diploidの癌がaneuploidよりリンパ節再発率が有意に高かった ($p < 0.01$)。
6. 治癒切除52例では、diploidの癌はaneuploid癌より有意に生存期間が長かった。

この発表に続いて次のような質疑、討論がなされた。

1. パラフィンブロックからの材料はCV値が大きくなる傾向があるのは何故か。
2. CV値が大きいときはDNA indexの信憑性があるのか。
3. 化学療法を行っている症例が多いはずであるが、その影響による腫瘍DNA量の変化はないのか。
4. FCのdiploid peakが癌そのものが含むdiploid peakをマスクしている可能性を除外できるか。
5. 生検材料のFCを行って、実際患者の予後や治療に役立つのか。
6. aneuploidの核はどのような機序で発生してくるのか。
7. CV値の低い症例のみ集めて解析しても、上記と同じ結果が得られるか。

以上の質問に対する申請者の解答は概ね適切であり、研究内容も学位論文としての水準に達しているものと全員一致で判定した。

| | | | | | | | |
|---------|----|----|-----|-----|----|-----|---------|
| 論文審査担当者 | 主査 | 教授 | 喜 納 | 勇 | | | |
| | 副査 | 教授 | 金 子 | 榮 藏 | 副査 | 教授 | 馬 場 正 三 |
| | 副査 | 教授 | 山 下 | 昭 | 副査 | 助教授 | 中 村 真 一 |