

食道癌研究の軌跡と今後の展開

杉町, 圭蔵
九州大学第二外科 : 教授

<https://doi.org/10.15017/7239396>

出版情報 : 福岡醫學雑誌. 88 (12), pp.361-379, 1997-12-25. 福岡医学会
バージョン :
権利関係 :



特 別 寄 稿

食道癌研究の軌跡と今後の展開

九州大学第二外科教授
杉 町 圭 蔵

I 食道癌治療成績の軌跡

食道癌の手術は、手術手技、あるいは術前・術後管理の向上などによりまして、ある特定の病院のみで行われる特殊な手術から、今日では、一般の病院でも、広く行われる手術になりました。

過去 30 年間の九大第 2 外科における食道癌症例をみますと、手術症例は、増加の一途をたどり、術後 1 ヶ月以内に亡くなる手術死亡率は、初期の 10.9% から、最近の 10 年間では 1.0% と激減いたしました (図 1)。

頸部、縦隔、腹部の 3 領域のリンパ節郭清の普及など、手術侵襲はむしろ大きくなったにもかかわらず、手術は安全に行えるようになりました。また、早期癌症例も確実に増加しており、癌検診の啓蒙と診断技術の向上がうかがえます。

ごく初期の食道癌をレントゲン透視で発見することはなかなか困難ですが、発見された粘膜内癌の多くは、内視鏡でみつかったものであり、図 2 左では、粘膜の軽度の不整がみられます。これにルゴールを散布いたしますと、正常の食道粘膜は褐色に染まり、病変部は染まりませんので、右のように病変の存在だけではなく、その広がりがはっきりいたします。

長径 2 cm 以内の m 癌でありますと、内視鏡下に粘膜切除が可能であります。図 3 は粘膜切除直後であります。

2 週間経ちますと、このようにきれいに粘膜は再生いたしますので、患者さんの QOL を考えますと、この内視鏡下の粘膜切除術は非常にすぐれた治療法であると考えています (図 4)。

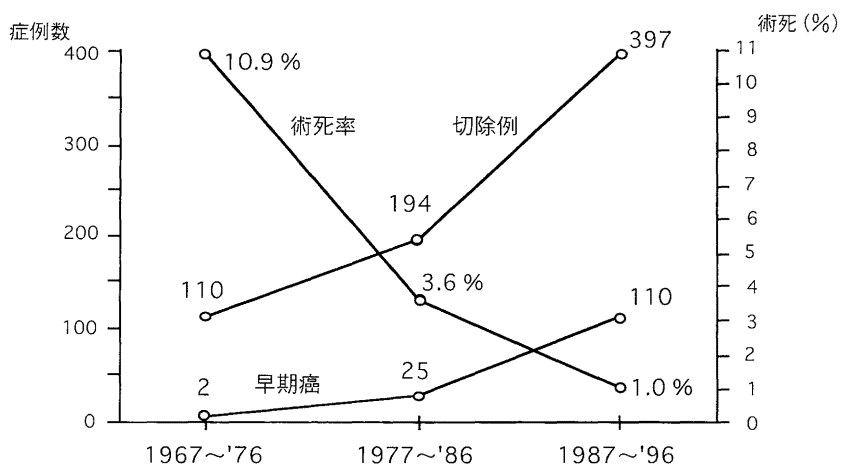
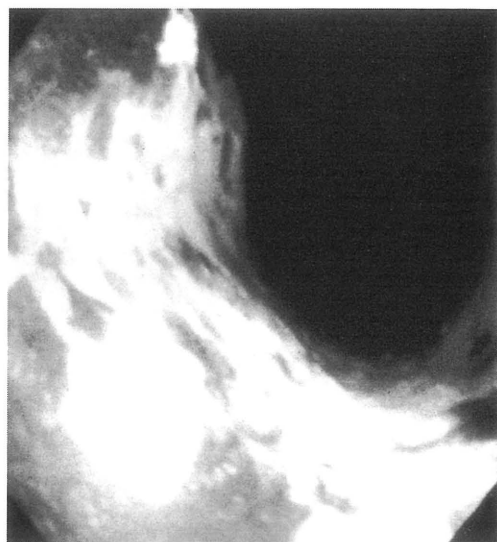


図 1 九大第二外科の食道癌症例 (1967-96 年)



染色前



染色後

図2 ルゴール染色による食道癌の早期発見
染色前は、軽度の不整が認められるのみであるが、
染色後は、病変は不染帯として描出され、その範囲
も明確になる。

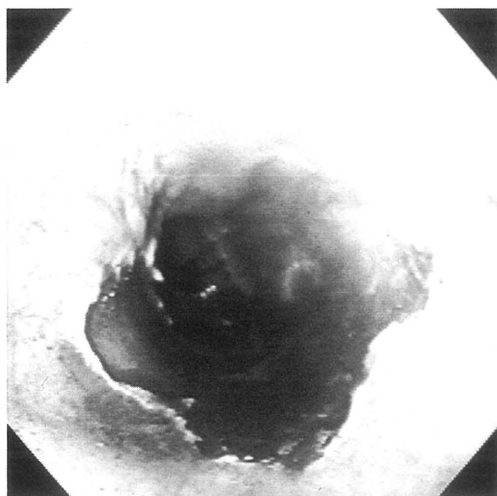


図3 内視鏡下粘膜切除直後の内視鏡像
病変とともに、食道粘膜が切除されている。

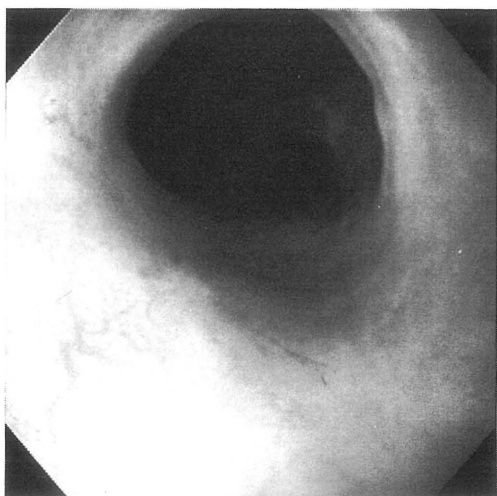


図4 内視鏡下粘膜切除後、2週間後の内視鏡像
粘膜切除部位は、ほぼ完全に再生されている。

ところで、過去30年間の教室の治療成績を見ますと、初期の10年間では治癒切除率がわずかに29.1%であったものが、最近の10年間では64.7%と長期生存が期待できる治癒切除率は著しく増加いたしました(図5)。

一方、治癒切除症例の5年生存率は、最近では51.9%となっており、食道癌が治癒困難な癌から長期生存が期待できる癌へと変貌していることがうかがえます。

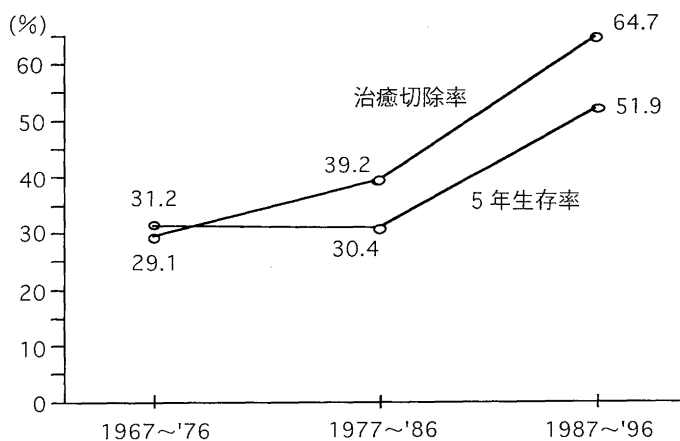
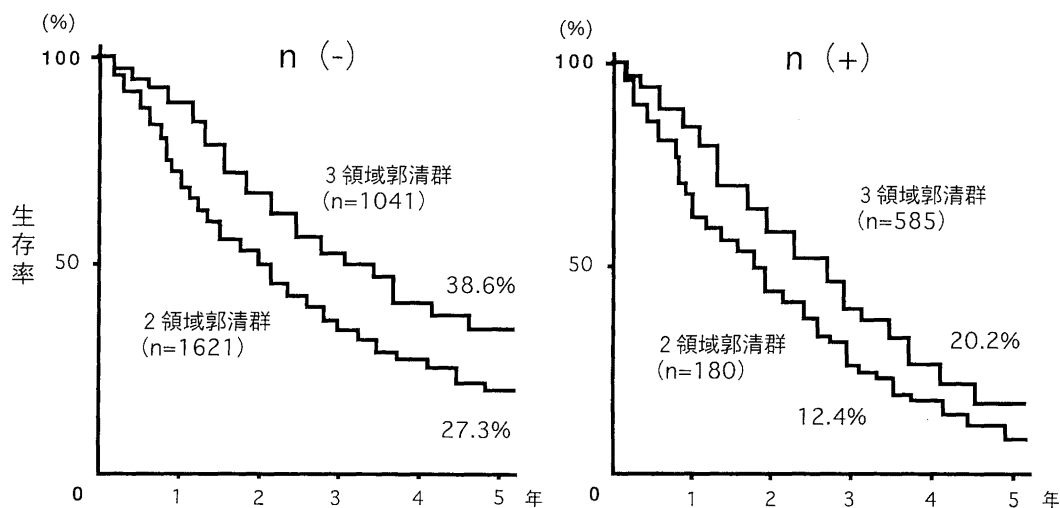


図5 治癒切除率と5年生存率 (1967-96年)

図6 2領域郭清と3領域郭清による遠隔成績
第44回食道疾患研究会(磯野可一)より引用

しかし、残念ながら、今日におきましても、まだ、切除不能の進行癌症例が多くみられ、これからの大きな課題であろうと考えています。

食道癌の手術におけるリンパ節郭清の重要性は、ここで述べるまでもございませんが、第44回食道疾患研究会で磯野教授がまとめられた全国集計をみましても、頸部、縦隔、腹部の3領域のリンパ節郭清の重要性がうかがえます(図6)。リンパ節転移のある症例では当然のことながら、病理組織学的にはリンパ節転移のみつかない症例に於きましても、スライド左側のように3領域郭清を行うことによりまして、5年生存率は、約38%向上いたします。従来の病理学的な検索では、転移(-)と判定された症例の中に、分子生物学的に詳細に検討いたしますと、約50%の症例で微小転移がみつかるからであります。このように小さな転移巣を予防的に郭清することが、食道癌症例の予後の向上に結びつくものと考えています。

II 新しい食道癌取り扱い規約（案）

ところで、1965年に中山恒明先生を中心にして発足した、食道疾患研究会では、1969年に食道癌取り扱い規約を作り、この規約にのっとり我が国の食道癌に関する臨床研究は進んでまいりました。

ところが、最近、徹底したリンパ節郭清が行われるようになり、気管周囲のリンパ節の重要性などが認識され、現行の規約改正の必要性が出てまいりました。

そこで、食道疾患研究会のリンパ節委員会では、平成4年以来、4年半の歳月をかけ、リンパ節の名称、リンパ節細分類、Gradingなどを検討して新しい規約（案）が出来上がりましたので、この改正点の主なところをここで御紹介させていただきたいと存じます（表1）。

作業といたしまして、表2の如くまず、手術症例の多い25施設の御協力を得て、原則として、3領域郭清を伴う治癒切除がなされた1702症例について、リンパ節の転移率、転移度、予後などを検討いたしました（表3）。

最も時間をかけ検討したところは、胸部気管リンパ節106番であります。これまでは、かなり広い範囲のものを

表1 食道疾患研究会 リンパ節委員会
(平成4年7月)

委員長	杉町圭蔵
委員	佐藤達夫, 甲 利幸, 小出義雄, 桑野博行, 鶴丸昌彦, 西平哲郎, 藤田博正, 松原敏樹
検討事項	
1	リンパ節の正しい名称の検討。
2	リンパ節の細分類。
3	予後を反映するような Grading
4	頸胸境界をはっきりさせる。
5	2 領域以上にまたがる癌や食道内多 発癌の取り扱い方を明記する。

表2 リンパ節転移調査参加施設

岩手医大1外科	東海大学外科
秋田大学2外科	富山医大2外科
東北大学2外科	新潟大学1外科
防衛医大2外科	愛知がんセンター胸外
千葉大学2外科	京都大学1外科
東京大学2外科	島根医大2外科
東医歯大1外科	広島大学原医研外科
慶応大学外科	山口大学2外科
東女医大消病センター	四国がんセンター外科
癌研消化器外科	九州大学2外科
虎の門病院消化器外科	久留米大学1外科
国立がんセンター	鹿児島大学1外科
杏林大学2外科	

表3 リンパ節転移調査アンケート概要
(参加施設: 25施設、総計: 1,702例)

1) 性別:	男性: 1,483例 (87.1) 女性: 205例 (12.1) 不明: 14例 (0.8)
2) 年齢:	30~89歳 (平均: 61.7歳)
3) 主占拠部位:	Ce : 40例 (2.4) Iu : 149例 (8.8) Im : 878例 (51.6) Ei : 421例 (24.7) Ea : 46例 (2.7) その他: 168例 (9.8)
4) 深達度:	ep : 32例 (1.9) mm : 107例 (6.3) sm : 412例 (24.2) pm : 232例 (13.6) a1 : 231例 (13.6) a2 : 577例 (33.9) a3 : 100例 (5.9) 不明: 11例 (0.7)

表4 106: 胸部気管リンパ節の細分類

106-rec	反回神経リンパ節 $\langle \begin{smallmatrix} R \\ L \end{smallmatrix} \rangle$ recurrent nerve lymph nodes
106-pre	気管前リンパ節 pretracheal lymph nodes
106-tb	気管気管支リンパ節 $\langle \begin{smallmatrix} R \\ L \end{smallmatrix} \rangle$ tracheobronchial lymph nodes

胸部気管リンパ節（気管後面より）

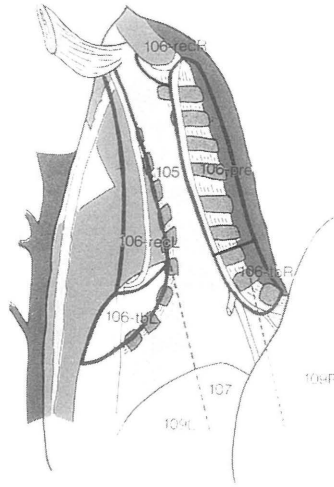


図7 胸部気管リンパ節106番の分類
気管後面より胸部気管リンパ節を見た図である。
図の様に5つに分類される。

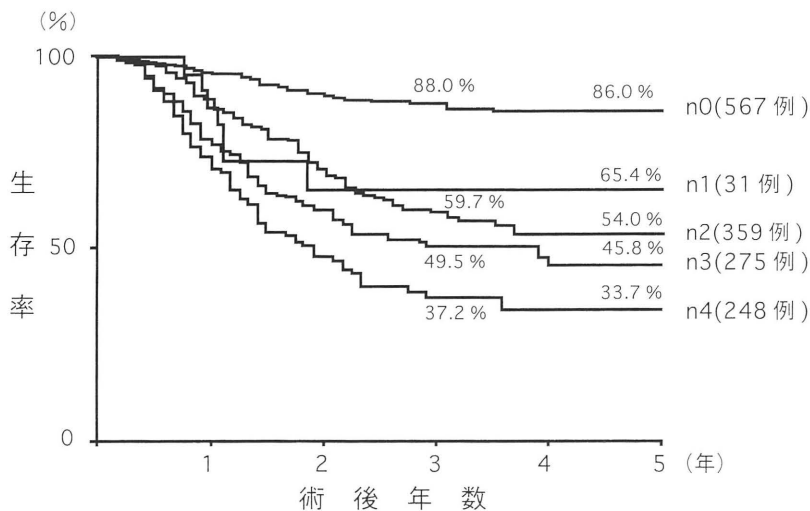


図8 現行規約によるn因子と予後

106番として1つにまとめていましたが、反回神経リンパ節、気管前リンパ節および気管気管支リンパ節の3つに細分化することにいたしました（表4）。

この中でも反回神経リンパ節は転移の頻度が高く、臨床的に非常に重要なリンパ節であります。

図7は、気管後面より胸部気管リンパ節106番を見たものでありますが、反回神経リンパ節、気管前リンパ節、気管気管支リンパ節を示しています。

従来の規約では食道に沿ったリンパ節のみを第1群としていましたが、今回の改正では、頸部食道癌では104番鎖骨上リンパ節、胸部上部食道癌では、頸部食道傍リンパ節や、反回神経沿いのリンパ節など、高率に転移がみられるリンパ節を第1群に加えました。表5は、Gradingの最終案であります。

今回、集計した症例について現在使われている規約でnと予後の関係をみましたところ、図8のようにn1(+)の症例数が少なく、n2(+)との間で予後に差がないことがわかりました。

一方、食道癌の予後はリンパ節転移個数と深い関係にあることが知られていますが、今回の症例について転移個数と遠隔成績をみますと、転移個数は予後を規定する重要な因子であることがわかります。特に、転移が4個以上あると遠隔成績は悪くなり、更に、8個以上では著しく低下しています(図9)。

表 5 新規約案における1群、2群リンパ節の転移陽性率

占拠部位		N 1		N 2			
頸部食道 Ce		101 31.0%		102 20.0%			
		<u>104</u> 38.7%		<u>106-rec</u> R38.9% L50.0%			
胸部食道	上部 Iu	105 24.5%		<u>104</u> 17.9%		108 7.5%	
		<u>101</u> 29.7%		106-tb 5.8%		<u>109</u> 2.7%	
		<u>106-rec</u> R 30.8% L33.0%		107 4.7%			
	中部 Im	108 21.4%		<u>101</u> 17.7%		<u>109</u> 11.6%	<u>3</u> 12.3%
		<u>106-rec</u> R22.5 L16.3%		105 10.6%		<u>110</u> 13.7%	<u>7</u> 14.0%
				106-tb 7.3%		1 18.6%	
				107 12.8%		2 13.6%	
	下部 Ei	110 22.5%		<u>106-rec</u> R14.3% L10.7%		111 7.4%	<u>20</u>
		<u>1</u> 31.7%		<u>107</u> 8.5%		112 17.3%	
		<u>2</u> 28.0%		108 18.3%		3 20.8%	
				109 11.3%		7 21.1%	
腹部食道 Ea		1 45.2%		110 11.4%		(<u>4</u>)	
	2 37.2%		111 14.3%		(10) 7.1%		
	3 23.8%		7 25.6%		(11) 4.5%		
	<u>20</u>		9 7.7%		<u>19</u>		

Grade up

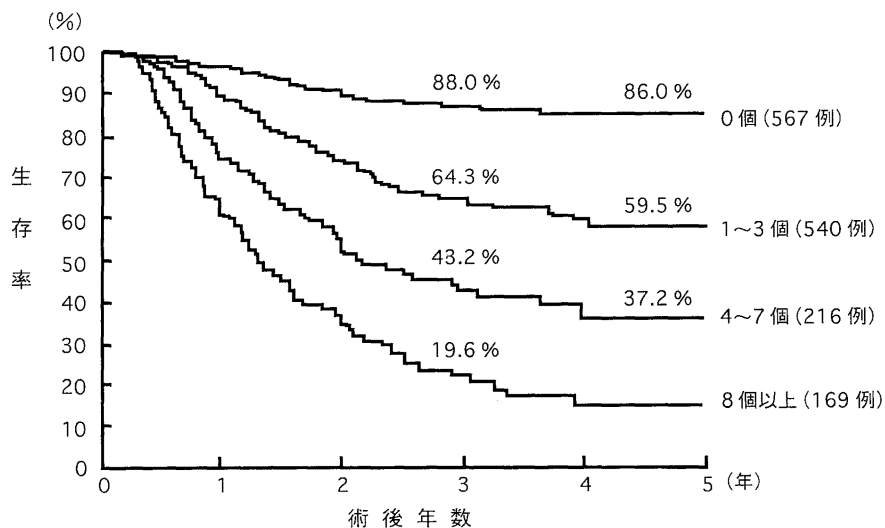


図 9 リンパ節転移個数による生存率

そこで、今回の新しいnのgrading(案)に転移の個数を加味することにした。即ち、リンパ節転移が4~7個ありますと、nのnumberに1を加え、更に、転移が8個以上の場合には、n-numberに2を加えることと致しました。その結果、新しいn-numberと予後は深い関連性を持つことがわかりました(図10)。

これらのデータを基に、渡辺寛先生が委員長をなさっています規約委員会で検討していただき、N-numberと深達度を組み合わせた、表6のような新しいstage案が出来ております。

この新しいstage(案)で予後を見ますと図11のように、stage1から4の間で、それほど症例数に片寄りがなく、しかも、stageと予後は極めてよく相関することがわかります。この新しい規約は、今年度中には、正式に決定する予定であります。

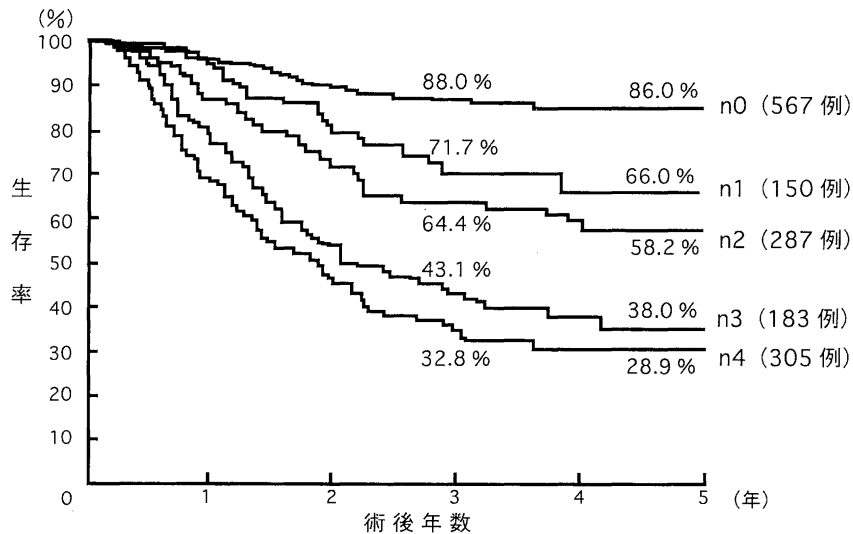


図10 Grade別生存率

(転移個数による補正: 4~7個を grade 1 up, 8個以上を grade 2 up とする)

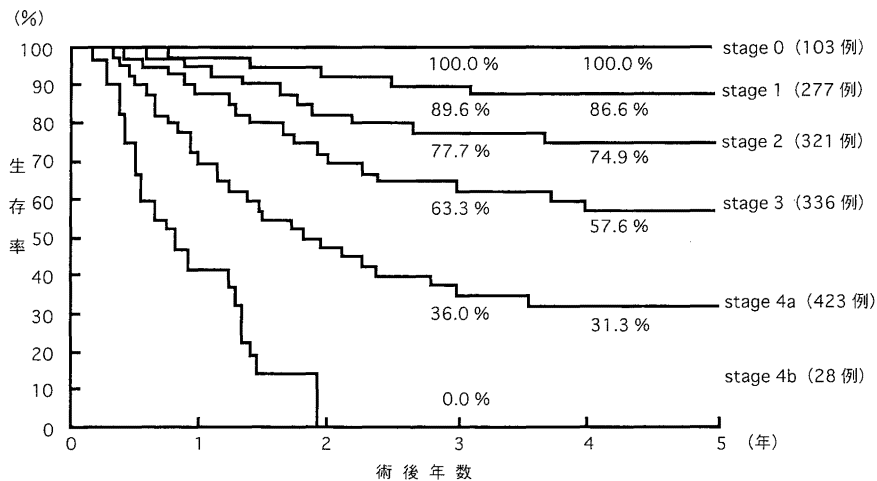


図11 新しいstage(案)別生存率

III 癌の発生とその原因

次に、教室で行っております食道癌の発生に関するいくつかの基礎的な研究を紹介させて頂きたいと思います。

食道癌の発生についてお話をする時に、さけて通れないのが、異型上皮 dysplasia であります。

Dysplasia は、Mild, Moderate, Severe の3段階に分けられています。

食道癌切除例で Dysplasia 併存の頻度をみますと、粘膜内癌では実に 71% と多く、深達度が深くなるにつれて Dysplasia を併存する頻度は減少しており、Dysplasia は癌の発生の比較的早い時期と深い関係があることがうかがえます (表 7)。

次に、細胞の増殖活性を示すと言われております核小体オーガナイザー (AgNOR) を染色いたしました。

核小体は、リボゾームの機能であります蛋白合成に深く関与しており、核小体数及びその大きさは、細胞の活動性をよく反映しており、蛋白合成の盛んな細胞、あるいは分裂の盛んな細胞では多くの核小体が染色されます。

食道各病変の AgNOR 数を比較いたしますと、Dysplasia の異型細胞層では 2.6 と、上皮内癌の 2.78 とほぼ同じ程度の増殖活性がみられ、Dysplasia では蛋白合成や細胞分裂が、盛んに行われていることが判明いたしました (表 8)。

表 6 新 stage 分類案

T \ N	N 0	N 1	N 2	N 3	N 4
T 1 a	0	I	II	III	IV a
T 1 b T 2	I	II	III	III	IV a
T 3	II	II	III	IV a	IV a
T 4	III	IV a	IV a	IV a	IV b

脚注 1) Tis (ep): stage-0

2) T 1 a=T 1-M, T 1 b=T 1-SM

3) P 1, P 1 1, M 1=stage-IV b

表 7 深達度と dysplasia 併存の頻度

深達度	症例数	異型上皮 (+)
粘膜内癌	31	22 (71)
粘膜下層	60	22 (37)
筋層	34	10 (29)
外膜	123	19 (15)
計	248	73 (29)

(%)

表 8 各病変の増殖活性 (AgNOR)

病変	1 核当たりの AgNOR 数
正常上皮 (n=22)	1.77±0.14
異型上皮 (n=22)	2.60±0.39
上皮内癌 (n=17)	2.78±0.51
進行癌 (n=14)	3.67±0.85

表 9 各病変に於ける p 53 蛋白の発現

病変	p 53 蛋白の発現
正常上皮 n=10	0
異型上皮 n=179	92 (51)
上皮内癌 n=90	46 (51)
進行癌 n=35	19 (54)

(%)

mild dysplasia 60%
moderate dysplasia 49%
severe dysplasia 45%

次に、免疫組織学的に p 53 蛋白の発現を検索いたしました。図 12 で上の HE 染色と対比していただきますとわかりますが、異型上皮に異常な p 53 蛋白が発現しています。

癌抑制遺伝子 p 53 の変異は癌化における、比較的早い時期の event であることが知られております。図 13 は上皮内癌のところに限局して発現している p 53 蛋白を示しています。

p 53 の遺伝子の変異は食道癌では約半数の症例で見られますが、正常上皮では全く見られません。異型上皮では上皮内癌や進行癌とほぼ同じ頻度で p 53 蛋白の変異がみられております。表 9 下の欄外に示していますが、しかし、Dysplasia の程度による差はありませんでした。

現行の規約では dysplasia の定義は表 10 のようになっていますが、これまでの成績から、Dysplasia の多くは良性というより、分子生物学的にみまると、すでに癌性変化をきたしたものであり、この段階で内視鏡下の粘膜切除などを行うことにより、小さな侵襲でより大きな治療効果が得られるものと考えています。

次に、食道癌がどのように発生しているのか、ここで少し考えてみたいと存じます。切除標本の組織像を詳細に検討いたしますと、その形態は極めて多彩でありまして、少なからず腺構分化がみられます。

食道の扁平上皮癌には、唾液腺に発生する腫瘍に類似した形態をとる癌が混在していることが多く、このような癌では発生母地として扁平上皮だけでは説明が困難であります。

また、図 14 の症例では扁平上皮癌は、まだ上皮内癌であるにもかかわらず、粘膜固有層および粘膜下層に腺癌がみられます。このように、全く異なる扁平上皮癌と腺癌は偶然に同じ場所にしかも時を同じくして発生したのでありましょうか？

切除食道癌 310 例中について詳細に検討いたしますと、実に 50 例 (16%) に、このような扁平上皮癌と腺癌が混

表 10 異型上皮 (dysplasia)

重層扁平上皮への分化傾向を示すが、異型核を有する細胞の異常増生よりなる病変で、癌ほどの核異型や上皮・細胞・核の極性の喪失は認められないもの。

(食道癌取り扱い規約 第 8 版 1992 年)

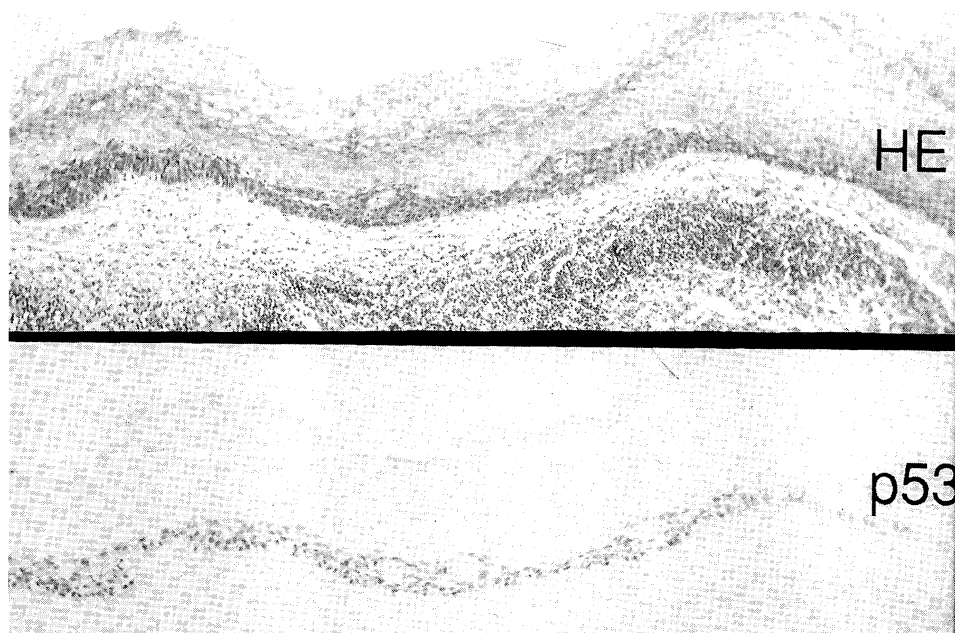


図12 食道異型上皮の HE 染色と p 53 免疫染色標本
異型細胞に一致して p 53 蛋白の発現が認められる。

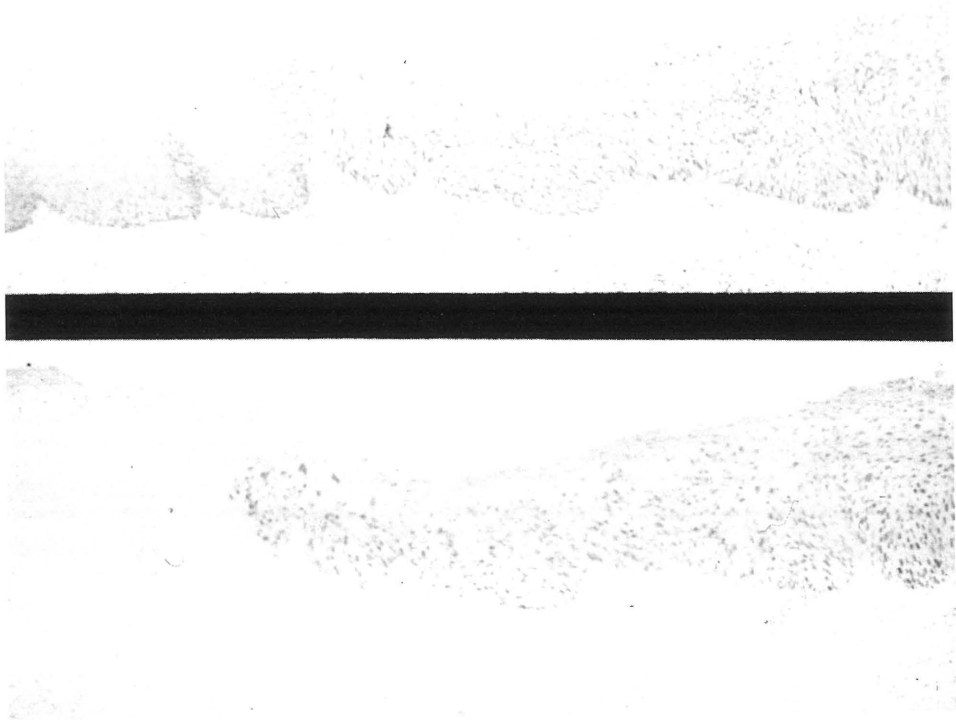


図13 食道上皮内癌と HE 染色(t)と p 53 免疫染色(f)標本
上皮内癌の部位に限局して p 53 蛋白の発現を認める。

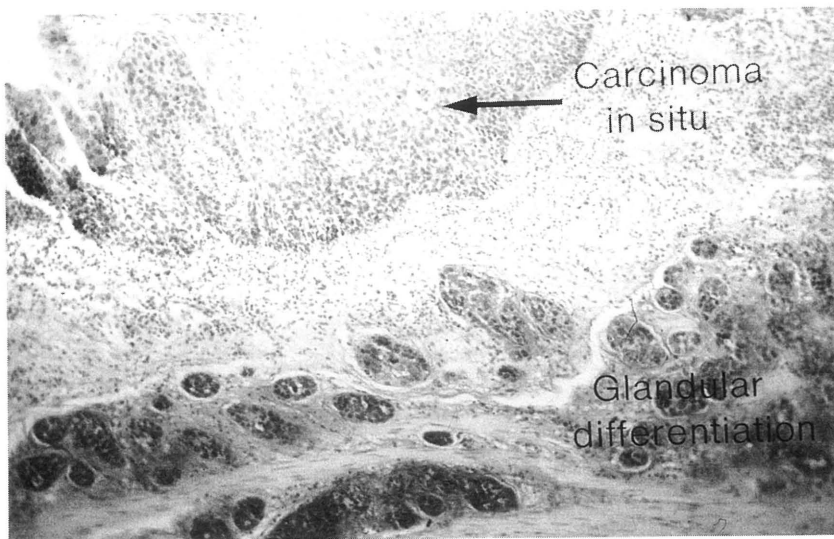


図14 食道同部位に認められた扁平上皮癌と腺癌
扁平上皮癌は、まだ上皮内癌であり、粘膜固有層及び粘膜下層に腺癌が認められる。

在しておりました（表 11）。

このような食道癌症例の発癌過程をどのように考えたらよいのでしょうか。

私共は、食道の扁平上皮のみではなく、食道固有腺やその導管なども含めた、ある程度の広がりを持った細胞群が、ほぼ時を同じくして、癌化したものと考えています。

表 11 腺構分化（glandular differentiation）の頻度と局在

頻度	腺構分化			
	（＋）		（－）	
	50 (16.1)		260 (63.9)	
部位	glandular	組織型 cribriform	mucoepidermoid	計
粘膜層	13	3	4	20 (40)
粘膜下層	11	7	3	21 (42)
筋層	4	4	1	9 (18)
計	28	14	8	50 (100)

(%)

表 12 癌領域発生（field carcinogenesis）の概念

- ・食道癌の組織像は必ずしも単一の扁平上皮ではなく、腺構分化が存在している。その局在は粘膜固有層や粘膜下層に多い。
- ・食道癌では、上部消化管との重複癌や同時性・異時性の食道内多発癌の頻度が高い。



食道癌の発生形式として、被覆上皮およびその導管も含めたある範囲の上皮が、ほぼ時を同じくして発癌していることが明らかとなり、この発癌形式に対して、癌領域発生 Field carcinogenesis を提唱する。

表 13 癌領域発生（field carcinogenesis）

食道癌に関する癌領域発生（field carcinogenesis）を提唱
 Cancer 56, 1985
 Cancer 62, 1988
 Cancer 68, 1991
 Cancer 75, 1995

<概念>

1. 多臓器にわたる癌発生
頭頸部・食道・呼吸器系の多重癌
2. 臓器内多発癌
multiple cancers（食道内多発癌など）
3. 細胞レベルでの field carcinogenesis
病巣内多細胞同時癌化（heterogeneity）

これに field carcinogenesis 癌領域発生と名付けておりますが、この概念は、1 個の細胞が、癌化して、2, 4, 8, 16 と増殖していくのではなく、ある程度の広がりをもった細胞群が、ほぼ時を同じくして、癌化するということであります (表 12)。

広い意味では臓器を越え、多臓器にまたがる重複癌、あるいは、食道内の多発癌、さらに、ある範囲の細胞群が

表 14 食道癌の発生の地域性

食道癌多発地域	タバコ、酒との関連が少なく男女比が小さい地域 …カザフスタン、チリ、プエルトリコなど	→	カビ, virus などの感染や発癌物質
中等度発生地域	男性に多く、タバコ、酒などの Risk Factor と関係がある …フランス、シンガポールなど	→	タバコ、酒などが関与
食道癌の少ない地域	食道癌発生が極端に少ない地域 …ニカラグア、ホンジュラスなど	→	Risk factor が少ない

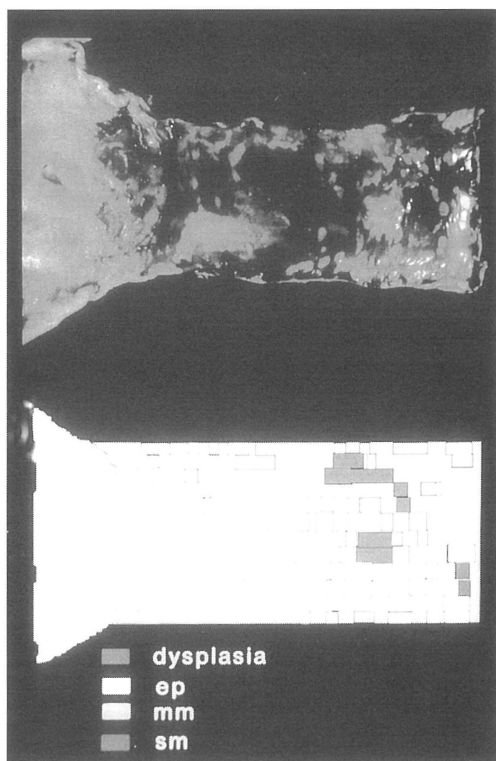


図15 食道癌切除標本のルゴール散布像と組織学的病変の diagram

様々な悪性病変が多数混在している。

ほぼ時を同じくして癌化する細胞レベルでの多発癌などが考えられると思います。この概念は1985年に報告以来、今日までに多くの証在を明らかにしてまいりました (表 13)。

図 15 の上段は、切除標本にルゴールを散布したものです。病理学的にみますと下段のように、いろんな程度の悪性病変が多数混在しており、かなり広範囲の細胞群が時をほぼ同じくして癌化していることがわかります。これも Field carcinogenesis 癌領域発生の 1 つの型だろうと考えています。

それでは、なぜこのように時を同じくして、多くの細胞群が癌化するのでありましょうか。

それを解くにはいくつかのカギがあるように思います。

まず、疫学的に見ましても、食道癌の発生頻度から大きく地域を 3 つに分けることができます。第 1 は、発生率が高く、タバコや酒との関連が少なく、しかも、男女比が比較的小さな地域であり、この地域ではカビや発癌物質、あるいは virus などの関与が疑われます (表 14)。

第 2 は、男性に多く、中等度の発生頻度でタバコや酒などの Risk Factor が関与していると考えられている地域であります。日本では毎年 10 万人当たり 7~8 人の食道癌が発生しますので、この第 2 群に入ります。

第 3 は、食道癌の発生が極端に少なく、Risk Factor が少ない地域であります。

ところで、Human Papillomavirus と食道癌との関係については 1986 年に Kulski らにより、初めて報告されていますが、教室では、1989 年に免疫組織学的手法を用いて、

我が国の食道癌症例に於いても、その頻度は決して高くありませんが、HPV の蛋白が証明されることを報告いたしました (表 15)。

子宮頸癌の HPV や肝細胞癌の B 型肝炎 virus に比べますと、その頻度は著しく低いようですが、我が国に於いても、食道癌の発生に Human Papillomavirus が関与している症例があることが疑われます。

しかし、我が国では、むしろタバコや酒との関係が強く疑われています。

教室では、男性の下咽頭・頸部食道癌 136 例と、これに年齢を対応させ良性疾患 272 例について、喫煙歴、飲酒歴および家族歴を調べ、下咽頭・頸部食道癌の危険率を算出いたしました (図 16)。

喫煙量では喫煙指数が 1000 以上になりますと、下咽頭・頸部食道癌になる危険率は 9.3 倍、飲酒については、飲

表 15 HPV と食道癌に関する報告

報告者	年	方法	頻度
Kulski Lancet	1986	In situ hybridization	5/10 (50.0%)
教室 (Mori) Am J Gastroenterol	1989	Immunohistochemistry	8/46 (17.4%)
Chang Int J Cancer	1990	In situ hybridization	2/51 (3.9%)
教室 (Toh) Cancer	1992	PCR	3/45 (6.7%)
Benamoutig Int J Cancer	1992	Dot blot hybridization	3/12 (25.0%)
高知医大 (Furihata) Int J Cancer	1993	In situ hybridization	24/71 (33.8%)

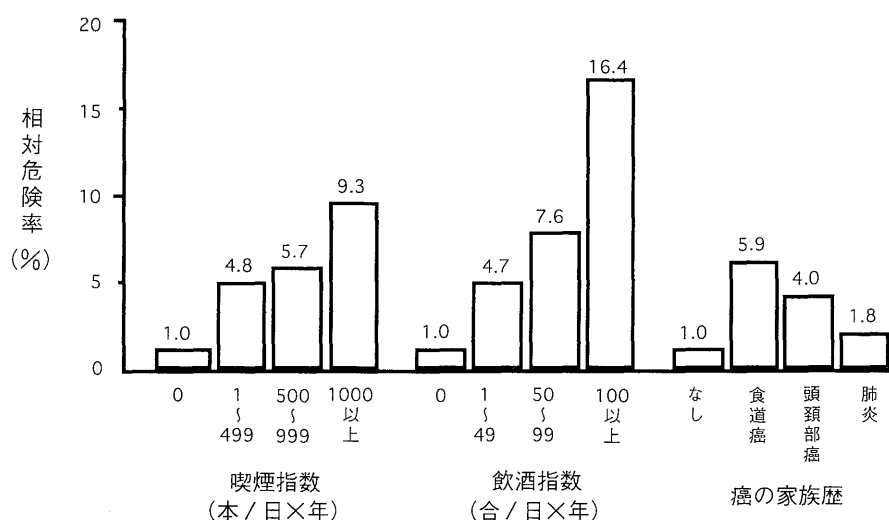


図 16 喫煙、飲酒、家族歴からみた下咽頭・頸部食道癌の相対危険率

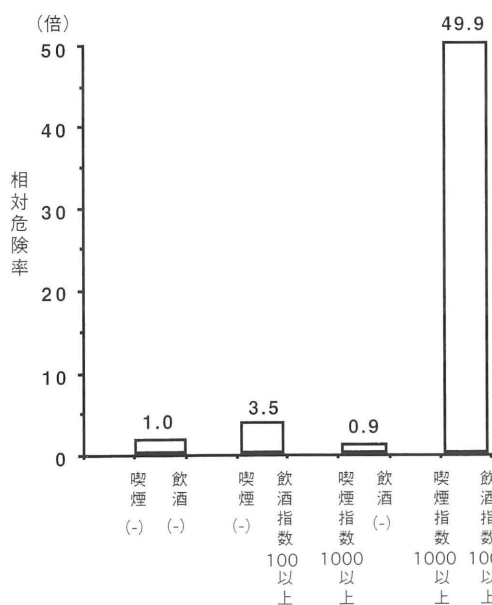


図17 喫煙と飲酒からみた下咽頭・頸部食道癌の相対危険率

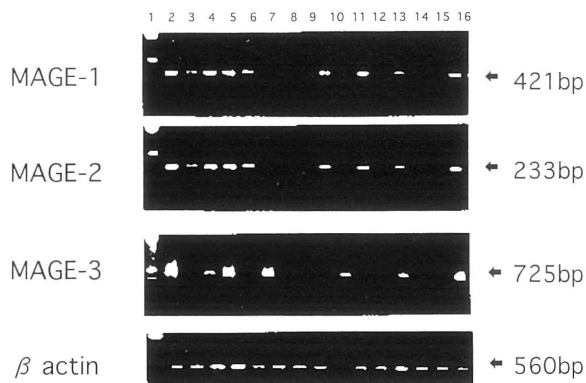
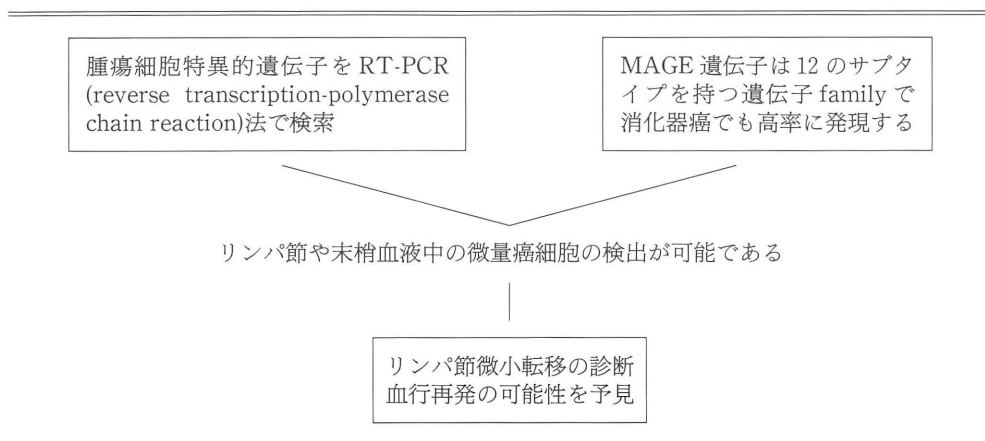


図18 臨床食道癌症例における MAGE-1, 2, 3 遺伝子の発現

表 16 食道癌への遺伝子診断の応用

- 1 MAGE 遺伝子を用いた微量食道癌細胞の存在診断
- 2 Microsatellite instability の新しい検出法と癌罹患危険性の判定

表 17 MAGE 遺伝子を用いた微量食道癌細胞の存在診断



酒指数が 100 以上になりますと 16.4 倍と増加することがわかりました。

次に、喫煙と飲酒を組み合わせますと、図 17 のように喫煙、飲酒のどちらか一方のみでは危険率の増加はありませんが、heavy smoker で、かつ、大量のお酒飲みではその危険率は約 50 倍と、特に高い値を示しており、多くのタバコとお酒を共にたしなまれる方に、注意を喚起したいと思います。

IV 遺伝子診断の臨床応用

近年の分子生物学の進歩により、消化器癌の発生や進展の分子機構が次第に明らかにされてきました。それに伴い、これらの知見を臨床に応用する、多くの試みがすでになされています。

現在、私共が行っております癌特異的なマーカー遺伝子としての MAGE 遺伝子を用いた、微量の食道癌細胞の存在診断と、DNA ミスマッチ修復能の異常を示す microsatellite instability の新しい検出法の開発、さらに、その臨床応用について御紹介致したいと存じます (表 16)。

MAGE 遺伝子は、メラノーマ細胞より同定された遺伝子で、12 のサブタイプを持つ遺伝子 Family です。正常では、精巣以外では発現がみられませんが消化器癌では高率に発現し、腫瘍特異的遺伝子であることがわかっています。この MAGE 遺伝子の発現を感度の高い方法であります RT-PCR 法を用いまして、リンパ節や末梢血における極めて微量の食道癌細胞の存在診断を試みました (表 17)。

図 18 は原発巣における MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3 遺伝子の発現を RT-PCR 法で検出した結果であります。多くの症例でいずれかのサブタイプの MAGE 遺伝子が発現していることが分かります。

50 例の食道癌症例で、12 種の MAGE 遺伝子のサブタイプの発現の有無をみましたところ、94% の症例で少なくとも 1 種類以上の MAGE 遺伝子のサブタイプが発現していました (図 19)。

このことを利用して、組織学的にリンパ節転移陰性と判定された 14 例に対し、原発巣で発現している MAGE 遺伝子のサブタイプの RT-PCR を行いましたところ、7 例のリンパ節で MAGE 遺伝子の発現が検出され、微小転移が形成されていることが判明いたしました。このうち 2 例でリンパ節再発を認めております。このことから、臨床病理学的にはリンパ節転移 (一) と診断されている症例に対する 3 領域郭清などの徹底したリンパ節郭清の重要性が御理解いただけるものと思います (表 18)。

表18 MAGE によるリンパ節転移の
遺伝子診断

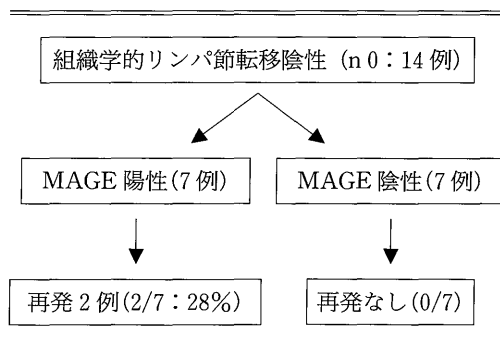
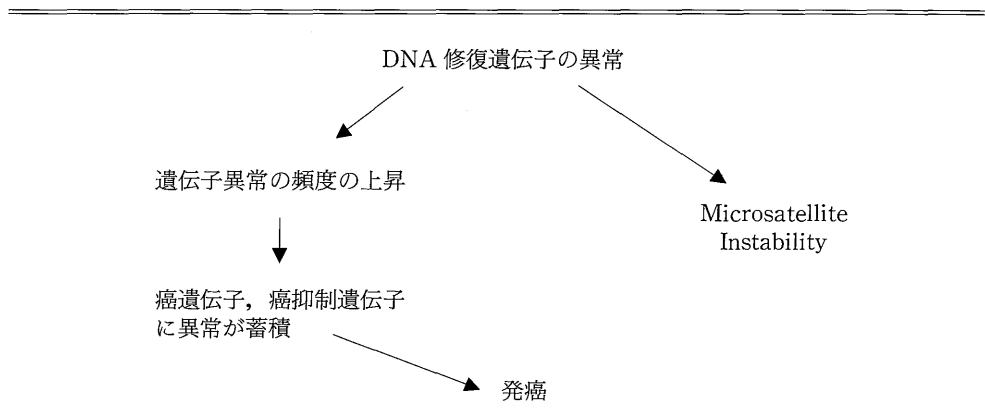


表19 治癒切除例の末梢血液中における MAGE 遺伝子の発現と再発

再発	MAGE 遺伝子発現	
	陰性 (n=11)	陽性 (n=5)
なし	11	3
あり	0	2 (肝転移 肺転移)

表20 DNA ミスマッチ修復に異常があると発癌の危険性が高くなる



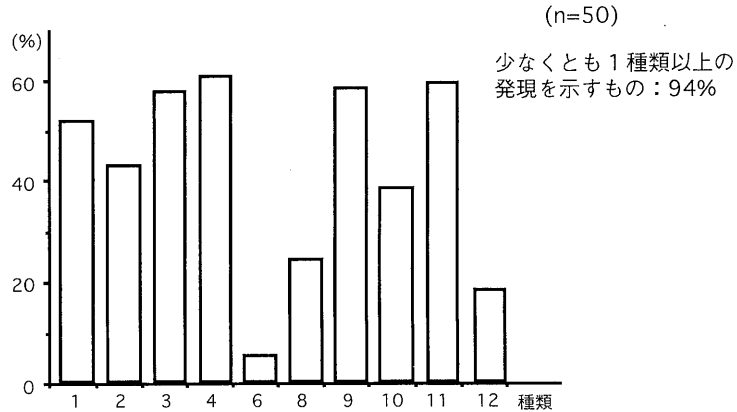


図19 食道癌における MAGE family の発現

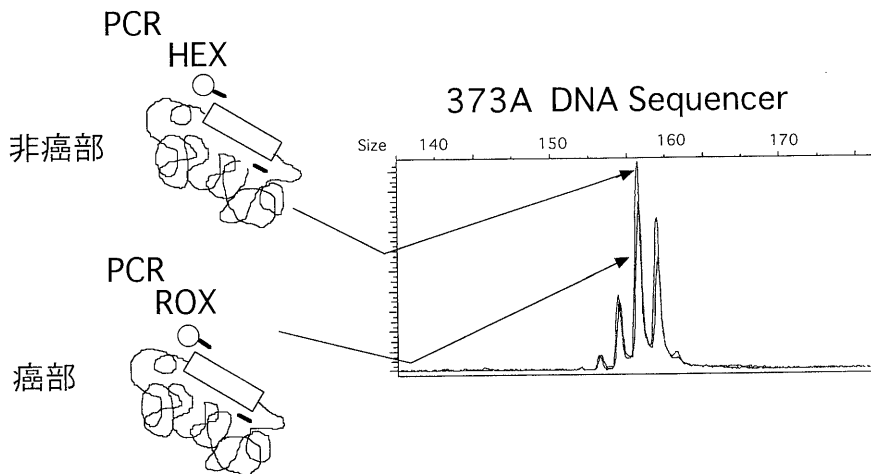


図20 蛍光プライマーを用いた Microsatellite Instability 解析法

また、末梢血中においても、16例中5例に MAGE 遺伝子の発現を認めており、うち2例では再発いたしました(表19)。

このように、90%以上の食道癌症例で MAGE 遺伝子は発現していますので、これを標的として、リンパ節や末梢血中の微量の食道癌細胞の存在診断が可能です。今後、このような分子生物学的な診断を行うことによりまして、術後の化学療法や放射線療法の適応決定、治療効果の判定、さらには予後を見る上で有力な情報を与えてくれるものと思います。

ところで、DNA ミスマッチ修復の異常、すなわち、DNA 修復遺伝子の異常により遺伝子変異の頻度が上昇し、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常が蓄積して発癌につながるということが知られています(表20)。

DNA ミスマッチ修復能の異常は、マイクロサテライト領域の不安定性、つまり、microsatellite instability の検出により判定することが可能です。そこで、私共が開発した microsatellite instability の新しい検出法と、その臨床応用についてのべてみたいと思います。

microsatellite instability は、従来、radioisotope を用いて検索されていますが、この方法では、定量性、客観性、安全性、迅速性などに問題があります。

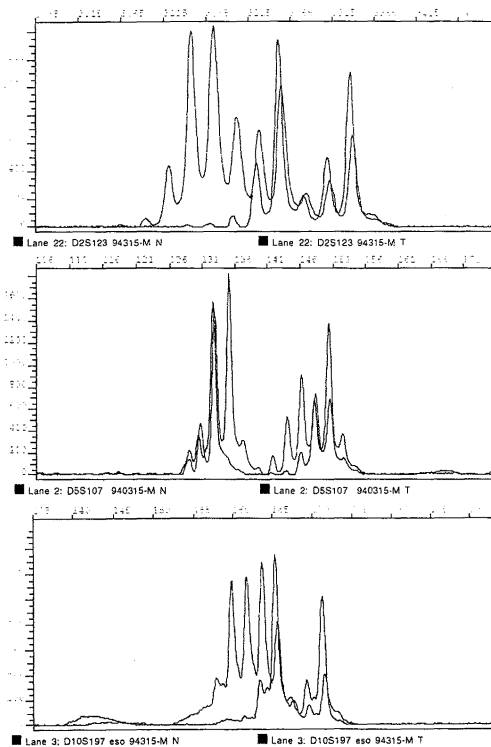


図21 Integrated Microsatellite Length Analysis 陽性例 (食道癌)

私共が開発した方法は、癌部と非癌部から抽出した DNA に対し、別々の蛍光でラベルした PCR プライマーを用いて、各マイクロサテライト領域を増幅し、DNA 自動シーケンサーで電気泳動し、専用の DNA 解析ソフトでコンピュータ解析を行います (図 20)。

結果は癌部と非癌部を同一のレーンにアブライでき、また、癌部と非癌部で各々異なる色で表示され、ピークの高さで定量的な判断も可能であります。

食道癌における microsatellite instability 陽性症例を示します (図 21)。3つの異なるマイクロサテライト領域において、癌部で明らかに位相が異なるピークが出現しており、この症例では、microsatellite instability 陽性、つまり DNA ミスマッチ修復能の異常があることがわかります。

本法を用いて多くのデータを蓄積することにより発癌における DNA ミスマッチ修復能の異常の意義を明らかに出来、ひいては、発癌のリスクの評価が可能になってくるものと期待しております。食道癌だけではなく、胃癌、大腸癌、乳癌、肺癌症例などにおける microsatellite instability のデータを現在蓄積しているところであります。

V 癌遺伝子治療の試み

さて、最近の分子生物学の発達、癌が遺伝子異常により発症していることを明らかにし、癌に対する遺伝子治療が注目を集めているところであります。

私共は、まだ in vitro の段階ではありますが癌遺伝子治療の可能性に挑戦しています。

細胞周期制御機構が破綻しているヒトの大腸癌細胞株に正常な遺伝子を導入することにより、抗癌剤に対する感受性が得られ、アポトーシスが誘導されることが判明いたしました (図 22)。

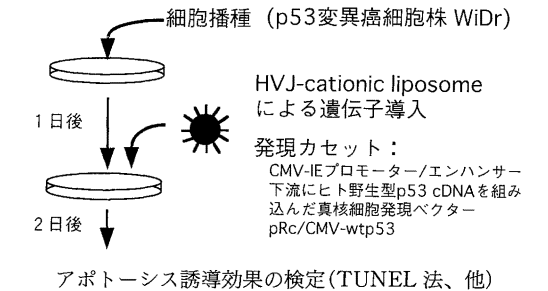


図22 Wild-Type p53 遺伝子導入による p53 変異癌細胞株へのアポトーシス誘導実験

表21 遺伝子治療における諸問題

1. 技術的問題
 - 1) より安全性の高いベクターの開発とその品質管理
 - 2) より導入効率が高く、細胞特異的遺伝子導入が可能なベクターの開発
2. 社会的問題
 - 1) 独自の遺伝子治療プロトコル審査体制および審査基準の制定
 - 2) ベクター供給体制 (ロット、品質管理) の確立
 - 3) 専用治療施設の設定
 - 4) 各種関連学会によるバックアップ

癌抑制遺伝子の p 53 は多くの癌で変異が検出されており、細胞周期を負に制御し、さらに、細胞死であるアポトーシスに関与していると考えられております。

p 53 の変異を有する大腸癌細胞株を培養し、私共が遺伝子治療用ベクターとして改良を加えた HVJ-カチオニック リポゾームで、ヒトの野生型 p 53 cDNA を導入いたしました。

2 日後に、タネル法で染色し、アポトーシスを観察しました。この細胞癌はアドリアマイシンに対して、強い耐性を有していましたが、p 53 遺伝子の導入により右側のように、断片化した核は陽性に染色されており、アポトーシスが高頻度におこっていることがわかります。また、染色されていない他の細胞も、核がかなり濃縮し、細胞が球形に変形しています (図 23)。

このように、p 53 遺伝子異常を有する癌細胞に wild type の p 53 遺伝子を導入することにより、アポトーシスが誘導されたことはこれからの癌遺伝子治療に一石を投じるものであろうと考えています。

しかし、癌に対する遺伝子治療を臨床の場で行うには、表 21 のように、これから解決しなくてはいけないいくつかの技術的な問題、あるいは社会的な問題があります。

21 世紀においても、固型癌の治療の中心は手術であることには変わりがないと思われませんが、遠隔に転移を有す

WiDr(ヒト大腸癌細胞株): p 53 変異 ²⁷³Arg→His

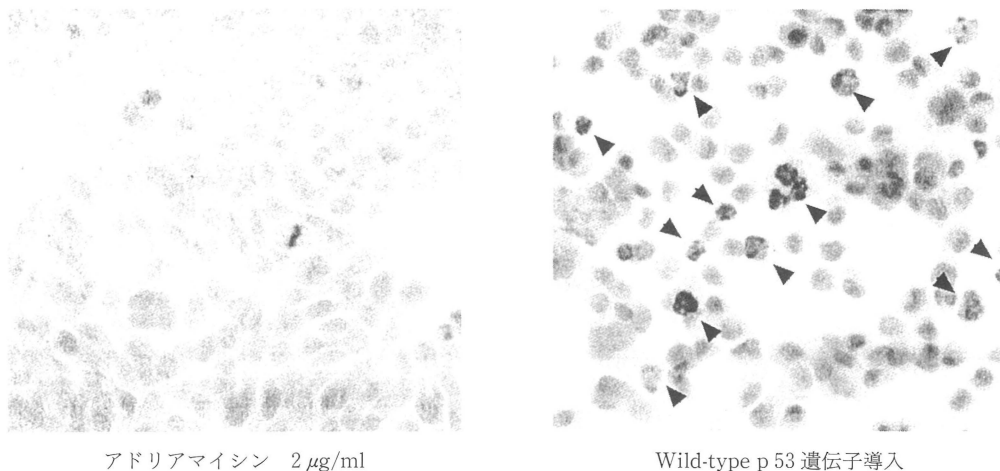


図23 Wild-type p 53 遺伝子導入による癌細胞へのアポトーシスの誘導
-TUNEL 法による検出-

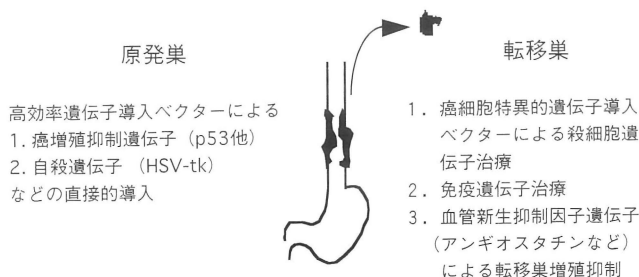


図24 21 世紀における食道癌の遺伝子治療

るような非常に進んだ癌，あるいは，ごく初期の癌に対しては遺伝子導入ベクターを用いて癌細胞の増殖抑制あるいは，転移抑制などが臨床の場において行われるものと期待されます（図 24）。

VI おわりに

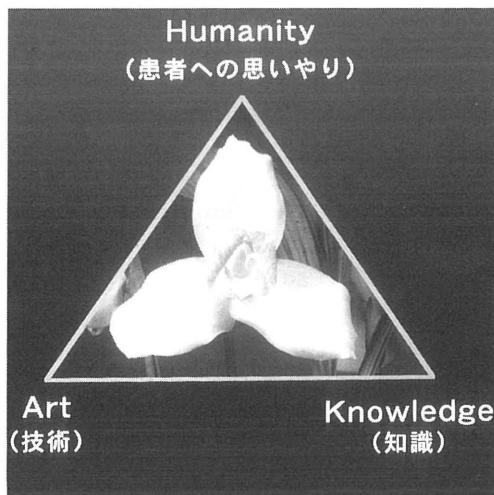
今世紀も，いよいよ世紀末を迎えています，21 世紀の疾病はどのようなのでありましょうか。

たとえ，多くの病気が克服されたといえしまでも，AID virus，エボラ出血熱 virus などの新しい病原体が出たり，あるいは耐性菌の出現により，生物の中で最も進化した人間と，最も小さな病原体であります Virus との熾烈な戦いが繰り広げられるのではないのでしょうか。

しかし，21 世紀に於いても，医学は人間を対象とする学問であり，外科医は Humanity に富み，患者さんの心の痛みの分かる医師であって欲しいと願っています。ここ数年で，外科はすばらしく発展致しました。最新の知識を吸収し，更に，外科医としての最高の手術手技を身につけ，医療の現場で，自分の持っているすべてを，患者さんにぶつけ，奉仕できることに，喜びを感じるような外科医が一人でも多く誕生することを願っています（図 25）。

最後になりましたが，このような発表の機会を与えていただきました高橋会長，司会の労をお取りいただいた磯野教授，それに，永年，食道癌の研究を支えていただいた，教室の食道グループの皆様方に心より感謝致します。

御清聴ありがとうございました（表 22）。



外科医には豊かな人間性と豊富な知識，それに先端的な技術が要求される。

図25 理想的な外科医像

表22 共同研究者

中村輝久，上尾裕昭，桑野博行，森 正樹， 北村昌之，松田裕之，大野真司，藤也寸志， 中島秀彰，筒井信一，北村 薫，森田 勝， 織田信弥，米満吉和，渡邊雅之，三森功士， 住吉康平，園田耕三，佐伯浩司，川口英俊 江頭昭典，荒木貢士
--

（本稿は平成 9 年 4 月，日本外科学会総会における教育講演として発表されたものである。）