

表2 わが国での第Ⅲ相試験の生存率の比較

	S-1 S-1+CPT-11 (GC0301/TOP-002)	S-1 CPT-11+CDDP (JCOG9912)	S-1 S-1+CDDP (SPIRITS試験)	S-1 S-1+Docetaxel (START試験)
MST	10.5 M 12.8 M	11.4 M 12.3 M	11.0 M 13.0 M	11.0 M 13.0 M
1-year survival rate	45.0% 52.0%	49.7% 52.5%	46.7% 54.1%	46.0% 52.5%
2-year survival rate	22.5% 18.0%	— —	15.3% 23.6%	20.6% 23.7%

上段はS-1単独、下段は試験治療群である。

(Kim, ASCO-GI 2011)

と考えられる。また、評価病変のある症例での比較で奏効率やTTP是有意差が認められたものの、OSで有意差が認められなかった。しかしながら、SPIRITS試験でも同様に主要評価項目のOSの延長が認められたが、評価病変のある症例に関しては、サブセット解析の結果からは必ずしも予後の延長に寄与しているという成績でなかったのも大変興味深い。START試験での評価病変のない症例割合が、SPIRITS試験と比較し、少なかったことも本試験において全体の予後延長効果で統計的有意差が得られなかつた理由の一つである可能性も否定できない。今後評価病変のある患者での新たな治療法の開発が望まれると同時に、腫瘍の縮小が認められたのち、根治切除術を行うことの妥当性や予後の延長の寄与に関しても検討する必要があると考えられた。参考までに、これまでのわが国での臨床試験の結果を、表2に示す。

本試験のMSTが13ヵ月であることや、その他の治療成績をみると、SPIRITS試験の結果と酷似していることは大変興味深い。ドセタキセル+S-1併用療法は本試験の主要評価項目を満たさなかつたものの、高齢者や腎機能低下症例でプラチナ製剤の使用しにくい症例にとっては、外来通院治療も可能であり、治療法の選択肢の一つとして考慮できる可能性が示唆された。

● References

- 1) Kim YH, Koizumi W, Lee KH, et al : Japan Clinical Cancer Research Organization (JACCRO) and Korean Cancer Study Group (KCSG) Inter-Group Study : Randomized phase III study of S-1 alone versus S-1 + docetaxel in the
- treatment for advanced gastric cancer (The START trial). ASCO-GI general session abstract #7, 2011
- 2) Van Cutsem E, Moiseyenko VM, Tjulandin S, et al : V325 Study Group : Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer : a report of the V325 Study Group. *J Clin Oncol* 24 : 4991-4997, 2006
- 3) Boku N, Yamamoto S, Fukuda H, et al : Gastrointestinal Oncology Study Group of the Japan Clinical Oncology Group. Fluorouracil versus combination of irinotecan plus cisplatin versus S-1 in metastatic gastric cancer : a randomised phase 3 study. *Lancet Oncol* 10 : 1063-1069, 2009
- 4) Koizumi W, Narahara H, Hara T, et al : S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial) : a phase III trial. *Lancet Oncol* 9 : 215-221, 2008
- 5) Yoshida K, Ninomiya M, Takakura N, et al : Phase II study of docetaxel and S-1 combination therapy for advanced or recurrent gastric cancer. *Clin Cancer Res* 12 : 3402-3407, 2006
- 6) Wada Y, Yoshida K, Suzuki T, et al : Synergistic effects of docetaxel and S-1 by modulating the expression of metabolic enzymes of 5-fluorouracil in human gastric cancer cell lines. *Int J Cancer* 119 : 783-791, 2006
- 7) Kim YH, Seo HY, Jeen YT, et al : Phase I dose escalation study of docetaxel with a fixed dose of S-1 in combination chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 63 : 253-260, 2009
- 8) Webb A, Cunningham D, Scarffe JH, et al : Randomized trial comparing epirubicin, cisplatin, and fluorouracil versus fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced esophagogastric cancer. *J Clin Oncol* 15 : 261-267, 1997
- 9) Kang YK, Kang WK, Shin DB, et al : Capecitabine/cisplatin versus 5-fluorouracil/cisplatin as first-line therapy in patients with advanced gastric cancer : a randomised phase III noninferiority trial. *Ann Oncol* 20 : 666-673, 2009

転移・再発GISTに対する外科的介入の意義

吉田 和弘 山口 和也 奥村 直樹 田中 善宏 高橋 孝夫 長田 真二

消化器外科 2011年2月 第34巻第2号 通巻第419号

ヘルス出版

進行 GIST に対する集学的治療 転移・再発 GIST に対する外科的介入の意義

The role of surgical interventions on metastatic and recurrent GIST

吉田 和弘*

Kazuhiro Yoshida

田中 善宏***

Yoshihiro Tanaka

山口 和也**

Kazuya Yamaguchi

高橋 孝夫**

Takao Takahashi

奥村 直樹***

Naoki Okumura

長田 真二**

Shinji Osada

●要旨●切除不能転移・再発 GIST は全身病であり、イマチニブ治療が基本である。しかしながら腫瘍の完全消失は原則認められないことから、病勢コントロールのできている状態で何らかの surgical intervention を加えることが望ましく、術後も化学療法を続けることが有用である。R0/R1手術が行えると予後の延長が期待され、このような adjuvant surgery の有用性を証明する目的で第Ⅲ相臨床試験が EORTC で進行中である。分子標的薬耐性 GIST に対しての surgical intervention は個別に治療方針を決定する必要がある。

● key words : surgical intervention, adjuvant surgery, イマチニブ, スニチニブ

はじめに

近年イマチニブの出現により、転移・再発 GIST 治療の成績は著しく向上した¹⁾。しかしながらイマチニブはその有用性は認められるものの、完全治癒に至る症例はきわめてまれであり、治療経過中に何らかの外科的介入 (surgical intervention) が必要不可欠である。米国 NCCN guideline v.2, 2010にも、内科的に治療経過が安定している時期に何らかの surgical intervention について考慮することがすでに記載されている²⁾。本稿では転移・再発 GIST 治療における surgical intervention や耐性 GIST の治療の考え方について概説する。

転移・再発 GIST の考え方と ガイドライン

一般的に癌や GIST の転移・再発は原発巣の腫瘍細胞が脈管内へ移行し、ある一定の場所で増殖して、転

移巣として顕在化する。すなわち、転移再発例の血液中には腫瘍細胞が存在しており、転移巣はその氷山の一角として出現したと考えられ、転移・再発 GIST は全身病変ととらえる必要がある。

また GIST の再発様式は、原則血行性によることが多い。DeMatteo ら³⁾の報告では、初発 GIST 完全切除80例における再発は32例（4割）とされ、そのうち肝臓への転移が17例（約6割）、肝転移のみの再発は12例（約4割）にのぼる。このように根治的手術が成功した場合でも、4割の患者が再発し、なかでも肝転移再発の発生頻度が高いといえる（表1）。

実際、わが国の『GIST 診療ガイドライン』⁴⁾では、再発 GIST の治療はイマチニブ投与を原則としており、外科治療が推奨されているのは、不完全切除に伴う局所再発と初回手術から2年以上経過した単発あるいは数個の切除可能肝転移のみである。また、肝転移再発例の切除後成績をみると、約80～90%が術後に再々発し、外科手術では治癒は望めないこともコンセンサスとして明記している。GIST 再発治療に対するマニュアルを図1示す。

わが国ではまず切除可能かどうかにより治療方針が決められる。しかしながら欧米では転移・再発 GIST は全身性病変 (systemic disease) であると考えられている。したがって、転移・再発 GIST の集学的治療

* 岐阜大学大学院腫瘍制御学講座・腫瘍外科学分野教授

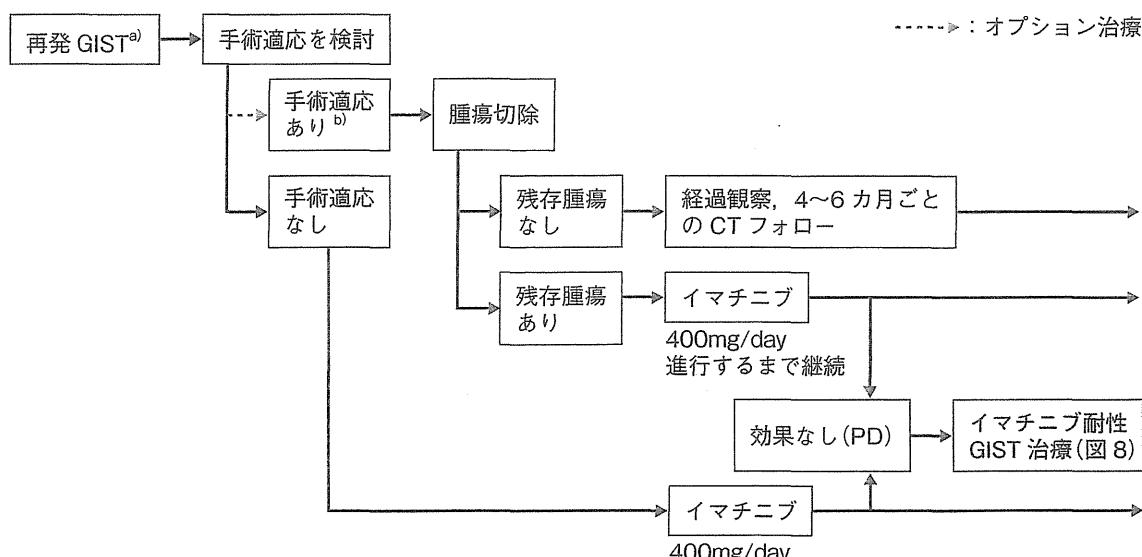
** 同臨床准教授 *** 同教室 ** 同講師

*⁵ 同臨床教授

表1 初発GIST完全切除例における再発部位

再発部位		症例数	再発率
肝転移	全症例	17	63%
	肝転移のみの症例	12	44%
原発部位の再発	全症例	14	52%
	原発部位の再発のみの症例	9	33%
肝転移+原発部位の再発		4	15%
腹腔外転移	肺転移症例	2	7%
	骨転移症例	2	7%

〔文献3)より引用〕



〔日本癌治療学会、日本胃癌学会、GIST研究会編：GIST診療ガイドライン（2010年11月改訂），第2版補訂版，金原出版，東京，2010より引用・改変〕

a) 完全切除後の再発（イマチニブは未投与）

b) 単発または数個までの切除可能肝転移、局所再発のみエビデンスレベル3、推奨度C

図1 再発GIST治療マニュアル

の1つとして手術療法を先行し、その後イマチニブを投与する方法については否定的である。実際にその検証を行った転移GIST患者153例を対象としたフランスの試験⁵⁾では、R0またはR1手術後にイマチニブを投与された患者（手術先行治療群）99例と、手術を行わずにイマチニブ投与またはR2切除後にイマチニブを投与した患者（手術非介入治療群）54例を比較した。その結果、両群の無再発生存率（PFS）はほぼ同等であり、有意差は認められなかった。これらの結果を受け、現在欧州では、転移・再発GISTに対しては、手術療法単独およびイマチニブ投与前の手術療法について、臨床意義は見出せないとのコンセンサスが得られている。

一方、転移・再発GISTに対し、イマチニブで治療

を開始した場合の予後改善効果は、複数の大規模臨床試験により証明してきた¹⁾。米国およびフィンランドで実施されたイマチニブの長期投与の有用性を検討した第II相臨床試験（B2222試験）では、切除不能・転移性GIST患者147例に対し、3年間イマチニブを投与し、その後有効性および安全性が確認された患者に対しては、さらに4年間イマチニブを継続投与した。その結果、イマチニブ継続投与患者のOS中央値は57カ月（約5年）に達し、従来の治療に比べて生存期間は飛躍的に延長した。このように転移・再発GISTに対しては、基本的に全例イマチニブで治療を開始することが望ましく、ESMOガイドライン2009⁶⁾でも、転移・再発GISTに対する標準療法としてイマチニブ400mg/day投与が推奨されている。

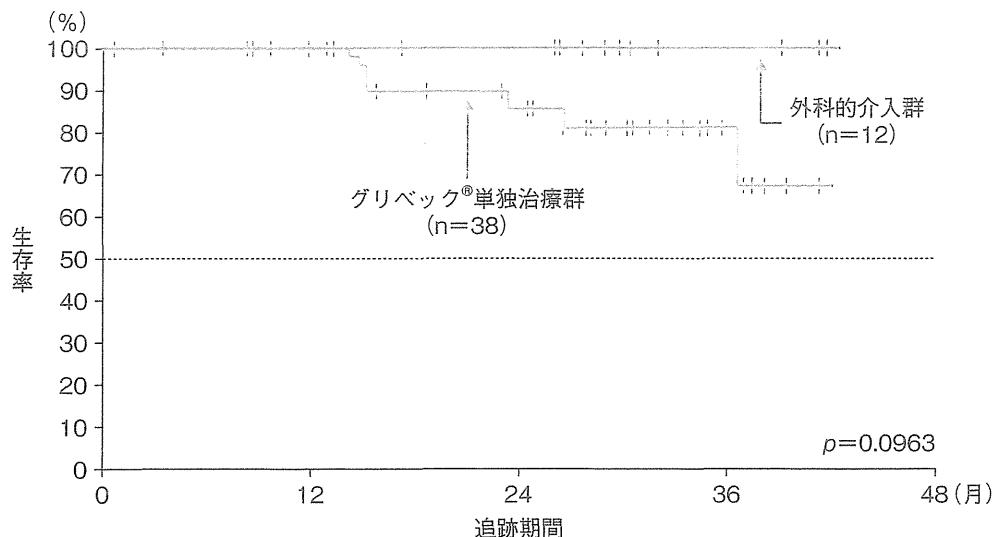


図2 切除不能・転移GISTにおけるグリベック®病勢コントロール下での外科切除

[文献11)より引用]

surgical intervention の意義

これらの結果などに基づき、米国NCCN guideline 2009²⁾でも、切除不能、転移・再発GISTに対して、イマチニブ投与によって病勢コントロールが得られた場合、イマチニブ投与を継続しつつ適切な時期に外科的介入を考慮することが記載されている。われわれはこのような手術をadjuvant surgeryとよぶことを提唱してきた^{7)~9)}。

たとえばstage IVの根治切除不能、再発胃癌では、近年の新たな抗癌剤の登場などにより、肝転移、大動脈周囲リンパ節転移、腹膜播種などの化学療法によるコントロールが可能となり、治療成績は著しく改善した。その結果、肉眼的に腫瘍残存のないR0手術を行える患者が増加した。このように基本は化学療法による全身治療で、あくまで手術は根治を目指す積極的治療ではあるものの、補助療法として実施する手術をadjuvant surgeryと定義した。

adjuvant surgeryを行う意義としては、化学療法は長期投与に伴う耐性獲得が不可避で、また有害事象により継続投与ができなくなる可能性も高いことから、早期から外科的な介入を行い現存する腫瘍をCRにもっていくことで、術後の抗癌剤投与量や休薬期間のコントロールが容易になることがある。また、R0の手術が実施できれば長期生存の可能性も期待できる。

一方、救済手術(salvage surgery)との違いは、救済手術は化学療法あるいは放射線療法が無効となり、切除しか選択肢が残されていない場合に行われる

治療であるのに対して、adjuvant surgeryは化学療法が奏効中に切除を行い、あくまでも切除術は補助療法あるいはセカンドライン治療として位置づけられる。また、neoadjuvant chemotherapyは本来手術を実施することが予定されている症例に行う化学療法である。adjuvant surgeryは広い意味でのneoadjuvant chemotherapyを施行し、奏効した結果R0を目指す手術といえる。

GISTにおけるadjuvant surgeryのメリットはまず、イマチニブ投与を先行することによって、薬剤感受性がin vivo sensitivity testという形で把握でき、予後予測がある程度可能となる点があげられる。また、術前のイマチニブ投与により、腫瘍が画像上に低濃度化し描出されることがあり¹⁰⁾、切除範囲をより正確に把握でき、隠れた腫瘍が発見された場合には無駄な手術を行わずにすむというメリットもある。さらに、イマチニブ耐性の50%に腫瘍進行の徵候を示すnodule in a mass(腫瘍内結節)を認めるが、イマチニブ奏効中に切除を実施することにより、nodule in a massの発生を抑えることも大きなメリットである。

さらに、切除可能な転移・再発GISTも、全身病という観点からすると、まずイマチニブ療法を優先し、病勢コントロールが得られた時に外科切除を実施するadjuvant surgeryのよい適応と考える。

surgical intervention のタイミング

再発GISTにおけるadjuvant surgeryの有用性については、切除不能・転移性GIST患者90例を対象

- retrospective analysis
 - Group A : patients with surgery at best clinical response (n=49)
 - Group B : patients with surgery at focal progression (n=31)
- median preoperative imatinib 15mo (A) vs 21 mo (B) ($p=0.35$)

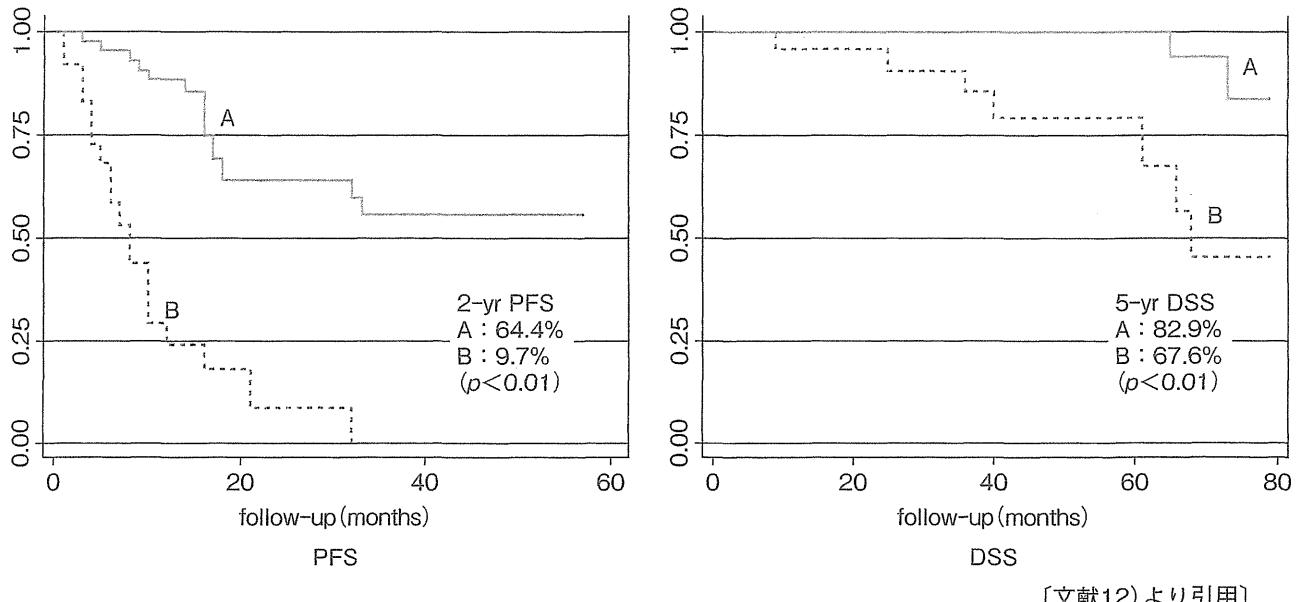


図3 切除不能・転移GISTにおけるグリベック®治療後の外科切除

とした Bauer ら¹¹⁾の報告で、イマチニブ投与により病勢コントロールが得られている場合には、外科的介入を実施したほうが、イマチニブ単独療法を継続するよりも生存期間が延長する傾向が示された（図2）。また、外科的介入のタイミングに関しては、Mussi らの retrospective 研究¹²⁾において、イマチニブ療法中の切除不能、再発・転移GIST患者80例を対象に、best clinical response が得られている時に手術を実施した群49例と局所進行が認められた時点で手術を実施した群31例を比較した結果、2年PFSは64.4%，9.7%，5年疾患特異的生存率（DSS）は82.9%，67.6%と、いずれも前者で有意に良好であった（図3）。

米国で実施された切除不能・転移性GISTを対象とした単施設 retrospective 研究¹³⁾では、イマチニブを含むチロシンキナーゼ阻害薬で病勢コントロール（SD）下で残存腫瘍を切除した患者23例のOSは観察期間中央値14.6カ月の時点で中央値に達しなかったのに対し、増悪時に外科的介入を実施した局所進行群32例のOSは29.8カ月、全身性進行群の14例のOSは5.6カ月と、病勢コントロールの時の切除成績のほうが有意に予後良好であった（図4）。同様にイマチニブを含むチロシンキナーゼ阻害薬投与中に外科的介入を行った転移・再発GIST患者40例の検討においても、病勢コントロール（PR/SD）下で外科的介入を実施した患者20例のPFSは観察期間中央値15カ月

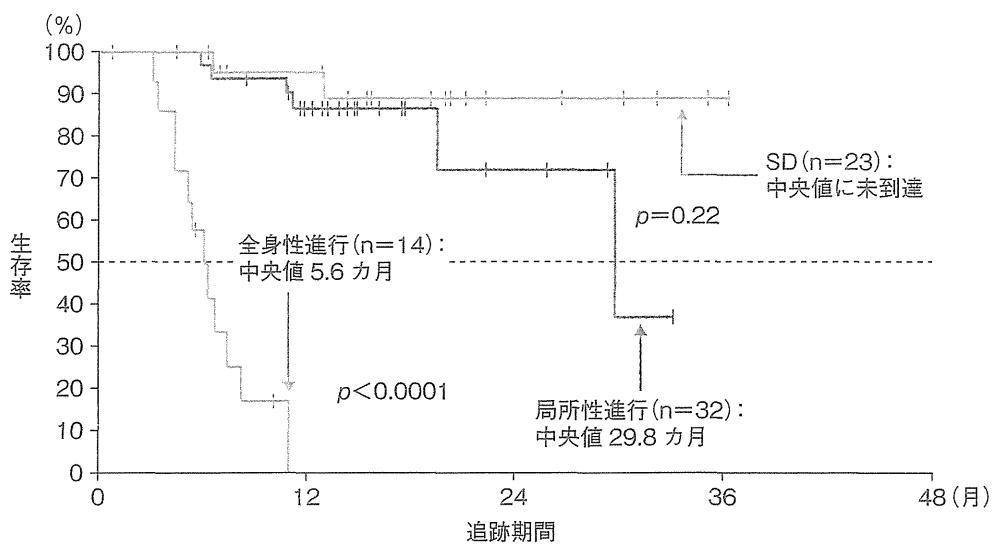
の時点では中央値に達せず、増悪時に外科的介入が実施された局所進行群13例のPFS（12カ月）や、全身性進行群7例のPFS（3カ月）に比べて有意に長かった¹⁴⁾。

以上から、転移・再発GISTではadjuvant surgery がGIST患者の予後改善につながること、そのタイミングはbest clinical response (CR/PR/SD) が得られた時点が望ましいこと、さらに手術後もイマチニブを継続投与することが望ましいことが示唆された¹⁵⁾¹⁶⁾（図5）。

surgical intervention (adjuvant surgery) の有用性を証明する臨床試験

しかし、前述の結果は、内科的治療が奏効した患者の手術成績が、奏効しなかった患者に比べて良好であったことを示しているにすぎず、外科的介入の予後改善効果が実際に証明されたわけではない。

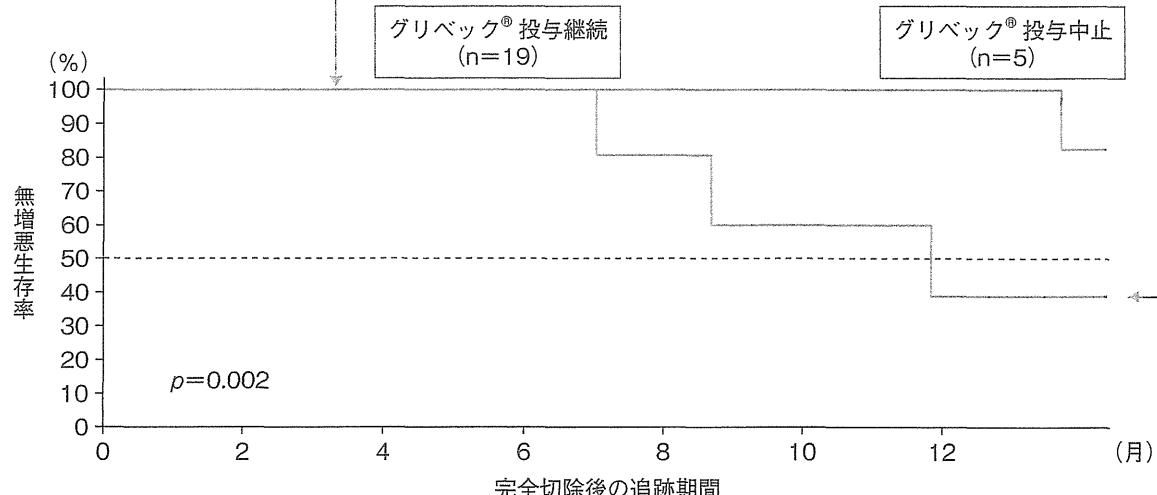
そこで欧州およびオーストラリアで進行中の第Ⅲ相臨床試験（EORTC 62063）では、イマチニブ療法により病勢コントロールが得られた転移・再発GIST患者を対象に、外科的介入の有効性が検討されている（図6）。本試験では、イマチニブ投与開始1年内にbest clinical response が得られた時点で切除術を施行する群とイマチニブ投与を継続する群が設定され、



[文献13)より引用]

図4 切除不能・転移GISTにおける外科的介入のタイミング別生存曲線

	外科切除後にグリベック®投与継続	外科切除後はグリベック®投与中止
Gronchi, A. ¹⁵⁾	<p>16.7%が増悪 (4/24)</p>	<p>66.7%が増悪 (2/3)</p>
Rutkowski, P. ¹⁶⁾	<p>5.3%が増悪 (1/19)</p>	<p>80%が増悪 (4/5)</p>



[文献15)16)より引用]

図5 遺残腫瘍の外科切除後にグリベック®投与を継続した群と中断した群の予後

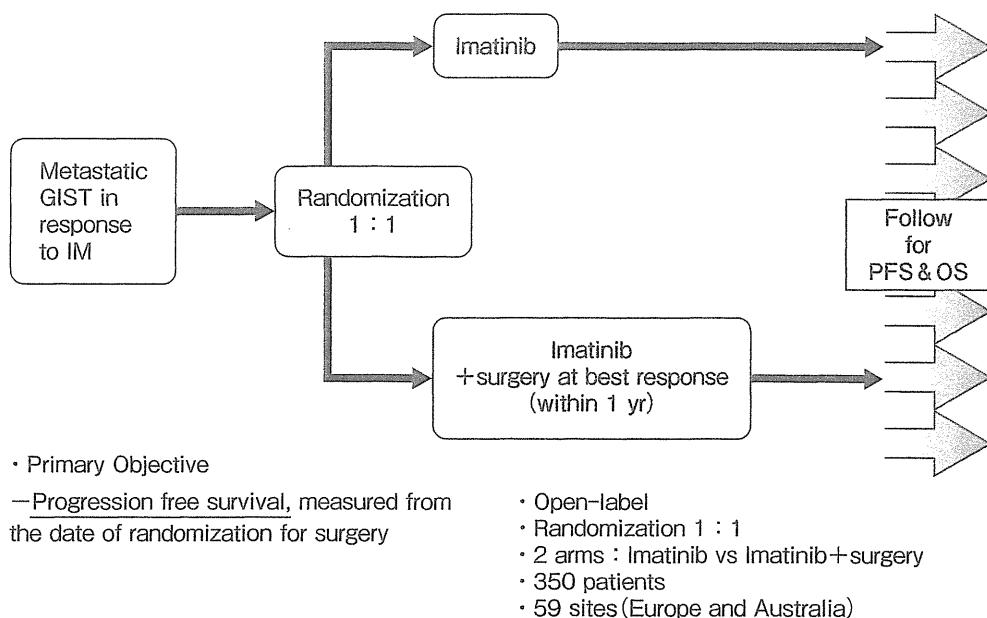
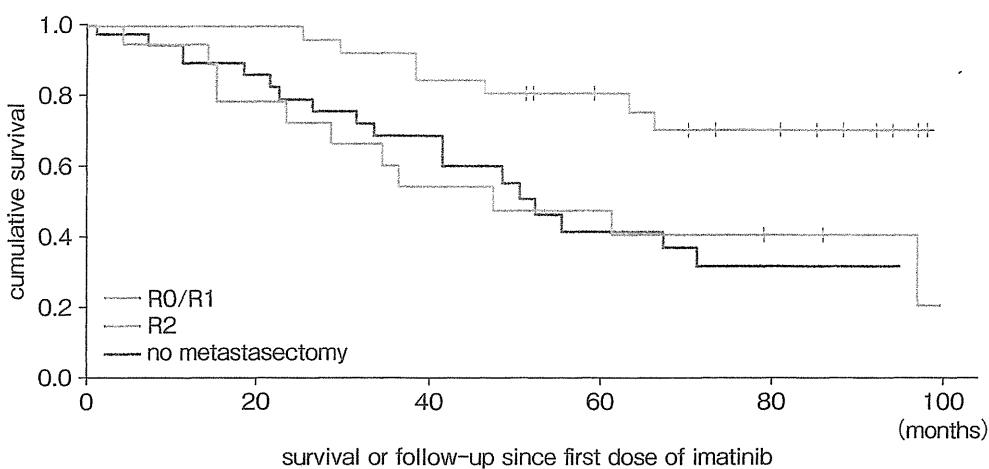


図 6 EORTC 62063臨床第Ⅲ相試験概要



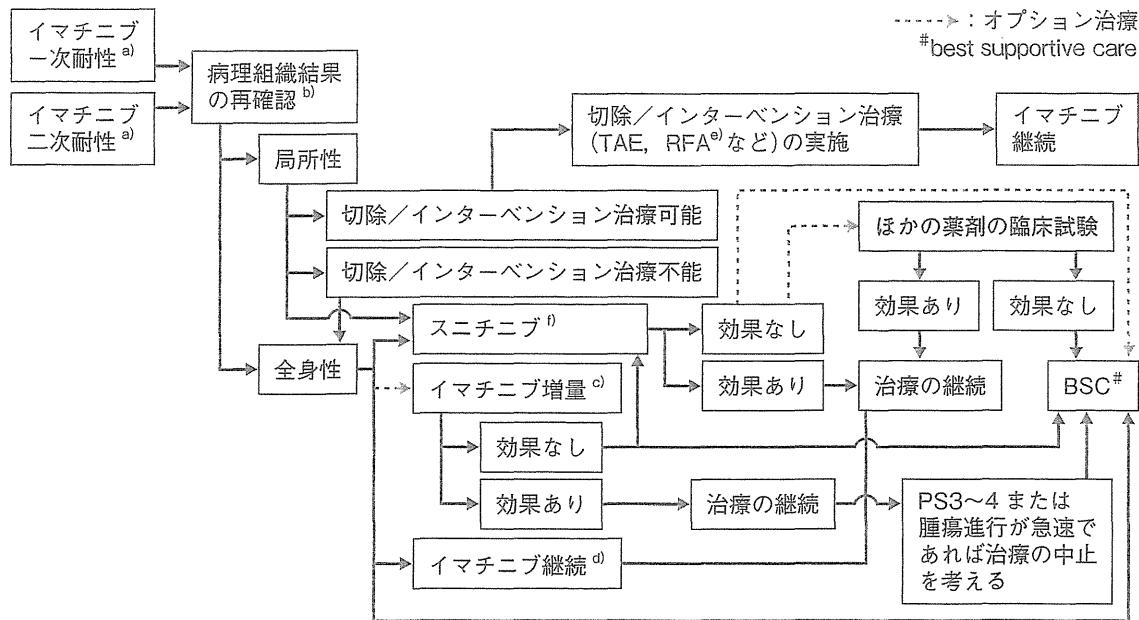
survival analysis for patients with metastatic GIST who underwent metastasectomy and achieved a macroscopically complete resection (R0+R1 ; blue line) , R2 (red line)
 or who did not undergo resection (gray line)
 median OS for macroscopically complete resection : not reached
 median OS for patients with incomplete resection : 3.9 years ($p=0.007$)
 median OS for patients who did not undergo resection : 4.3 years ($p=0.002$)
 comparison of R2 vs no metastasectomy : ($p=0.76$)

図 7 転移巣切除例における遺残腫瘍別の生存曲線

イマチニブ単独療法群ではPFSが2年、adjuvant surgery群では3年の仮説に基づき、PFSおよびOSが評価される予定である。これまで、転移・再発GISTに対する外科的介入は探索的研究として行われていたにすぎず、本試験が外科的介入の妥当性を検討する初めての無作為化比較試験となり、その結果が期待される。

イマチニブ治療を基本とした surgical intervention の実際

2010年 ASCOでは、ドイツからイマチニブ治療を基本としてGISTの転移巣に対して外科的介入が施行された患者の長期予後が発表され(#10047)、R0/R1



[日本癌治療学会, 日本胃癌学会, GIST 研究会編 : GIST 診療ガイドライン (2010年11月改訂), 第2版補訂版, 金原出版, 東京, 2010より引用]

- a) イマチニブ投与開始後180日までの進行を一次耐性といい、181日以降の進行を二次耐性という
- b) KITの発現などによりGISTを確認。他の癌や肉腫の場合は各ガイドラインに応じた治療とフォローアップを行う。c-kitやPDGFR遺伝子変異の確認を行うことが望ましい (genotyping)
- c) イマチニブ増量 (600mg/day, 800mg/day) は現時点で国内未承認のため、自由診療となる
イマチニブ増量で効果がない場合は、スニチニブもしくはBSCを検討する
- d) 他の治療に入れない場合でも、PSや認容性が許せばイマチニブ400mg/day投与を継続する
- e) RFAに関しては、効果のエビデンスは未確認であり、また、保険適用外である
- f) スニチニブは2008年6月に薬価収載された。原則50mg/bodyを1日1回4週間投与し、2週間休薬する。用法用量については医薬品医療機器総合機構の添付文書 (http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/4291018M1029_2_01/) を参照すること

図8 イマチニブ耐性GIST治療

切除では追跡8年後も74%が生存との報告であった¹⁷⁾。単一施設の220例のうち転移が認められた120例の全生存率(OS)についてretrospectiveに解析した。なお全例に対してイマチニブ治療が行われており、外科的介入が施行された患者70例で、うち外科的介入前後ともにイマチニブ治療が継続して行われていた患者は50例と大半を占めていた。

イマチニブ治療のみでのOS中央値は4.3年であったのに対し、イマチニブ治療に外科的介入を併用することによりOS中央値は8.1年と有意に改善することが認められた ($p=0.036$)。転移巣の切除状態別にOS中央値を比較すると、追跡期間中に完全切除が得られた患者 (R0: 25例, R1: 4例) では中央値に到達せず、追跡8年後も74%の患者は生存していることが確認されたが、不完全切除 (R2) の患者では3.9年、切除のない患者では4.3年と短く、R0/R1切除が得られた患者のOSはこれらの患者と比較して有意に改善することが認められた (それぞれ $p=0.007$, $p=$

0.002) (図7)。R0/R1 metastasectomyの有用性が示唆された。

分子標的薬治療耐性GISTにおける治療方針

耐性GISTに対する治療方針も『GIST診療ガイドライン』⁴⁾で触れられている。その治療指針を図8に示す。以下抜粋する。イマチニブ耐性GISTの治療は、①イマチニブ増量、②スニチニブへの切り替え、③切除可能な部分耐性GISTに対しては外科切除が考慮される。現在わが国ではイマチニブの増量投与は保険適応外である。イマチニブ耐性は出現様式から、部分耐性 [後にすべてが全身耐性となると考えられるが、耐性の初期ごく一部 (1~2個) の病変のみがイマチニブ耐性を獲得した状態] と全身耐性 (数個~多数のイマチニブ治療病変がほぼ同時にイマチニブ耐性を獲得した状態) に分けて考えたほうが臨床的に治療方針を

決定するうえで有利である。付け加えるまでもないが、全身耐性に対しては切羽詰まった症状緩和以外では外科切除の適応はない。

おわりに

転移・再発 GIST の治療は原則イマチニブを中心とした分子標的治療薬がその中心となる。しかしながら surgical intervention を加えた集学的治療を行うことで、さらなる治療成績の向上が期待される。

文献

- 1) Demetri, G. D., Von Mehren, M., Blanke, C. D. Van den Abbeele, A. D., Eisenberg, B., Roberts, P. J., Heinrich, M. C., Tuveson, D. A., Singer, S., Janicek, M., Fletcher, J. A., Silverman, S. G., Silberman, S. L., Capdeville, R., Kiese, B., Peng, B., Dimitrijevic, S., Druker, B. J., Corless, C., Fletcher, C. D. and Joensuu, H.: Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N. Engl. J. Med.*, 347 : 472~480, 2002.
- 2) NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, v.2, 2010.
(http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/sarcoma.pdf)
- 3) DeMatteo, R. P., Lewis, J. J., Leung, D., Mudan, S. S., Woodruff, J. M. and Brennan, M. F.: Two hundred gastrointestinal stromal tumors: Recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann. Surg.*, 231 : 51~58, 2000.
- 4) 日本癌治療学会, 日本胃癌学会, GIST 研究会編 : GIST 診療ガイドライン (2010年11月改訂), 第2版補訂版, 金原出版, 東京, 2010.
- 5) Bui, B. N., Le Cesne, A., Ray-Coquard, I., Duffaud, F., Rios, M., Adenis, A., Bonpas, E., Perol, D., Berthaud, P. and Blay, J.: Do patients with initially resected metastatic GIST benefit from 'adjuvant' imatinib (IM) treatment? Results of the prospective BFR14 French Sarcoma Group randomized phase III trial. ASCO 2006 (#9501).
- 6) Blay, J. Y., Bonvalot, S., Casali, P., Choi, H., Debiec-Richter, M., Dei Tos, A. P., Emile, J. F., Gronchi, A., Hogendoorn, P. C., Joensuu, H., Le Cesne, A., McClure, J., Maurel, J., Nupponen, N., Ray-Coquard, I., Reichardt, P., Sciot, R., Stroobants, S., van Glabbeke, M., van Oosterom, A. and Demetri, G. D.: GIST consensus meeting panelists : Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors : Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO. *Ann. Oncol.*, 16 : 566~578, 2005.
- 7) 吉田和弘, 山口和也, 高橋孝夫, 奥村直樹, 田中善宏, 真田雄市, 長田真二 : Adjuvant surgery は stage IV 胃癌, 大腸癌に有用か? *日外科系連会誌*, 33 : 923~924, 2008.
- 8) 吉田和弘, 山口和也, 坂下文夫, 田中善宏, 檜原淳, 田辺和照 : 術前化学療法. *消化器外科*, 31 : 820~826, 2008.
- 9) Suzuki, T., Tanabe, K., Taomoto, J., Yamamoto, H., Tokumoto, N., Yoshida, K. and Ohdan, H.: Preliminary trial of adjuvant surgery for advanced gastric cancer. *Oncol. Lett.*, 1 : 743~747, 2010.
- 10) Choi, H., Charnsangavej, C., de Castro Faria, S., Tamm, E. P., Benjamin, R. S., Johnson, M. M., Macapinlac, H. A. and Podoloff, D. A.: CT evaluation of the response of gastrointestinal stromal tumors after imatinib mesylate treatment : A quantitative analysis correlated with FDG PET findings. *A.J.R. Am. J. Roentgenol.*, 183 : 1619~1628, 2004.
- 11) Bauer, S., Hartmann, J. T., de Wit, M., Lang, H., Grabellus, F., Antoch, G., Niebel, W., Erhard, J., Ebeling, P., Zeth, M., Taeger, G., Seeber, S., Flasshove, M. and Schütte, J.: Resection of residual disease in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumors responding to treatment with imatinib. *Int. J. Cancer*, 117 : 316~325, 2005.
- 12) Mussi, C., Ronellenfitsch, U., Jakob, J., Tamborini, E., Reichardt, P., Casali, P. G., Fiore, M., Hohenberger, P. and Gronchi, A.: Post-imatinib surgery in advanced/metastatic GIST : Is it worthwhile in all patients ? *Ann. Oncol.*, 21 : 403~408, 2010.
- 13) Raut, C. P., Posner, M., Desai, J., Morgan, J. A., George, S., Zahrieh, D., Fletcher, C. D., Demetri, G. D. and Bertagnolli, M. M.: Surgical management of advanced gastrointestinal stromal tumors after treatment with targeted systemic therapy using kinase inhibitor. *J. Clin. Oncol.*, 24 : 2325~2331, 2006.
- 14) DeMatteo, R. P., Maki, R. G., Singer, S., Gonan, M., Brennan, M. F. and Antonescu, C. R.: Results of tyrosine kinase inhibitor therapy followed by surgical resection for metastatic gastrointestinal tumor. *Ann. Surg.*, 245 : 347~352, 2007.
- 15) Gronchi, A., Fiore, M., Miselli, F., Lagonigro, M. S., Coco, P., Messina, A., Pilotti, S. and Casali, P. G.: Surgery of residual disease following molecular-targeted therapy with imatinib mesylate in advanced/metastatic GIST. *Ann. Surg.*, 245 : 341~346, 2007.
- 16) Rutkowski, P., Nowecki, Z., Nyckowski, P., Dziewirski, W., Grzesiakowska, U., Nasierowska-Guttmejer, A., Krawczyk, M. and Ruka, W.: Surgical treatment of patients with initially inoperable and/or metastatic gastrointestinal stromal tumors (GIST) during therapy with imatinib mesylate. *J. Surg. Oncol.*, 93 : 304~311, 2006.
- 17) Nguyen, B., Grabellus, F., Hoiczyk, M., Taeger, G., Schuler, M. H. and Bauer, S.: Long-term follow-up of patients with GIST undergoing metastasectomy in era of imatinib. ASCO 2010 (#10047).

2012/15007B(3/5)

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

大腸癌におけるオキサリプラチンの末梢神経障害に対する漢方薬：

牛車腎気丸の有用性に関する多施設共同二重盲検ランダム化

比較検証試験（臨床第Ⅲ相試験）

平成22年度～24年度 総合研究報告書（3/5冊）

研究代表者 掛地 吉弘

平成25（2013）年 4月

目次

I . 研究成果の刊行物・別刷 ----- 449

胃癌におけるバイオマーカー

高橋 孝夫 吉田 和弘 山口 和也 奥村 直樹

消化器外科 2011年12月 第34巻第13号 通巻第430号

ヘルス出版

各種消化管癌のバイオマーカー 胃癌におけるバイオマーカー

The biomarker for gastric cancer

高橋 孝夫* 吉田 和弘** 山口 和也*** 奥村 直樹^{*4}
Takao Takahashi Kazuhiro Yoshida Kazuya Yamaguchi Naoki Okumura

●要旨●分子生物学の発展に伴い、ゲノム解析が急速に進み、今後個別化医療に向かうと考えられる。癌特異的な分子の探索から新しいバイオマーカーの探索・確立に繋がり、とくに胃癌においても分子標的薬が注目されている。バイオマーカーの開発は癌の進行度・悪性度予測、そして予後予測因子になり得る。また治療効果（抗癌剤感受性）や治療選択に大いに役立つ。現在胃癌のバイオマーカーとして、①胃癌の進行度・悪性度予測および予後予測に関するバイオマーカー、②CEA や CK20などを指標にした胃癌の再発予測のためのバイオマーカー、③胃癌の抗癌剤感受性に関するバイオマーカーと化学療法の有害事象に関するバイオマーカー、④進行・再発胃癌に対する分子標的薬使用においてのバイオマーカー、の大きく4種類に分けられると思われる。この中でも化学療法の効果予測因子や有害事象に関するバイオマーカーや、HER2陽性胃癌に対する分子標的薬トラスツズマブ治療がトピックスで、臨床応用されつつある。

●key words : 胃癌, バイオマーカー, 分子標的薬, HER2

はじめに

胃癌の患者数は減少傾向となっているが、死亡率は依然として高く、現時点では男性で第2位、女性で第3位である。今まで『胃癌治療ガイドライン¹⁾に基づいて治療が行われていたが、今後の癌治療においては、みな同様の治療を行うのではなく、個々の患者に適した治療、つまり個別化医療を提供すべきと考える。1990年代後半より、分子生物学およびトランスレーショナルリサーチの発展に伴い、ゲノム解析が急速に進み、個人の遺伝子情報が容易にわかるようになり、個々の遺伝情報を考慮し、患者にもっともふさわしい治療を行うことが目標であると考えられてきた。基礎医学と臨床医学の融合の結果成り立つと考えられる個別化医療の実現は難しかったが、最近はようやく基礎医学での研究成果を実臨床に応用できてきているように思われる。癌特異的な分子の探索から新しいバイオマーカーの探索・確立に繋がり、とくに胃癌にお

いても分子標的薬が注目されている。

バイオマーカーの開発は癌の進行度・悪性度予測、そして予後予測因子になり得る。また治療効果（抗癌剤感受性）や治療選択に大いに役立つ。胃癌におけるバイオマーカーの研究は遺伝子解析の発展によって飛躍し、次の代表的な4種類に大きく分けられると考える。

- (1) 胃癌の進行度・悪性度予測および予後予測に関するバイオマーカー
 - (2) CEA や CK20などを指標にした胃癌の再発予測のためのバイオマーカー
 - (3) 胃癌の抗癌剤感受性に関するバイオマーカーと化学療法の有害事象に関するバイオマーカー
 - (4) 進行・再発胃癌に対する分子標的薬使用におけるバイオマーカー
- これらの項目について述べる。

胃癌の進行度・悪性度予測および予後予測に関するバイオマーカー^{2)~5)}

1990年代に入り、分子生物学的手法を用い、遺伝子解析が進み、近年の分子生物学の進歩により胃癌の

* 岐阜大学大学院医学系研究科腫瘍外科学講師
 ** 同教授 *** 同臨床准教授 ^{*4} 同講座

進展に関する複雑な分子機構も解明されてきている。胃癌臨床サンプルを用いた個々の遺伝子解析やマイクロアレイ法やSAGE法を用いて網羅的遺伝子解析から胃癌のバイオマーカー検索が行われた。今までの基礎研究からのデータをまとめてみる。

1. 浸潤・転移関連遺伝子群からのバイオマーカー

まず浸潤・転移関連遺伝子群からの進行度・悪性度予測に関するバイオマーカーの検討について述べる。

(1) 胃癌の増殖因子としてEGF, TGF- α , c-met, K-sam, HER2などがあげられる。EGF, EGFR, TGF- α の発現は胃癌において深達度、ステージの進行、予後不良因子と関連し、肝細胞増殖因子であるc-metの遺伝子増幅は胃癌でもとくにスキルス胃癌に認められ、スキルス胃癌の予後不良因子と相關する⁶⁾。またK-sam, HER2の遺伝子増幅と高発現は胃癌の高分化腺癌、低分化腺癌で予後不良因子となり得ると報告された²⁾⁷⁾⁸⁾。

(2) 血管新生因子としてVEGF, PD-ECGF, bFGF, IL-8などがあげられ、IL-8とVEGFの高い発現を認める胃癌症例は低い発現症例よりも有意に予後不良と報告された。

(3) 細胞周期調節因子としてcyclin E, p27, p53, CDC25Bなどがある。cyclin E遺伝子は胃癌の約20%に増幅していると考えられ、cyclin Eの高発現は癌の浸潤に関連する。p27の発現減少は進行胃癌で高頻度に認められ、深達度浸潤とリンパ節転移と有意に相關する。RBの減弱した発現は予後不良に相關する。p16の異常は胃癌で高頻度に認められるが予後との関連はなく、癌抑制遺伝子であるp53の異常は胃癌で報告されるが予後因子になるかどうかは不明である。CDC25Bの高発現は胃癌の約70%に認められ、浸潤や転移と関連する²⁾。

(4) 強いテロメラーゼ活性はhTERTと相関し、発現はステージにかかわらず大多数の胃癌に存在し、POT1の発現は進行胃癌において有意に高値で、POT1の低下は早期胃癌で高頻度に認められ、POT1は悪性度のマーカーとなり得るかもしれない⁹⁾。

(5) 接着因子としてE-cadherin, CD44v6などがあげられる。E-cadherinは上皮において形態を調節し、細胞浸潤を抑制する主な役割を果たす。多変量解析により、E-cadherinの発現は独立した予後因子である¹⁰⁾。また癌関連細胞一膜糖蛋白であるdysadherinはE-cadherinの発現を抑制し、転移を促進す

る。dysadherin陽性とE-cadherinの減弱を示す症例はより予後が悪い¹⁰⁾。CD44は重要な細胞接着因子で、CD44のexon 6にvariantを認めるCD44v6の低い発現の患者は有意に予後良好である¹¹⁾。さらにCD44v6の血清レベルは低分化腺癌の予後因子となり得る。CD44v9の発現は胃癌において腫瘍の浸潤・転移、そしてステージに相關すると報告された¹²⁾。

(6) 浸潤因子としてはMMP-1, MMP-2, TIMPなどが報告されている。多数のMMP familyの中でMMP-7は脈管侵襲、リンパ節転移、血行性転移に相關し、MMP-1陽性胃癌患者は予後不良であると報告された¹³⁾。

(7) その他、最近でもchemokineやkallikrein-related peptidase 11 (KLK 11), B7-H4 coregulatory molecule, vascular adhesion protein-1などの新たな遺伝子が胃癌のprognostic markerとなり得ると報告された。

2. genetic instability, DNA methylation, genetic polymorphismからのバイオマーカー

次にgenetic instability, DNA methylation, genetic polymorphismから進行度・悪性度予測に関するバイオマーカーの検討について述べる。

(1) genetic instabilityとしてmicrosatellite instability (MSI)は胃癌の約30%に認められ、高分化腺癌に高頻度に認められる。MSIは胃癌の予後のよい群と相關すると報告された。

(2) CpGのDNA hypermethylationは癌抑制遺伝子の発現低下に相關している。これらの遺伝子にはp16, E-cadherin, hMLH1, RAR- β , RUNX3, MGMT, RIZ1, SOCS-1があり、その中でもE-cadherin, RAR- β , RUNX3, SOCS-1は腫瘍の浸潤・転移に関連する。胃癌は高頻度に異常メチル化をきたしており、胃癌で高メチル化群は進行癌に多く、メチル化された遺伝子数は腫瘍進展の分子マーカーとなるかもしれないと報告されている。

またメチル化されたDNAマーカーは早期胃癌でも同定できると予測され、胃癌の再発リスク評価や予後評価に患者の血清を用いることができるかどうか検討された。胃癌のスクリーニングとして血清を用いたDNAメチル化バイオマーカーとして早期癌の診断にp16, APC, CDH1など、浸潤転移にDAPKなど、進行した胃癌の診断にRASSF1A, TIMP3, DAPKなど、予後因子としてDAPK, COX-2, E-cad-

表1 胃癌における癌の進行度・悪性度予測に関するバイオマーカー

浸潤・転移関連遺伝子群	分子マーカー
増殖因子	EGF, EGFR, HER2, K-sam, c-met, TGF- α
血管新生因子	VEGF, PD-ECGF, bFGF, IL-8
細胞周期調節因子	CDC25B, p53, p27, RB, cyclin E
テロメア	POT1
細胞接着因子	E-cadherin, Dysadherin, CD44v6, CD44v9
浸潤因子	MMP-1, MMP-2, TIMP-1
genetic instability	MSI
DNA hypermethylation	p16, E-cadherin, hMLH1, RAR- β , RUNX3, MGMT, RIZ1, SOCS-1
genetic polymorphism	IL-1 β , HER2, EGF, E-cadherin, MMP-1, MMP-9

herinなど、再発予測としてp16, E-cadherin, RAR β などが報告されている¹⁴⁾。

(3) genetic polymorphismとしてIL-1 β , HER2, EGF, E-cadherin, MMP-1, MMP-9があげられ、single-nucleotide polymorphism (SNP) を有するHER2, EGF, E-cadherin, MMP-9は胃癌の発癌リスクに影響し、転移・浸潤・進行度と関連することが報告された。

3. マイクロアレイ法、SAGE法によって抽出されたバイオマーカー

最後に網羅的遺伝子検索で進行度・悪性度予測に関するバイオマーカーを抽出する方法としてマイクロアレイ法やSAGE法があげられる。

(1) マイクロアレイ法でHippoら¹⁵⁾は6,800遺伝子解析を行い、RBP4, OCT2, IGF2, PFN2, KIAA1093, PCOLCE, FNIがリンパ節転移に関連し、Hasegawaら¹⁶⁾は23,040遺伝子を検討し、DDOST, GNS, NEDD8, LOC51096, CCT3, CCT5, PPP2R1B, UBQLN1, AIM2, USP9Xがリンパ節転移に関連することを報告した。

(2) SAGE法ではCOL1A1, CDH17, APOC1, COL1A2, YF13H12, CEACAM6, APOE, REGIV, S100A11, FUSが胃癌の40%に高発現し、CDH17, APOE, FUS, COL1A1, COL1A2が転移や浸潤と関連することをYasuiら¹⁷⁾が報告した。

今までに報告されている胃癌の進行度・悪性度予測および予後予測に関しバイオマーカーとなり得る分子マーカーを表1に列挙した。これだけ多数のバイオマーカーがあり、論文によって結果が一致していない場合もある。最近ではマイクロアレイ法やSAGE法で網羅的遺伝子検索が施行され、一度に多数の遺伝子

解析を行うため未知の機能が不明な遺伝子まで多数候補遺伝子としてあげられるが、prognostic markerとして確立しているバイオマーカーはまだ存在しておらず、これから研究で臨床応用可能となるよう有用な遺伝子を絞って、バイオマーカーとして確立する必要がある。またバイオマーカーとして臨床応用可能とするには血清での解析のような、より簡便で、患者にできるだけ侵襲が少なく、そして安価に利用できるようにならなければならない。

胃癌の再発予測のためのバイオマーカー

胃癌の再発予測のためのバイオマーカーの1つとして、CEAやCK20などを指標にしたreal time PCRを用いた微小転移検索がある。腹腔内洗浄細胞診に代わり、腹腔内遊離癌細胞の検出についてCEAの定量RT-PCR法で検出する。腹膜播種の早期診断マーカーとなることが期待される¹⁸⁾¹⁹⁾。しかしCEA, CK20を用いた遺伝子マーカーを指標としたreal time PCRは感度・特異性に限界があり、診断精度を改善する必要がある。腫瘍マーカーは診断と病勢モニターが主である。胃癌のバイオマーカーとしては血清腫瘍マーカーであるCEA, CA19-9, CA72-4が代表的である。これらは診断や再発・治療効果のモニタリングに有用である。血液中遊離癌細胞をCEA, CK20を用いた定量RT-PCR法で検出する報告が多数なされたが、転移再発の予後因子としての有用性は必ずしも一致していない。

表2 5-FU系薬剤の抗癌剤感受性に関するバイオマーカー

代謝酵素	発現	5-FU 抗腫瘍効果
TS	高	減弱
DPD	高	減弱
OPRT	高	上昇

胃癌の抗癌剤感受性に関するバイオマーカーと化学療法の有害事象に関するバイオマーカー

癌化学療法において個別化医療を実践するためには癌に対し、より高い抗腫瘍効果を期待でき、有害事象が少ない薬剤を選択し、両者を実現できる投与法を導き出すことが重要である。胃癌化学療法において中心的薬剤として5-FU, S-1(TS-1)が主に使用されるが、その5-FU系薬剤を使用した個別化医療に向けて代謝関連酵素のバイオマーカーとしての有用性が現在までに多数報告されている（表2）。

胃癌化学療法で使用される5-FU系薬剤の持続投与あるいは経口投与ではDNAの合成阻害が主たる作用機序であり、TS(thymidylate synthase)が標的酵素となる。TS活性の高い腫瘍では基質不足により5-FUの抗腫瘍効果が減弱する。一方、生体内に投与された5-FUの約85%は主として肝臓に存在するdihydropyrimidine dehydrogenase(DPD)によって分解される。腫瘍組織においてDPDの発現が高ければ5-FUの分解が促進され、5-FUの抗腫瘍効果が減弱する。胃癌の原発巣からRNAを抽出し、real time RT-PCR法によりTS、DPDのmRNAを測定し5-FUの感受性を調べたところ、TS、DPD mRNAの発現が高値であると、5-FU感受性は低くなるという相関がみられた。5-FUに対して感受性を示す腫瘍はすべてTS、DPD mRNAがともに低値である。

TS、DPD活性がともに低く、thymidine phosphoribosylate (TP)活性も低い腫瘍ではTS阻害による5-FUの効果が期待されるため、5-FUの持続投与ならびにTS阻害の増強を目的としたロイコボリンの併用が推奨される。TS、DPD活性が低く、TP活性が高い腫瘍ではcapecitabineの効果が期待される。TS活性が低く、DPD活性が高い腫瘍ではDPD阻害薬の併用による抗腫瘍効果の増強が期待されるためS-1の使用が推奨される。TS活性が高く、DPD活性が高い腫瘍では5-FUによるRNAの機能障害を期待し

5-FUの急速静注が推奨される。またOPRT(orotate-phosphoribosyl transferase)は5-FUをリン酸化する酵素である。5-FUはOPRTによってリン酸化され、抗腫瘍効果を発揮するため、OPRTの発現が抗腫瘍効果を規定する因子の1つとなる。

以上により、TS、DPD、TP、OPRTは5-FU系薬剤の代謝酵素であるが、5-FU系薬剤における抗癌剤感受性に関するバイオマーカーとなり得ることは報告されている²⁰⁾。ACTS-GCやJACCRO GC-04などの臨床試験でも、FU系薬剤の代謝酵素について検討される予定である。

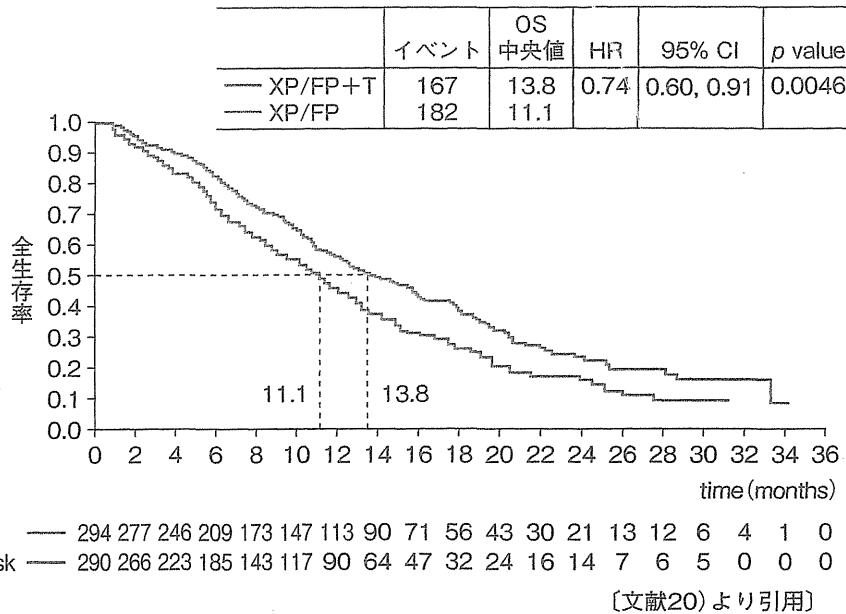
抗癌剤に対する有害事象に関するバイオマーカーであるが、胃癌化学療法においてCPT-11を使用する場合がある。遺伝子多型の研究が進み、抗癌剤の有害事象に関して、CPT-11に対するUGT1A1遺伝子多型検査のように遺伝子レベルで判断がつくようになってきた。抗癌剤の有害事象をあらかじめ予測できないであろうか？という疑問に対し、個別化医療が進み、この遺伝子多型により有害事象を予測し、抗癌剤の減量基準を設けたりしている。今後さらなる研究が進むと化学療法に対する有害事象に関するバイオマーカーが発掘され、個別化医療に向かう可能性がある。

今後、化学療法剤の効果予測因子となるバイオマーカーがさらに進化するであろうし、有害事象に関するバイオマーカーもより飛躍すると考えられる。

進行・再発胃癌に対する分子標的薬使用においてのバイオマーカー

分子生物学の研究の進歩に基づき、癌特異的分子の探索は急速に進み、これを標的とした分子標的薬の開発が進んでいる。個別化医療を創薬として応用、バイオマーカーとしても注目されている分子標的薬が登場してきた。ここにきて、分子マーカーの同定や分子標的薬の使用にあたり、どのような患者に、どのような治療が奏効するかがわかり、個別化医療が進みつつある。

癌治療におけるバイオマーカーの重要性は、分子標



[文献20]より引用]

図1 ToGA 試験における全生存期間

HER2陽性進行・再発陽性胃癌に対し、5-FU またはカペシタビンにシスプラチニ併用 (XP/FP 群) に対し、XP/FP+トラスツズマブ療法 (XP/FP+T 群) は有意に全生存期間 (OS) を延長した (ハザード比 [HR] : 0.74, p=0.0046)

的薬の登場により高まっている。バイオマーカー研究は治療効果予測因子により個別化治療に直結する。大腸癌においては、抗 EGFR モノクローナル抗体の適応における KRAS 遺伝子変異検索が注目されている。比較的最近承認された EGFR, HER2, KIT などは患者選択目的のバイオマーカーであるといえる。胃癌においても他の癌腫に遅れているが分子標的薬が登場し、新たな分子標的薬の臨床試験も行われている。

1. HER2陽性胃癌に対するトラスツズマブ併用療法の有効性

胃癌において HER2陽性例は約20%に認められ、高分化腺癌や食道胃接合部癌においてその頻度が高いことが報告されている。分子標的治療薬である HER2 蛋白に対するモノクローナル抗体であるトラスツズマブは HER2陽性乳癌に対する標準治療として広く用いられており、ToGA 試験の結果²¹⁾より HER2陽性胃癌に対し期待されている。ToGA 試験は進行胃癌の標準治療であるフルオロピリミジン (5-FU もしくはカペシタビン) とシスプラチニの併用療法に対するトラスツズマブの上乗せ効果を検証した第Ⅲ相試験である。24カ国から3,807例の症例がスクリーニングされ、810例が HER2陽性 (免疫染色 3+あるいは FISH 陽性) と判断され、580例がランダム化されトラスツズマブの有無それぞれの治療群に割り付けられた。トラス

ツズマブ併用群において生存期間の有意な延長が認められ (13.8カ月 vs. 11.1カ月; HR 0.74, p<0.0046, 図1), 無増悪生存期間 (6.7カ月 vs. 5.5カ月), 奏効率 (47.3% vs. 34.5%) のいずれも併用群で優れていた。以上より、化学療法とトラスツズマブの併用療法は HER2陽性進行胃癌患者の標準治療になり得る。ToGA 試験の結果、胃癌においても分子標的薬の上乗せ効果が明らかとなり、HER2というバイオマーカーの重要性が明らかとなった。しかし、HER2陰性例が約80%に及ぶこと、とくに本邦に多い未分化型では陽性例が低いことから、HER2以外のバイオマーカーの検討も重要である。

2. その他の分子標的薬の有効性

AVAGAST 試験では、胃癌および食道胃接合部癌を対象とし、対照群を XP 療法 (カペシタビン+シスプラチニ)+プラセボ群、試験治療群を XP 療法+ベバシズマブ (抗 VEGF 抗体) 群として無作為化二重盲検化して施行された。結果は主要評価項目である OS に統計学的有意差を認めず、ベバシズマブの胃癌における生存期間延長は認められなかった。胃癌に対する分子標的薬の評価は始まったばかりであり、現在いくつかの第Ⅲ相試験が行われている。LOGIC 試験は化学療法 (カペシタビン+オキサリプラチニ) に EGFR と HER2両方を阻害する二重チロシンキナ-

ゼ阻害薬ラパチニブの上乗せ効果を検証する第Ⅲ相試験である。REAL3試験は化学療法（エピルビシン＋シスプラチナカペシタビン）への抗EGFR抗体パニツムマブの上乗せ効果を検証する第Ⅲ相試験である。その他に進行胃癌・食道胃接合部癌を対象としたXP療法にセツキシマブの上乗せ効果を検証するEXPAND試験もある。新たな分子標的薬の登場によりさらに新たなバイオマーカーが発掘されると考えられる。

おわりに

以上、胃癌のバイオマーカーについて述べてきた。癌の進行度・悪性度予測に関するバイオマーカーに関しては多数分子マーカーとなり得る遺伝子群は同定されたが、臨床応用にはまだ残念ながら至っていない。これらの研究成果を実臨床に応用する必要がある。発癌のリスク評価、術後再発予測、分子標的薬の治療反応性を予測するバイオマーカーの開発がより重要となってきている。バイオマーカーの真の有用性を評価するにはprospective randomized trialによって検証する必要がある。

最近はバイオマーカーの研究が盛んに行われている。とくに化学療法施行時に有益と考えられる。個別化医療も進み、分子標的薬の開発は最近進んでいる。バイオマーカーにより効果が出る対象を絞ることができ、また有害事象を予測することが可能となる。よいバイオマーカーが発見されれば医療経済的な効果もあると考えられる。

文 献

- 1) 日本胃癌学会編：胃癌治療ガイドライン、医師用2010年10月改訂、第3版、金原出版、東京、2010。
- 2) Yasui, W., Oue, N., Aung, P. P., Matsumura, S., Shutoh, M. and Nakayama, H.: Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: A review. *Gastric Cancer*, 8: 86~94, 2005.
- 3) Tahara, E.: Molecular mechanism of stomach carcinogenesis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 119: 265~272, 1993.
- 4) Yasui, W., Oue, N., Kuniyasu, H., Ito, R., Tahara, E. and Yokozaki, H.: Molecular diagnosis of gastric cancer: Present and future. *Gastric Cancer*, 4: 113~121, 2001.
- 5) 高橋豊：胃癌におけるバイオマーカー。 *Biotherapy*, 23: 92~97, 2009.
- 6) Kuniyasu, H., Yasui, W., Kitadai, Y., Yokozaki, H., Ito, H. and Tahara, E.: Frequent amplification of the c-met gene in scirrhous type stomach cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 189: 227~232, 1992.
- 7) Yoshida, K., Yasui, W., Yokozaki, H., Nishimoto, N., Kagawa, Y., Toge, T., Tahara, E., Yoshida, T. and Terada, M.: New molecular prognostic markers in gastric carcinoma. *Gan To Kagaku Ryoho*, 25: 2021~2027, 1998.
- 8) Yoshida, K., Toge, T., Kuniyasu, H., Yasui, W. and Tahara, E.: Molecular mechanisms of carcinogenesis in human stomach cancer. *Nihon Rinsho*, 59: 53~59, 2001.
- 9) Kondo, T., Oue, N., Yoshida, K., Mitani, Y., Naka, K., Nakayama, H. and Yasui, W.: Expression of POT1 is associated with tumor stage and telomere length in gastric carcinoma. *Cancer Res.*, 64: 523~529, 2004.
- 10) Shimada, Y., Yamasaki, S., Hashimoto, Y., Ito, T., Kawamura, J., Soma, T., Ino, Y., Nakanishi, Y., Sakamoto, M., Hirohashi, S. and Imamura, M.: Clinical significance of dysadherin expression in gastric cancer patients. *Clin. Cancer Res.*, 10: 2818~2823, 2004.
- 11) Yamauchi, K., Uehara, Y., Kitamura, N., Nakane, Y. and Hioki, K.: Increased expression of CD44v6 mRNA significantly correlates with distant metastasis and prognosis in gastric cancer. *Int. J. Cancer*, 79: 256~262, 1998.
- 12) Saito, H., Tsujitani, S., Katane, K., Ikeguchi, M., Maeita, M. and Kaibara, N.: Serum concentration of CD44 variant 6 and its relation to prognosis in patients with gastric carcinoma. *Cancer*, 83: 1094~1101, 1998.
- 13) Yamashita, K., Azumano, I., Mai, M. and Okada, Y.: Expression and tissue localization of matrix metalloproteinase 7 (matrilysin) in human gastric carcinoma: Implications for vessel invasion and metastasis. *Int. J. Cancer*, 79: 187~194, 1998.
- 14) Ye, T., Chen, Y. and Fang, J.: DNA methylation biomarkers in serum for gastric cancer screening. *Mini Rev. Med. Chem.*, 10: 1034~1038, 2010.
- 15) Hippo, Y., Taniguchi, H., Tsutsumi, S., Michida, N., Chong, J. M., Fukayama, M., Kodama, T. and Aburatani, H.: Global gene expression analysis of gastric cancer by oligonucleotide microarrays. *Cancer Res.*, 62: 233~240, 2002.
- 16) Hasegawa, S., Furukawa, Y., Li, M., Satoh, S., Kato, T., Watanabe, T., Katagiri, T., Tsunoda, T., Yamaoka, Y. and Nakamura, Y.: Genome-wide analysis of gene expression in intestinal-type gastric cancers using a complementary DNA microarray representing 23,040 genes. *Cancer Res.*, 62: 7012~7017, 2002.
- 17) Yasui, W., Oue, N., Ito, R., Kuraoka, K. and Nakayama, H.: Search for new biomarkers of gastric cancer through serial analysis of gene expression and its clinical implications. *Cancer Sci.*, 95: 385~392, 2004.
- 18) Kodera, Y., Nakanishi, H., Ito, S., Yamamura, Y., Kanemitsu, Y., Shimizu, Y., Hirai, T., Yasui, K., Kato, T. and Tatematsu, M.: Quantitative detection of disseminated cancer cells in peripheral blood by flow cytometry. *Cancer Sci.*, 95: 393~398, 2004.