

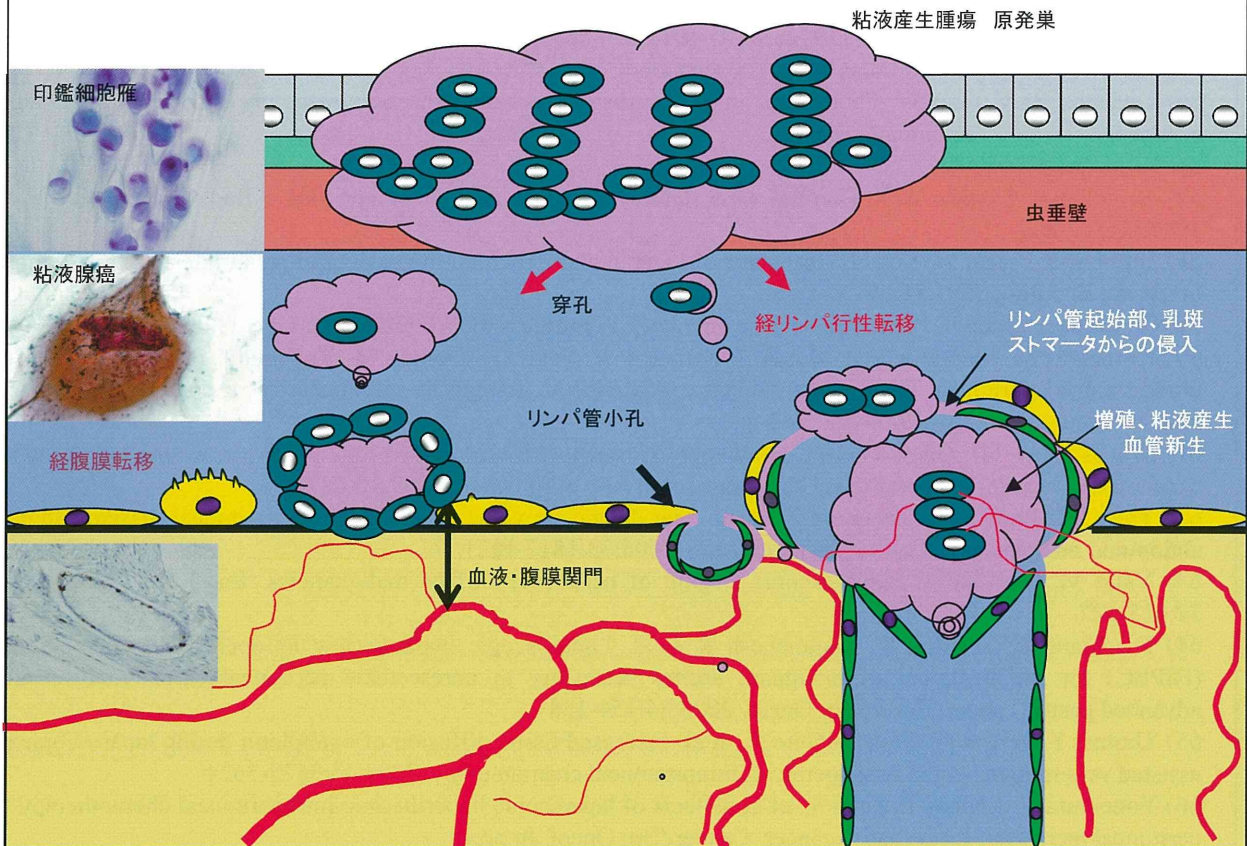
- 21) Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, *et al.* Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2003; 15: 3737-3745
- 22) Sugarbaker PH, Yu WS, Yonemura Y. Gastrectomy, peritonectomy, and perioperative intraperitoneal chemotherapy: the evolution of treatment strategies for advanced gastric cancer. *Surg Oncol.* 2002;11: 233-248
- 23) Sugarbaker PH. New standard of care for appendiceal epithelial malignancies and pseudomyxoma peritonei syndrome. *Lancet Oncol.* 2006;7:69-76
- 24) Yan TD, Deraco M, Baratti D, *et al.* Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for malignant peritoneal mesothelioma: multi-institutional experience. *J Clin Oncol.* 2009; 3:6237-42
- 25) Cotte E, Glehen, Mohammed, *et al.* Cytoreductive surgery and intraperitoneal chemohyperthermia and recurrent advanced ovarian cancer: prospective study of 81 patients. *World J Surg.* 2007;31:1813-20
- 26) Koizumi W, Tanabe S, Saigenji K, *et al.* Phase I/II study of S-1 combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2003;89:2207-2212.
- 27) Yabusaki H, Nashimoto A, Tanaka O. Evaluation of TS-1 combined with cisplatin for neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Jpn J Cancer Chemother* 2003;30:1933-1940.
- 28) Matsuzaki T, Yashiro M, Kaizaki R, *et al.* Synergistic antiproliferative effect of mTOR inhibitors in combination with 5-fluorouracil in scirrhous gastric cancer. *Cancer Sci* 2009;100:2402-2410.
- 29) Ajani JA. Optimizing docetaxel chemotherapy in patients with cancer of the gastric and gastroesophageal junction. *Cancer* 2008;113:945-955
- 30) Sugarbaker PH, Mora JT, Carmignani P, *et al.* Update on chemotherapeutic agents utilized for perioperative intraperitoneal chemotherapy. *Oncologist* 2005; 10: 112-122.
- 31) Baron MA: Structure of intestinal peritoneum in man. *Am J Anat* 1941;69:439-497
- 32) de Bree E, Tsiftsis DD. Experimental and pharmacologic studies in intraperitoneal chemotherapy from laboratory bench to bedside. *Advances in peritoneal surface oncology.* S. Gonzalez-Moleno ed. Springer, 2007, pp 53-73
- 33) Los G, Mutsaers PHA, van der Vijgh WJ, *et al.* Direct diffusion of cis-diamminedichloroplatinum (II) in intraoperitoneal rat tumors after intraperitoneal chemotherapy: A comparison with systemic chemotherapy. *Cancer Res* 1989;49:3380-3384
- 34) Ishigami H, Kitayama J, Kaisaki S, *et al.* Phase II study of weekly intravenous and intraperitoneal paclitaxel combined with S-1 for advanced gastric cancer with peritoneal metastasis. *Ann Oncol.* 2009;21:67-70
- 35) Yonemura Y, Bandou E, Sawa T, *et al.* A new treatment by neoadjuvant intraperitoneal-systemic chemotherapy and peritonectomy for peritoneal dissemination from gastric cancer. *Euro J Surg Oncol* 2006;32:661-665
- 36) Farquharson AL, Pranesh N, Witham G, *et al.* A phase II study evaluating the use of concurrent mitomycin C and capecitabine in patients with advanced pseudomyxoma peritonei. *Brit J Cancer.* 2008;19:591-596
- 37) Sugarbaker PH, Bijelic L, Chang D, *et al.* Neoadjuvant FOFLOX chemotherapy in 34 consecutive patients with mucinous peritoneal carcinomatosis of appendiceal origin. *J Surg Oncol.* 2010;102:576-81.
- 38) Bijelic L, Kumar AS, Stuart OA., *et al.* Systemic chemotherapy prior to cytoreductive surgery and HIPEC for carcinomatosis from appendiceal cancer: impact on perioperative outcome and short-term survival. *Gastroenterol Res Pract.* 2012;2012:163284. doi:10.1155/2012/163284. Epub 2012 Jul 26.
- 39) Piso P, Slowik P, Popp F, *et al.* Safety of gastric resection during cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol.* 2009;16: 2188-2194
- 40) Bao P, Bartlett D., *Surgical techniques in visceral resection and peritonectomy procedures.* *Cancer J.* 2009;15:204-211
- 41) Elias D, Duchalais E, Dratigues P, *et al.* A new policy regarding ovarian resection in young women treated for peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol.* 2013;20:1837-1842.
- 42) Sticca RP, Dach BW. Rationale for hyperthermia with intraoperative intraperitoneal chemotherapy agents. *Surg Oncol Clin N Am* 2003;12:689-701.
- 43) Lepock JR. How do cells respond to their thermal environment. *Int J Hyperthermia* 2005;21:681-687.
- 44) Kusumoto T, Holden SA, Teicher BA. Hyperthermia and platinum complexes: time between treatment and synergy in vitro and in vivo. *Int J Hyperthermia* 1995;11: 575-586.

(I) 研究総括:腹膜偽粘液腫の治療体系

- 45) Barlogie B, Corry PM, Drewinko B. In vitro thermochemotherapy of human colon cancer cells with cis-dichlorodiamminplatinum (II) and mitomycin C. *Cancer Res* 1980; 40:1165-1168.
- 46) Mohamed F, Marchettini P, Stuart QA, et al. Thermal enhancement of new chemotherapeutic agents at moderate hyperthermia. *Ann Surg Oncol* 2003;10:463-468.
- 47) Los G, Mutsaers PHA, van der Vijgh WJ, et al. Direct diffusion of cis-diamminedichloroplatinum (II) in intraoeritoneal rat tumors after intraperitoenal chemotherapy: A comparison with systemic chemotherapy. *Cancer Res.* 1989;49: 3380-3384.
- 48) Van der Speeten K, Stuart A, Sugarbajer PH. Using pharmacologic data to plan clinical treatment for patients with peritoneal surface malignancy. *Current Drug Discov Tech.* 2009;6: 72-81.
- 49) Yan TD, Black D, Sugarbaker PH, Zhu J, Yonemura Y, Petrou G, Morris DL. A systemic review and meta-analysis of the randomized controlled trial on adjuvant intraperitoneal chemotherapy for respectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2007;14:2702-2713
- 50) Mizumoto A, Canbay E, Hirano M, et al. Morbidity and Mortality Outcomes of Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy at a Single Institution in Japan, *Gastroenterology Research and Practice*, Volume 2012 (2012), Article ID 836425, 5 pages
- 51) Jaaback K, Johnson N. intraperitoneal chemotherapy for the initial management of primary epithelial ovarian cancer. *Cochrane Databases Syst Rev* 2006;25(1):CD005340
- 52) Munoz-Casares FC, Rufian S, Rubio MJ., et al. The role of hyperthermic intraoperative chemotherapy (HIPEC) in the treatment of peritoneal carcinomatosis in recurrent ovarian cancer. *Clin Transl Oncol.* 2009;11:753-9
- 53) Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, et al. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinoamtosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003;15:3737-3743.
- 54) Verwaal VJ, Bruin A, Boot H, et al. 8-year follow-up of randomized trial:cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2008;15: 2633-2635
- 55) Stewart JH, Shen P, Russell GB, et al. Appendiceal neoplasm with peritoneal dissemination: Outcomes after cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2006;13:624-634.
- 56) Leeuwen BLV, Graf W, Pahlman L. et al. Swedish experience with peritonectomy and HIPEC. HIPEC in peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol* 2008;15:745-753. doi:10.1155/2012/836425.
- 57) Sapareto S, Dewey WC. Thermal dose determination in cancer therapy. *Int J Rad. Oncol. Biol. Phys.* 1984;10:787-800
- 58) Shimizu T, Maeta M, Koga S: Influence of local hyperthermia on the healing of small intestinal anastomoses in the rat. *Br J Surg* 1991;78:57-59
- 59) Gonzalez-Moreno S: Peritoneal surface oncology: A progress report. *Eur J Surg Oncol* 2006;32:593-696
- 60) Kuramoto M, Shimada S, Ikeshima S, Matsuno A, Yagi Y, Matsuda M, Yonemura Y, Baba H: Etensive intraperitoneal peritoneal lavage as a standard prophylactic strategy for peritoneal recurrence in patients with gastric cancer.. *Ann. Surg* 2009;250:242-246
- 61) Koh JL, Yan TD, Glenn D et al. Evaluation of preoperative computed tomography in estimating peritoneal cancer index in colorectal peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol.* 2009;16:327-333
- 62) Yan QM, Bando E, Kawamura T, et al. The diagnostic value of PET-CT for peritoneal dissemination of abdominal malignancies. *Gan to Kagaku Ryoho.* 2006;33:1817-1821
- 63) Valle M, Garofalo A. Laparoscopic staging of peritoneal surface malignancies. *Eur J Surg Oncol.*2006; 32:625-627.
- 64) Facchiano E, Scaringi S, Klanmanesh R et al. Laparoscopic hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) for the treatment of malignant ascites secondary to unresectable peritoneal carcinomatosis from advanced gastric cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2008;34:154-158
- 65) Thomas F, Ferron G, Gesson-Paute A, et al. Increased tissue diffusion of oxaliplatin during laparoscopically assisted versus open heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy. 2008;15:3623-3624
- 66) Yonemura Y, Canbay E, Sako S., et al. Effects of laparoscopic hyperthermic Intraperitoneal chemotherapy for peritoneal metastasis from gastric cancer. *Cancer Clin Oncol.* In press.

- 67) Hirano M, Yonemura Y, Canbay E, Ichinose M, Togawa T, Matsuda T, Takao N, Mizumoto A. Laparoscopic Diagnosis and Laparoscopic Hyperthermic Intraoperative Intraperitoneal Chemotherapy for Pseudomyxoma Peritonei Detected by CT Examination. Gastroenterol Res Pract. 2012;741202. Epub 2012 Aug 21. Article ID 741202. doi:10.1155/2012/741202
- 68) Gough DB, Donohue JH, Schutt AJ., et al. Pseudomyxoma peritonei: Long-term patient survival with an aggressive regional approach. Ann Surg. 219; 112-119, 1994.
- 69) Canbay E, Ishibashi H, Sako S, et al. Preoperative carcinoembryonic antigen level predicts prognosis in patients with pseudomyxoma peritonei treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. World J Surg. 2013;Doi 10.1007/s00268-013-1988-73
- 70) Sugarbaker PH, Alderman R, Edwards G, et al. Prospective morbidity and mortality assessment of cytoreductive surgery plus perioperative intraperitoneal chemotherapy to treat peritoneal dissemination of appendiceal mucinous malignancy. Ann Surg Oncol. 2006; 13: 635-644
- 71) Smeenk RM, Verwaal VJ, Zoetmulder AN. Learning curve of combined modality treatment in peritoneal surface disease. Brit J Surg. 2007;94:1408-1414
- 72) Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH, et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study. J Clin Oncol 2004;15:3284-92
- 73) Mohamed F, Moran BJ. Morbidity and mortality with cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy. The tolerance of learning curve. Cancer J. 2009; 15: 196-199

偽粘液腫腹膜播種のメカニズム



(II) 分担研究報告

腹膜偽粘液腫の組織発生・臨床症状・本邦における治療の実態 (平井一芳、藤田拓司、鍛利幸) Etiology, clinical presentation and management in Japan

はじめに:腹膜偽粘液腫(Pseudomyxoma peritonei: PMP)は100万人に一人の頻度で発症するといわれる稀な疾患である1)。臨床症状は多量の粘液性腹水の貯留による腹部膨満で、ジェリーベリーといわれている。以前は経過が緩慢なことから境界悪性疾患と考えられていた。1884年Werth、が卵巣の粘液腺癌をPMPと名付けて報告したのが最初である2)。その後、1901年Frankel 3)が虫垂嚢腫によるPMPを報告した。それ以来PMPの組織発生は多くの議論がなされてきた。特に、女性に多く発生するこの疾患では卵巣腫瘍と虫垂腫瘍が同時に見られることが多く、原発巣診断に関して混乱が見られた。

組織発生: PMPの75%は女性に発生し、平均年齢は53歳と報告されている4)(表-1)。自験887例では男283例、女604例で女性が68%であった。年齢は21歳から89歳、平均年齢は男55歳、女58歳であった。

原発巣はほとんどが虫垂であるとされている4,5)。しかし、1900年代の文献では卵巣が原発巣であるとする報告があり、混乱を招いてきた。このような例をmucinous low malignant potential (MLMP)と名づけていた。実際、腫瘍があまりにも高度に進展したため、虫垂が同定できず、卵巣の転移が目立つ例が多数ある。このような例は卵巣原発に分類されてきた可能性がある。RonnetはMLMPを免疫染色パネルで解析した。その結果、卵巣原発のものはCK7, 18, 20, CEA, human alveolar macrophage 56が陽性で、虫垂原発のものはCK7陰性、CK20陽性になるため、この抗原発現パターンで原発巣を同定可能としている。その結果、卵巣原発とされてきたPMPのほとんどが虫垂由来であることが判明した6, 7)。一方、Quaquiraらは虫垂と卵巣に同時腫瘍がある場合、卵巣が原発の例もあることを報告している。自験例では卵巣奇形腫と虫垂原発PMPを有する例を1例経験した。表-2は自験例の免疫染色の結果である。虫垂原発ではCK20陽性96%CDX2陽性93%であったがCK7陽性は27%と低い。一方、卵巣原発の例ではCK7陽性50%CK20陽性86% CDX2陽性75%であった。

CDX2とCK20の発現を虫垂由来のPMPでみてみると、CDX2, CK20ともに陽性例が90%を占めた(表-3)。また、MUC2, MUC5ACは虫垂原発で陽性率が高い傾向を示した。

虫垂・卵巣以外では直腸・胃・胆嚢・胆管・小腸・膀胱・肺・乳腺・卵管・膵などが原発として報告されているが、その頻度は全体の5%以下である。表-4は自験例737例の原発巣を示す。男性では虫垂が266例(98.6%)、尿管癌3例、S状結腸癌1例であった。女性では虫垂が427例(91.4%)、卵巣38例(8.1%)、尿管癌2例であった。卵巣では、35例がmucinous borderline tumorであったが、3例は成熟型奇形腫であった(表-3)。SugarbakerはPMPは病理学的・予後の観点から均一な患者グループに限る必要があるとし、腹腔内に広範に粘液が広がった例で、病理学的にappendiceal mucinous adenomaに限定すべきとしている8)。

表-1: 世界のhigh volume CenterのPMP男女比

| センター | 症例数 | 男 | 女 |
|----------------------------|-----|----------|----------|
| Washington Hospital Center | 217 | 105(48%) | 112(52%) |
| Basingstoke Cancer Center | 74 | 27(50%) | 27(50%) |
| Amsterdam Center | 46 | 19(41%) | 27(59%) |
| Mayo Clinic Series | 56 | 20(36%) | 36(64%) |
| NPO PSMT Center | 887 | 283(32%) | 604(68%) |

表-2: 原発巣別の免疫染色の成績

| 免疫染色 | 原発巣 | 陽性率 |
|--------|-----|---------------|
| MUC2 | 虫垂 | 154/168 (92%) |
| | 卵巣 | 7/10 (70%) |
| MUC5AC | 虫垂 | 144/161(89%) |
| | 卵巣 | 7/10 (70%) |
| CK20 | 虫垂 | 225/234 (96%) |
| | 卵巣 | 12/14 (86%) |
| CK7 | 虫垂 | 64/233(27%) |
| | 卵巣 | 7/14 (50%) |
| CDX2 | 虫垂 | 186/199(93%) |
| | 卵巣 | 9/12 (75%) |

表-3: PMPのCK20, CDX2, CK免疫染色の成績

| 虫垂由来 | | | 卵巣由来 | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | CDX2 | | CDX2 | | |
| CK20 | negative | positive | CK20 | negative | positive |
| negative | 3(1.5%) | 5(2.5%) | negative | 1(8.3%) | 0 |
| positive | 10(5.1%) | 178(90%) | positive | 2(16.7%) | 9(75.0%) |

| 虫垂由来 | | | 卵巣由来 | | |
|----------|----------|------------|----------|----------|----------|
| | CK20 | | CK20 | | |
| CK7 | negative | positive | CK7 | negative | positive |
| negative | 7(3.1) | 162(70%) | negative | 1(8.3%) | 5(41.7%) |
| positive | 2(0.8%) | 60(26.20%) | positive | 2(16.7%) | 4(33.3%) |

| 卵巣由来 | | |
|----------|----------|----------|
| | CDX2 | |
| CK7 | negative | positive |
| negative | 1(8%) | 5(41%) |
| positive | 2(16%) | 4(33%) |

表-4: 性別に見た原発巣

| 性 | 原発巣 | | | |
|----|------------|----------|---------|---------|
| | 虫垂 | 卵巣 | S状結腸 | 尿管 |
| 男性 | 266(98.6%) | 0 | 1(0.4%) | 3(1.1%) |
| 女性 | 427(91.4%) | 38(8.1%) | 0 | 2(0.4%) |

(II) 分担研究報告:腹膜偽粘液腫の組織発生

無細胞性粘液:もうひとつの問題点として、無細胞性粘液がある。腹部全体に粘液が見られても、原発巣以外に病理学的に腫瘍細胞が確認できない例がある。虫垂原発例で41例(6.9%、41/596)、卵巢原発で5例(15%、5/34)は腹腔内の転移巣には粘液のみで腫瘍細胞が見られない例があった。術後の無再発生存期間は図1に示すように、虫垂由来の1例が再発したが、卵巢由来のPMPでは再発例はない。この事実は無細胞性粘液と診断されても、sampling errorで腫瘍細胞が見逃されている可能性があことを示している。しかし、無細胞性粘液例の切除後の無再発生存期間は有細胞性粘液を有するlow grade mucinous adenocarcinomaより有意に良好であった(図-2)。

図-1: 無細胞性粘液によるPMPの術後無再発生存曲線

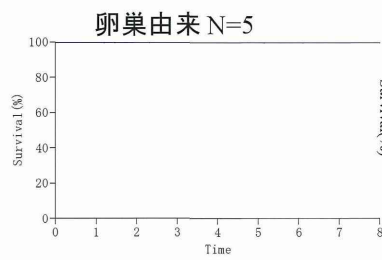
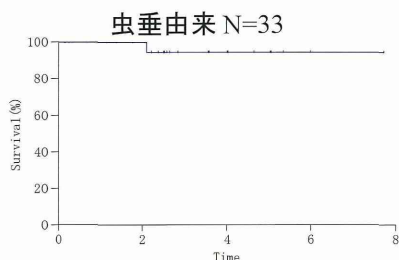
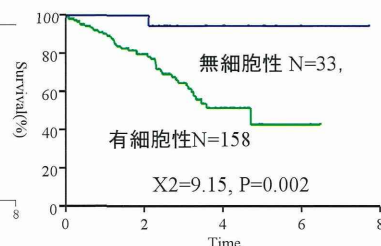


図-2: 無細胞性粘液によるPMPとlow grade有細胞性PMPの術後無再発生存曲線



臨床症状:PMPは虫垂炎・卵巢腫瘍の診断で手術されたとき偶然に診断されることが多い。この疾患が稀なため、臨床症状の詳細は明らかではなかった。最近の多数例の報告(9)では27%が急性虫垂炎症状・23%が腹部膨満、14%がヘルニア(多くはソケイ部)などの症状を示す。女性では39%が卵巢腫瘍と診断されている。自験例では症状なし47(19%)で、他の疾患の検査で偶然発見されたり、人間ドック・検診で発見される例(8例であった。最も多い症状は腹部膨満で92例(37%)、虫垂炎様下腹部痛65例(26%)、排尿困難23例(9%)便秘5例(2%)、子宮下垂3例(1.2%)であった(表-5)。

表-5: PMPの初発症状

| | なし | 腹部膨満 | 下腹部痛 | 排尿困難 | ソケイヘルニア | 人間ドック | 便秘 | 子宮下垂 |
|----|----|------|------|------|---------|-------|-------|------|
| 男性 | 11 | 24 | 22 | 7 | 7 | 3 | 4 | 0 |
| 女性 | 28 | 68 | 43 | 6 | 3 | 5 | 1 | 3 |
| | 下痢 | 体重減少 | 不正出血 | 膀胱脱 | 尿失禁 | 血尿 | 外陰部腫大 | 食欲低下 |
| 男性 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 女性 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

診断方法と診断の実態:表-5に示すさまざまな症状から、虫垂炎・癌性腹膜炎・卵巢腫瘍などの診断で開腹された時の肉眼所見や病理診断でPMPの最終診断が下されることがほとんどである。しかし、最近では臨床症状・腫瘍マーカー測定(CEA,CA19-9,CA125)・CTの所見や腹水穿刺細胞診などの併用で総合診断されるようになってきている。自験例の診断状況を表-6に示す。PMPの診断は80例(22%)、虫垂腫瘍66(18%)、虫垂炎72(20%)、癌性腹膜炎23(6.4%)、ソケイヘルニア8(2.2%)、尿管管癌2例(0.6%)、臍ヘルニア2例(0.6%)であった。女性では卵巢癌あるいは卵巢腫瘍と診断される例が97例(39%)も見られた。Morranらも述べているように、女性は軽い症状でも婦人科医の診察を受けるため、画像診断で卵巢腫瘍が早期に診断されるため(WillRogers phenomenon)と考えられる(10)。

表-6: PMPの診断(N=358)

| 診断名 | 腹膜偽粘液腫 | 卵巢腫瘍 | 虫垂腫瘍 | 急性虫垂炎 | 癌性腹水 | ソケイヘルニア | 尿管管腫瘍 | 臍ヘルニア |
|-----|--------|------|------|-------|------|---------|-------|-------|
| 男 | 29 | 0 | 29 | 33 | 13 | 6 | 0 | 0 |
| 女 | 51 | 97 | 37 | 39 | 10 | 2 | 2 | 2 |
| 診断名 | 原発性腹膜癌 | 腹部腫瘍 | 脾臓腫瘍 | 腹膜炎 | 回盲部癌 | エヒノコックス | 中皮腫 | 計 |
| 男 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 111 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 247 |

PMPの血清腫瘍マーカー: PMPの血清腫瘍マーカーはCEA/CA19-9/CA125が知られている。その中でも血清CEA, CA19-9値は予後予測因子として重要である(11,12)(図-1, 2, 3)。CEAは不完全切除例の予後因子となるが、完全切除例では予後因子ではなかった。CA19-9, CA125は完全切除例の予後因子であったが、不完全切除例ではCA125が有意な予後因子であった。CEA上昇例は67%(455/678)、CA19-9上昇例は51%(344/678)、CA125上昇例は36%(204/574)であった(表-1)。このように各々の腫瘍マーカーは目的によって使い分ける必要がある。CEA+CA19-9, CA19-9, CA125の組み合わせで各々27%の症例が血清診断できた。CA19-9/CEAともに正常値の155例中16例(10%)がCA125が上昇していた。この3種類のマーカーを用いれば約80%の症例が腫瘍マーカー異常を示すことになる。

表-2に原発巣別の術前血清腫瘍マーカー値を示した。CEA上昇例は虫垂・卵巣・尿管由来でそれぞれ70%, 60%, 33%であった。CA19-9上昇例はそれぞれ52%, 49%, 0%、CA125は55%, 36%, 0%であった。虫垂由来のものに比べ卵巣由来・尿管由来の例は腫瘍マーカー陽性率が低い傾向を示したが、有意差はなかった。

今後、PMPに特異的に発現している遺伝子とその産物を標的とした血清診断システムができれば診断率が向上し、再発を早期に発見できるようになるとと思われる。

図-1: 血清腫瘍マーカー値と予後(全手術例)

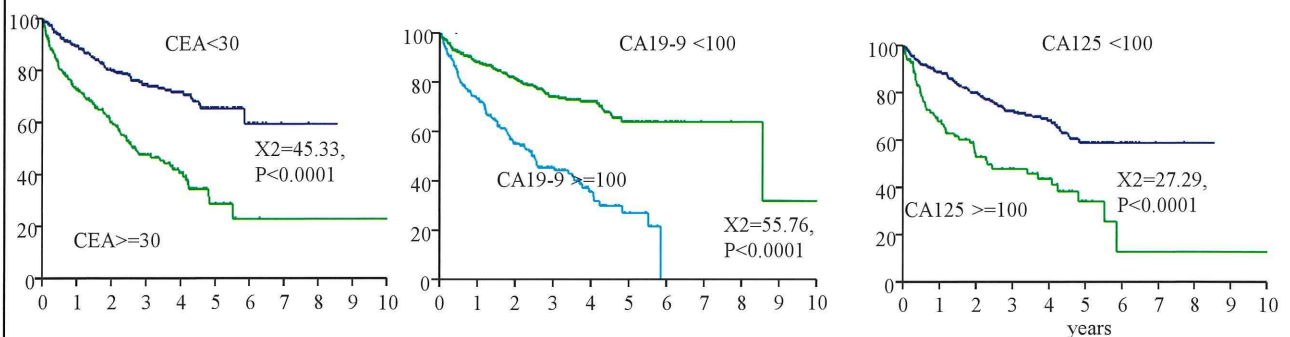


図-2: 血清腫瘍マーカー値と予後(完全切除例)

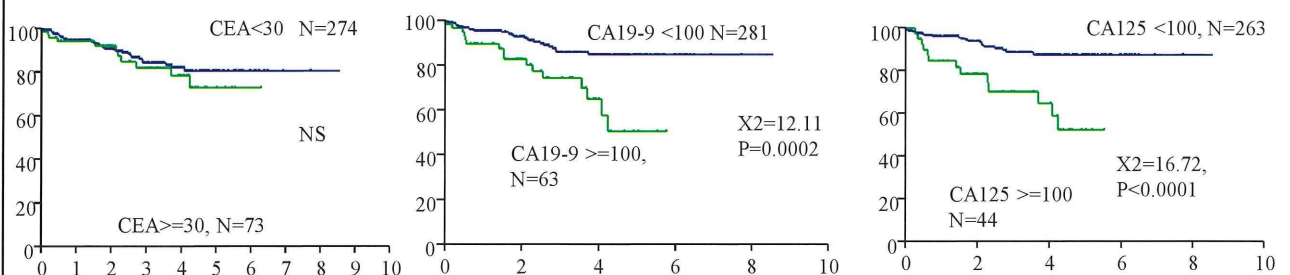
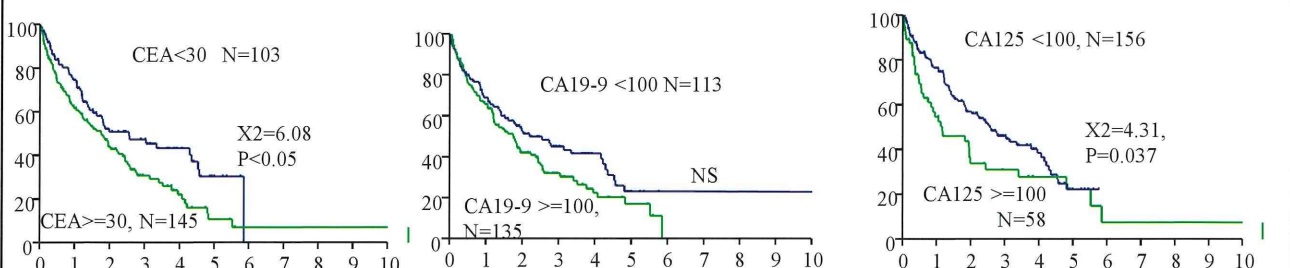


図-3: 血清腫瘍マーカー値と予後(不完全切除例)



(II) 分担研究報告:腹膜偽粘液腫の組織発生

表-1:血清腫瘍マーカー値

| CA19-9 | | | | CA125 | | | | CA125 | | | |
|----------|-----------|-----------|-------|----------|-----------|-----------|-------|----------|-----------|-----------|-------|
| CEA | normal | elevated | total | CEA | normal | elevated | total | CA19-9 | normal | elevated | total |
| normal | 182 (27%) | 41 (6%) | 223 | normal | 156 (27%) | 33 (6%) | 189 | normal | 230 (40%) | 62 (11%) | 292 |
| elevated | 152 (22%) | 303 (45%) | 455 | elevated | 214 (37%) | 171 (33%) | 385 | elevated | 141 (24%) | 149 (25%) | 290 |
| total | 334 | 344 | 678 | total | 370 | 204 | 574 | total | 371 | 211 | 582 |

表-2:血清腫瘍マーカー値と原発巣

| CEA | 虫垂由来 | 卵巣由来 | 尿管由来 | CA19-9 | 虫垂由来 | 卵巣由来 | 尿管由来 | CA125 | 虫垂由来 | 卵巣由来 | 尿管由来 |
|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|---------|------|----------|-----------|----------|------|
| normal | 196 | 17 | 2 | normal | 296 | 19 | 3 | normal | 334 | 21 | 3 |
| elevated | 468 (70%) | 25 (60%) | 1 (33%) | elevated | 319 (52%) | 18(49%) | 0 | elevated | 228 (55%) | 12 (29%) | 0 |
| | 664 | 42 | 3 | | 664 | 42 | 3 | | 664 | 42 | 3 |

診断の決め手:最も多いのは切除標本の病理診断が診断の決め手になったのが85例(29%,85/295)、腹水穿刺でゼリーを認め診断された例が37例(13%)、虫垂切除時に診断46例(16%)、CT/MRIと腫瘍マーカーの組み合わせで診断66例(22%)、卵巣腫瘍の診断で開腹し虫垂腫瘍を発見した例12例(4%)、大腸カメラで虫垂開口部から粘液を認めたり、開口部の生検で診断16例(5%)、腹腔鏡生検で診断13例(5%)、腹水細胞診6例(2%)、ヘルニア手術で発見6例(2%)であった。尿管由来では膀胱生検で診断されたものが2例あった(表-3)。

診断から手術までの期間:最初の診断からhigh volume centerで手術するまでの期間は平均17.5ヶ月(2ヶ月から108ヶ月)であった(図-4)。

既往手術スコア、Prior Surgical Score (PSS):既往手術の程度や回数はPMPの予後因子といわれている(13)。

胃全の種々が複雑であればあるほど根治術は難しく、手術痕は抗がん剤の癌巣への移行を妨げるのでHIPECの効果が減少する。PSSは以前の手術の回数・手術方法・切除範囲を数量化したものである(表-4)。

手術既往のない例は196例(27%)で、残る427例は何らかの手術を受けていたが、完全に播種が切除されている例はなかった。PSS-1は開腹生検・虫垂切除・卵巣切除など腹腔内1領域の手術が行なわれたもので194例(31%)、PSS-2は既往手術2回、または腹腔内2-5領域におよぶ手術が行なわれた例で239例(38%)、PSS=3は3回以上の手術、または5領域以上の手術が行なわれた例で21例(3.3%)であった(表-4)。いままでの報告と異なり、自験例ではPSSと予後の差はなかった(図-5)。

表-3:診断の決め手

| 切除標本の病理 | 腹腔穿刺でゼリー | 虫垂切除の所見(腹腔鏡虫垂切除) | CT/MRI+腫瘍マーカー | CT/MRI | 卵巣腫瘍時 | 胃癌手術偶然発見 |
|---------|----------|------------------|---------------|--------|-------|----------|
| 85 | 37 | 34 (12) | 27 | 29 | 12 | 1 |
| 大腸カメラ生検 | 腹腔鏡生検 | 開腹生検 | 腹水細胞診 | ヘルニア内容 | 膀胱鏡 | 計 |
| 16 | 13 | 7 | 6 | 6 | 2 | 295 |

図-4:最初の診断から腹膜播種治療支援機構の病院で手術するまでの期間

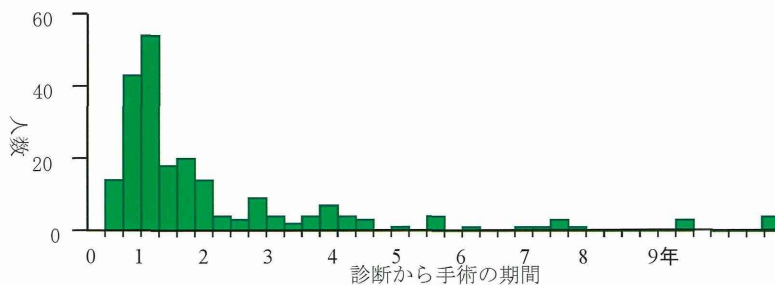
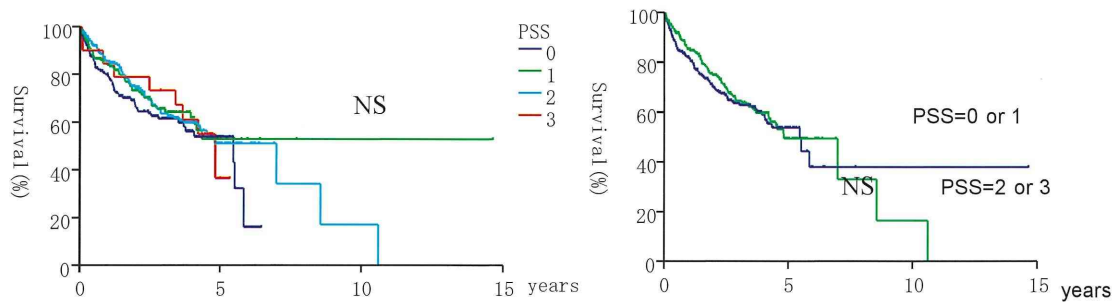


表-4 : 既往手術スコア Prior surgical score; PSS

| Prior Surgical Score (PSS) | 手術法 | 症例数 | | |
|-------------------------------|-------------------|-----------|-------|-----|
| | | 完全切除 | 不完全切除 | 計 |
| PSS-0 | 手術なし | 88 (52%) | 81 | 196 |
| PSS-1 | 腹膜13領域の1領域の手術 | 118 (61%) | 76 | 194 |
| PSS-2 | 2-5領域の手術または2回の手術 | 146 (61%) | 93 | 239 |
| PSS-3 | 6領域の手術、または3回以上の手術 | 9 (43%) | 12 | 21 |
| | | 361 (58%) | 262 | 623 |

図-5 : 既往手術スコア・PSSと予後



文献

- 1) Fann JI, Vierra M, Fisher D et al. Pseudomyxoma peritonei. Surg Gynecol Obstet; 1993;177:441-447
- 2) Werth R. Klinische und Anatomische Untersuchungen Zur Lehre von der Bauchgeschwulsten und der Laparotomie. Arch Gynecol Obstet. 1884;84:100-118.
- 3) Frankel E. Ueber das sogenannte pseudomyxoma peritonei. Med Wochenschr. 1901;48:965-970.
- 4) Hinson FL, Ambross NS. Pseudomyxoma peritonei. Bri J Surg 1998;85:133-139
- 5) Shere DM, Abulafia O, Eliakim R. Pseudomyxoma peritonei: A review of current literature. Gynecol Obstet Invest. 2001;51:73-80
- 6) Ronnett BM, Shmookler BM, Diener-West M., Immunohistochemical evidence supporting the appendiceal origin of pseudomyxoma peritonei in women. Int J Gynecol. 1997;16:1-9
- 7) Young RH, Gilk CB, Scully RE. Pseudomyxoma peritonei. Am J Surg Pathol. 1993;17:1068-1071
- 8) Sugarbaker PH, Ronnett BM, Archer A, et al. Pseudomyxoma peritonei syndrome. Adv Surg, 1997;30:233-280
- 9) Esquivel J, Sugarbaker PH. Clinical presentation of pseudomyxoma peritonei syndrome. Br. J Surg. 2000;87:14-18
- 10) Moran BJ, Thomas DC. The etiology, clinical presentation, and management of pseudomyxoma peritonei. Surg Oncol Clin North Am. 2003;12:585-603
- 11) Alexander-Sefre A. et al., Elevated tumor markers prior to complete tumor removal in patients with pseudomyxoma peritonei predict early recurrence. Colorectal Dis. 7;382-386:2005
- 12) Van Ruth S. et al., Prognostic value of baseline and serial carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 measurements in patients with pseudomyxoma peritonei treated with cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. Ann Surg Oncol. 9;961-967: 2002
- 13) Jaquet P, Sugarbaker PH. Current methodologies for clinical assessment of patients with peritoneal carcinomatosis. J Exp Clin Res. 1996;15:49-58

腹膜偽粘液腫の生物学的予後因子としてのKi-67標識率(米村豊、劉洋、西野栄世)

Ki-67 index as a biological prognostic factor in patients with pseudomyxoma peritonei of appendiceal origin treated by cytoreductive surgery

Summary

Purpose: To evaluate overall survival (OS) and time to progression (TTP) analysis of patients with pseudomyxoma peritonei (PMP) of appendiceal origin treated by cytoreductive surgery, and identify clinico-pathological and biological factors with prognostic value. **Methods:** A total of 141 patients treated by CRS between 2006 and 2013 were enrolled in this study. PMP of appendiceal origin were classified into two groups: high grade mucinous carcinoma peritonei (MCP-H) and low grade mucinous carcinoma peritonei (MCP-L). Fourteen clinico-pathological and biological factors were analyzed by univariate and multivariate analysis. **Results:** The median follow-up was 22 months (range 1-78 months) for the overall series. Disease specific death occurred in 51 (36.2%) cases. The median OS was 51 months. In 74 patients underwent complete cytoreduction and followed up, the median TTP was 19.0 months (range 2-75 months), and 26 (35.1%) patients were diagnosed with recurrence. Patients with high Ki-67 index had a shorter TTP, and higher possibility of recurring than patients with low Ki-67 index ($P=0.009$, and $P=0.001$ respectively). Multivariate analysis demonstrated complete cytoreduction and MCP-L were major independent predictors for better survival, peritoneal carcinomatosis index (PCI) <20 was an independent predictor for longer TTP. **Conclusions:** Ki-67 index could be a valuable predictor for survival and recurrence, especially for patients underwent complete cytoreduction. Moreover, complete cytoreduction, tumor load, and histopathological characteristics of disease were major factors influencing survival and prognosis of patients with PMP of appendiceal origin.

はじめに

従来、腹膜偽粘液腫の治療は症状を取り去るための複数回の減量手術(CRS)が行なわれてきた。最終的には遺残した腫瘍の増殖により切除不能となり、多くの例は著しいQOLの低下を来したまま死亡していた。さらに不幸なことにこの疾患は抗がん剤の効果がないと考えられてきた。最近、腹膜切除という新しい手術手技が開発され、腹腔内に広範に播種した転移巣を肉眼的に完全切除し、同時に遺残した目に見えない微小転移巣を術中腹腔内温熱化学療法で治療する集学的治療が開発され、偽粘液腫の予後は飛躍的に向上した¹⁾。なかでも術中温熱化学療法(hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: HIPEC)は胃癌・大腸癌で行なわれた無作為比較試験で、腹膜播種患者の予後を有意に改善させることが判明している^{2,3)}。最近の報告では、虫垂原発の粘液腺癌(appendiceal mucinous carcinoma: AMA)の腹膜播種に対し完全切除と周術期化学療法を組み合わせた治療が行なわれた場合、10年・15年生存率はそれぞれ63%・59%と報告されている³⁾。このようにCRS+HIPECはAMAの腹膜播種の治療として最も効果的な治療法と考えられている。しかし、我々の経験ではAMA腹膜播種症例完全切除295例中75例が再発した⁴⁾。再発が有意に多くみられた因子は腹膜播種係数(peritoneal cancer Index: PCI)10以上、播種が残った疑いのある例(CCR-1)、病理学的にhigh-grade(低分化腺癌、印鑑細胞癌)、術前血清CEA値10ng/ml以上、温熱療法非施行例であった^{4,5)}。しかし、予後良好な因子を有する例でも再発例があり、このような例を選別できる客観的な予後予測因子を確定する必要がある。Ki-67は増殖期にある細胞の核に出現する抗原であり、休止期(G₀)の細胞には発現しない⁶⁾。乳癌・子宮癌・胃癌ではKi-67標識率と悪性度・予後との関連が報告されている。この研究ではAMAの播種巣でのKi-67標識率が予後予測因子になるか否かを検討する。

対象と方法

対象症例は(1)組織学的に虫垂原発と診断された粘液癌(appendiceal mucinous adenocarcinoma: AMA)で腹膜播種を有する例、(2)開腹しcytoreductive surgery (CRS)が行なわれた例である。術前に血清腫瘍マーカーであるcarcinoembryonic antigen (CEA)、cancer antigen (CA) 19-9が測定された(表-1)。

手術方法と温熱化学療法

剣状突起から恥骨にいたる正中切開で開腹、原発巣・播種の状態を視診・触診でしらべ、PCI(図-1)を算出する。腹腔内の粘液性腹水を可及的排出後、生理食塩水1Lを腹腔内にいれ、良く攪拌後吸引機で対外へ排出する。これを10回繰り返して、腹腔内の粘液と遊離癌細胞を取り除く。この方法をextensive intraperitoneal lavage (EIPL)とよんでいる。そのあと、腹膜切除(Peritonectomy)により、原発巣と所属リンパ節(N₀ 201, 202)および可及的すべての転移巣を切除する。標準的に切除する臓器は脾臓・胆嚢・虫垂・子宮・両側卵巣、腹膜は骨盤腹膜・モリソン窩・左右横隔膜下腹膜・左右傍結腸溝・網嚢・大網・小網・網嚢上窩・網嚢前庭部腹膜・肝臓周囲間膜(鎌状間膜・左右三角間膜・冠状靭帯)である。播種の状況により切除する臓器は異なる。

腹膜切除後剥離創を観察・十分に止血する。その後HIPECを行なうためのチューブを挿入し、生食水1Lx10回のEIPLを行なう。生食水をすべて吸引し、mitomycin C (MMC) 20mgとcisplatin (CDDP) 100mgを含む生食水4Lを腹腔内に注入、43-43.5℃で40分または42-43℃で60分間加温する。切除の完全性を示す指標としてCCR(completeness of cytoreduction) scoreを用いた。CCR-0は播種が完全に肉眼的に切除された例、CCR-1は遺残腫瘍の総直径が2.5mm以下、CCR-2は遺残腫瘍の直径が2.5mmから2.5cmまで、CCR-3は>2.5cm以上の腫瘍が遺残した場合である。AMAの場合、完全切除はCCR 0-1とされている7)。

病理診断

病理診断はH-E染色したプレパラートをBradley RF・WHO分類に従いlow-grade mucinous carcinoma peritonei (MCP-L)(図-2A)とhigh-grade mucinous carcinoma peritonei (MCP-H)(図-2B)の2型に分類した。異型性の強い上皮を示す粘液腺癌とその中に低分化型腺癌や印鑑細胞癌を示す部分があるものをMCP-Hとした8)。さらに、すべての例で薄切切片を脱パラし、各種特殊抗体を用いてavidin-biotin法で免疫染色した。用いた抗体は、MUC-2(monoclonal, Leica Biosystem Newcastle Ltd., United Kingdom)、MUC-5AC(monoclonal, Leica Microsystem Newcastle Ltd, United Kingdom)、CK-7(monoclonal, Dako, Tokyo, Japan)、CK-20(monoclonal, Dako, Tokyo, Japan)、CDX-2(monoclonal, Nichirei Bioscience Inc., Japan)とKi-67(monoclonal, Dako, Tokyo, Japan)である。MUC-2, MUC-5AC, CK-7, CK-20, CDX-2は陽性細胞が全体の20%以上を示す場合を陽性とした。Ki-67は播種巣内で最も高い標識率を示す部分(Hot spot)(図-3)の腫瘍細胞1000個のうちの陽性細胞の比率をKi-67 indexとした。

術後のフォローアップ

退院した患者は、術後2年間は3カ月おき、3-5年間は6カ月おきに外来で以下の検査を行ない、再発の有無・症状の問診・必要な薬剤の投与を行なった。検査は血清腫瘍マーカー(CEA, CA19-9)とmagnetic resonance imaging (MRI)、造影CT(ceCT)を行なった。

生存率と統計解析

術後の生存率はこの疾患で死亡した例のdisease specific overall survival (OS)と手術から再発までのtime to progression (TTP)を計算した。予後因子(age, gender, preoperative CEA, preoperative CA 19-9, PCI, cytological examination, PCI score, CCR score, pathology diagnosis, HIPEC, Ki-67 index, MUC-2, MUC-5AC, CK-7, CK-20, and CDX-2)をStatistical Package for Social Science (SPSS, Inc., Chicago IL), version 17.0で解析した。

各グループの差をchi square testやindependent sample T testで検定した。OS, TTPはKaplan-Meier法で算出し、2-side P値が<0.05を有意とした。多変量解析はCox stepwise regression modelで解析した。

結果

2006年1月から2013年1月の間に手術が行なわれた141例の腹膜播種を有するAMAを対象とした(表1)。

平均年齢58才(22-80才)で、CRS and HIPECが56(39.7%)例に、85(60.3%)例はCRSのみが行なわれた。

完全切除は78(55.3%)例、残りの63(44.7%)例はCCR-2,3であった。術中細胞診は105例に施行され、36(34.3%)例はClass I, 38(36.2%)例はClass III, 31(29.5%)例はClass Vであった。(表-1)。

病理診断

75例(53.2%)がMCP-H, 66(46.8%)MCP-Lであった。MCP-Hのうち10例は印鑑細胞癌成分を、2例は中分化腺癌を伴っていた。

表-2に示すように免疫組織陽性率は、MUC-2(93.8%), MUC-5AC(94.4%), CK-20(95.7%), and CDX-2(93.9%)であった。CK-7は38例(27.0%)で陽性であった。これらの因子の免疫染色陽性例と陰性例でOSに有意差はなかった。平均Ki-67 indexは20%(range 0-80%)であった。MCP-L groupの平均Ki-67 index 14.4%で、MCP-H groupの33.2%に比べ有意に低値であった。Ki-67 index >20%を高Ki-67 index, Ki-67 index ≤20%を低Ki-67 indexとすると、75(53.2%)例は、低Ki-67 index, 66(46.8%)例は高Ki-67 indexを示した。細胞診陽性例やMCP-Hは高Ki-67 indexの例が多く認められた($\chi^2=11.50, P=0.001$)。

生存率

全症例の平均追跡期間は22ヶ月(1-7ヶ月)。現病死は51例(36.2%)であった。予測中間生存率は51.0%であった。MCP-L group, MCP-H groupの中間生存率はそれぞれ70.0, 29.0ヶ月であった(Figure 4)。MCP-L groupの2-, 3-, 5年生存率は83.3%, 78.8%, and 77.3%で、MCP-H groupでは81.3%, 70.1%, and 57.3%であった。

不完全切除(CCR-2,3)例の平均生存期間は24.0ヶ月(95% CI 14.0-34.0ヶ月)で完全切除例(CCR-0,1)より有意に不良であった(Figure 5)。同様にhigh PCI(20以上)例の平均生存期間27.0ヶ月(95% CI 20.5-33.5ヶ月)は、low PCI(20以下)例より有意に不良であった。また、細胞診Class I例の平均生存期間は51ヶ月(95% CI 37.1-65.0 months)で、Class V例のそれ(12ヶ月、95% CI 1.5-22.6 months)より有意に良好であった。

無再発生存期間(TTP)分析

TTP 分析には78 例の完全切除例のうち、多病死した2例と追跡不能の2例を除いた74例で検討した。74 例中26 (35.1%)例が再発した。中間無再発生存期間は19.0ヶ月 (range 2-75ヶ月)であった。

MCP-H 例の中間TTPは39.5ヶ月(95%CI 17.7-61.3 ヶ月)で、MCP-L より有意に良好であった($P=0.019$ log rank test)。high PCI group の中間TTPは34.0ヶ月(95%CI 14.6-53.4 ヶ月)で、low PCI groupのそれ(55 months) ($P=0.027$ log rank test)より有意に不良であった。

high Ki-67 index群の中間TTPは39.5ヶ月(95%CI 15.2-63.7ヶ月)で、low Ki-67 index groupの55.0ヶ月 in ($P=0.009$ log rank test) より不良であった(Figure 4)。low Ki-67 index 群の平均TTP は26.6ヶ月で、high Ki-67 index群より有意に短かった($P=0.045$)。

不完全切除(CCR-2,3)例では、low Ki-67 index群の中間生存率は(29.0ヶ月) (95%CI 20.8-37.2ヶ月)で、high Ki-67 index群の11.0ヶ月(95%CI 7.8-14.2 ヶ月)より有意に良好であった($P=0.004$)。

表-3に単変量解析の成績を示す。術前血清CEA ≤ 10 ng/ml, PCI < 20 , 腹水細胞診 Class I, HIPECの施行、完全切除(CCR 0-1)と組織型(MCP-L)が有意な予後因子であった。PCI < 20 , CCR 0-1とlow Ki-67 indexは有意なTTPに関わる因子であった。Cox modelではCCR 0-1組織型MCP-Lが有意な予後良好因子であり、PCI < 20 のみが有意な無再発因子であった(表-4)。

考察

腹膜偽粘液腫はリンパ行性転移や血行性転移を経過中ほとんどみとめないが、不完全な切除や放置すれば腹腔内進展による腸管の多発性狭窄や腫瘍の腸管壁への圧迫性進展による腸管穿孔で死亡する。しかし、播種の完全切除HIPECにより、生存期間は飛躍的に改善した9, 10)。

一方、術後合併症や死亡率はhigh volume centerで外科的手技・臨床腫瘍学・術中/術後管理・化学療法を十分にトレーニングすることで許容できる範囲になった11)。さらにTsilimparis N らは11)術後QOLも6-12カ月後には改善し、普通の生活をできるようになるとしている。したがって、外科医は肉眼的に播種を可及的完全切除し、遺残した微少転移はHIPECで治療することが重要である。その他の予後因子・再発関連因子として、組織型・PCIがある。Ronnett らは組織型をDPAM (disseminated peritoneal adenomucinosis), PMCA (peritoneal mucinous adenocarcinoma), PMCA-I (intermediate type PMP)に分類し、PMCAが最も予後不良で、DPAMが予後良好、PMCA-1は中間の生存率を示すとしている12)。

一方、Bradley8) はlow grade(MCP-L) とhigh grade(MCP-H)にわけると、MCP-Hは有意に予後不良であったとしている。我々の研究でもMCP-Hは完全切除されても早期に再発・死亡することが判明した。この原因を研究するため細胞の増殖に関連する蛋白の発現と予後・組織型の関連を調べた。増殖期細胞のマーカーであるKi-67はさまざまな腫瘍の増殖能の指標になると同時に標識率は予後と相関する13, 14)。ヒト腹膜偽粘液腫の継代培養細胞株を用いたマウス腹膜播種モデルでは高い増殖能(Ki-67標識率25%)が確認されている15, 16) この研究では悪性度が高いとされるMCP-H 群は悪性度が低MCP-L群より有意にKi-67標識率が高く、Ki-67標識率は偽粘液腫の悪性度と良く相関することが判明した。

さらに無再発生存期間の解析からlow Ki-67群の標識率が低い例では完全切除率が高く、再発期間も長いことがわかった。また、不完全切除例でもKi-67標識率が高い例は生存率が不良であった。

以上より虫垂由来の腹膜偽粘液腫の腹膜播種巣のKi-67標識率は術後生存率・再発を予測する生物学的マーカーになると考えられた。

文献

- 1) Winder T, Lenz HJ. Mucinous adenocarcinomas with intra-abdominal dissemination: a review of current therapy. *Oncologist*. 2010;15:836-844
- 2) Sugarbaker PH. New standard of care for appendiceal epithelial neoplasms and pseudomyxoma peritonei syndrome? *Lancet Oncol*. 2006;7:69-76
- 3) Chua TC, Moran BJ, Sugarbaker PH, et al. Early- and long-term outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2012;30:2449-2456
- 4) Yonemura Y, Elnemr A, Endou Y, et al. Surgical results of patients with peritoneal carcinomatosis treated with cytoreductive surgery using a new technique named aqua dissection. *Gastroenterol Res Pract*. 2012;2012:521487. doi: 10.1155/2012/521487
- 5) Yonemura Y, Elnemr A. Atlas and principle of peritonectomy for peritoneal surface malignancy. Kobe/Osaka/Kusatsu NPO to Support Peritoneal Surface Malignancy Treatment, 2012
- 6) Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*. 1983;31:13-20
- 7) Tan TD, Bijelic L, Sugarbaker PH. Critical analysis of treatment failure after complete cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal dissemination from appendiceal mucinous neoplasms. *Ann Surg Oncol*. 2007;14:2289-2299
- 8) Bradley RF, Stewart JH, Russell GB, et al. Pseudomyxoma peritonei of appendiceal origin: a clinicopathologic analysis of 101 patients uniformly treated at a single institution, with literature review. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:551-559
- 9) Smeenk RM, Verwaal VJ, Antonini N, Zoetmulder FA. Survival Analysis of Pseudomyxoma peritonei patients treated by cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Ann Surg*. 2007;24:104-109.
- 10) Baratti D, Kusamura S, Nonaka D, et al. Pseudomyxoma peritonei: clinical pathological and biological prognostic factors in patients treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). *Ann Surg Oncol*. 2008;15:526-534
- 11) Tsilimparis N, Bockelmann C, Raue W, et al. Quality of life in patients after cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: is it worth the risk? *Ann Surg Oncol*. 2013;20:226-232.
- 12) Ronnett BM, Zahn CM, Kurman RJ, Kass ME, Sugarbaker PH, Shmookler BM. Disseminated peritoneal adenomucinosis and peritoneal mucinous carcinomatosis. A clinicopathologic analysis of 109 cases with emphasis on distinguishing pathologic features, site of origin, prognosis, and relationship to "pseudomyxoma peritonei". *Am J Surg Pathol*. 1995;19:1390-1408
- 13) Nakano T, Oka K. Differential values of ki-67 index and mitotic index of proliferating cell population. An assessment of cell cycle and prognosis in radiation therapy for cervical cancer. *Cancer*. 1993;72:2401-2408.
- 14) Luporsi E, André F, Spyrtos F, et al. Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;132:895-915
- 15) Flatmark K, Davidson B, Kristian A, Stavnes HT, Førsvund M, Reed W. Exploring the peritoneal surface malignancy phenotype—a pilot immunohistochemical study of human pseudomyxoma peritonei and derived animal models. *Hum Pathol*. 2010;41:1109-1119
- 15) Flatmark K, Reed W, Halvorsen T, et al. Pseudomyxoma peritonei—two novel orthotopic mouse models portray the PMCA-I histopathologic subtype. *BMC Cancer*. 2007;30:7:116

(II) 分担研究報告:腹膜偽粘液腫のKi-67標識率

図-1:腹膜播種係数(PCI)。腹腔内を13か所に分類する。各々の部位の播種の程度(病巣サイズ:lesion size: LS)を0から3に分け、13か所の総計を腹膜播種係数(PCI)とする。LS0:播種なし、LS1:播種の総計0.5cm以下、LS2:播種の総計0.5~5cm、LS3:播種の総計5cm以上。

Peritoneal cancer index (PCI): Peritoneal cavity is divided into 13 parts , which ranges from 0 to 12. Accurate measurement of each region is scored as lesion size 0 through 3. LS 0: no implants.

LS 1 refers to implants up to 0.5 cm in diameter. LS 2 refers to implants greater than 0.5 cm and up to 5 cm. SL3 refers to those 5 cm or greater in diameter

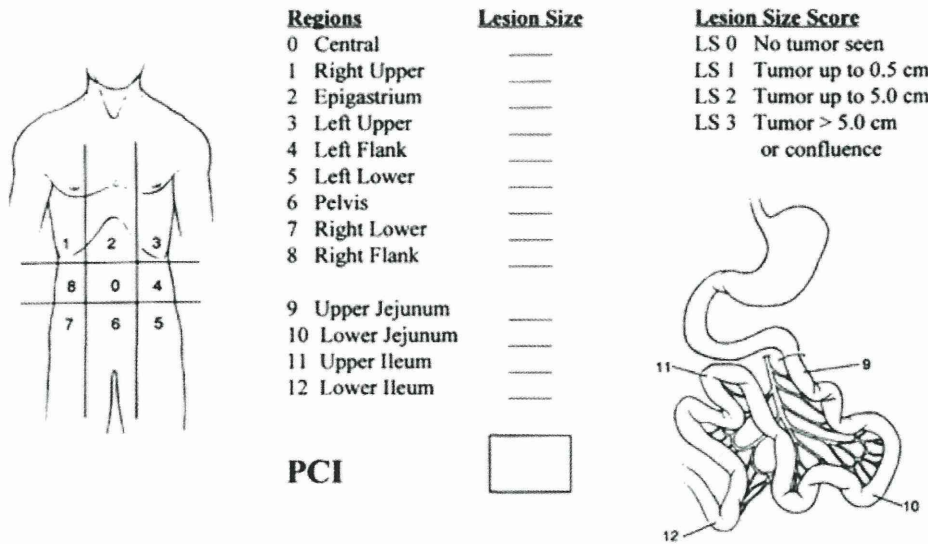


図-2 : low-grade mucinous carcinoma peritonei (MCP-L)(図-2A)とhigh- grade mucinous carcinoma peritonei (MCP-H) (図-2B)

図-2A

図-2B

図-2C: CK20免疫染色

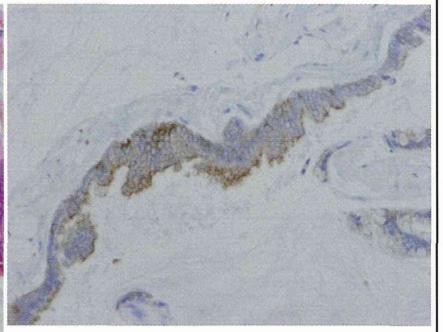
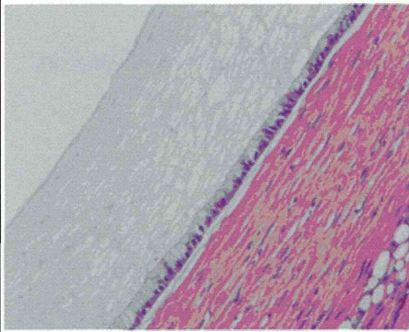


図-2D: MUC2 免疫染色

図-3A: Ki67 免疫染色:MCP-L

図-3B: Ki67 免疫染色:MCP-H

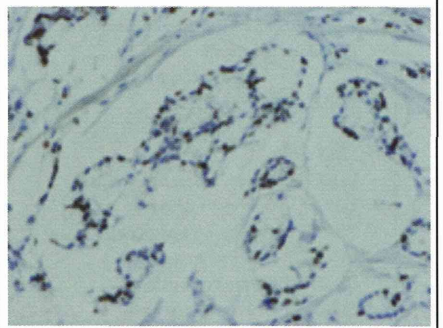
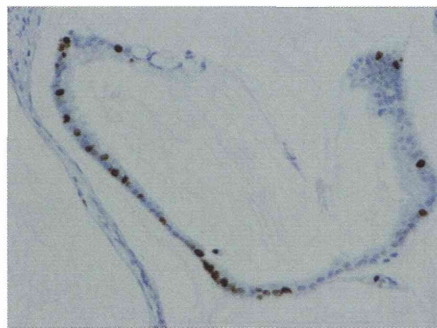
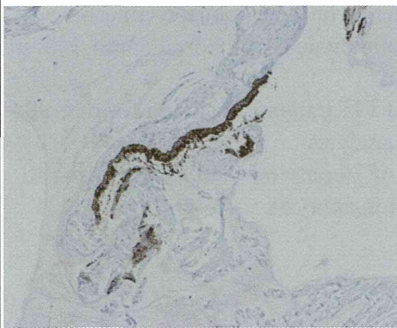


Table 1: 虫垂由来腹膜偽粘液腫症例の臨床病理学的背景因子 Clinicopathological characteristics of patients with pseudomyxoma peritonei of appendiceal origin

| Parameters | 141 patients for OS analysis | 74 patients for TTP analysis |
|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Number (percentage) | Number (percentage) |
| Age (years) | | |
| Median (range) | 58 (22-80) | 53 (28-77) |
| Gender (n) | | |
| Male/female | 49/92 (34.8%/65.2%) | 22/52 (29.7%/70.3%) |
| Preoperative serum CEA* | | |
| CEA >10 / CEA <10 | 91/44 (67.4%/32.6%) | 34/40 (45.9%/54.1%) |
| Preoperative serum CA | | |
| CA 19-9 >37 / CA 19-9 <37 | 87/48 (64.4%/35.6%) | 35/39 (47.3%/52.7%) |
| PCI | | |
| High PCI / low PCI | 89/52 (63.1%/38.9%) | 29/45 (39.2%/60.8%) |
| Cytology examination** | | |
| Class I / Class III / Class V | 36/38/31 (34.3%/36.2%/29.5%) | 21/22/11 (38.9%/40.7%/20.4%) |
| Pathology diagnosis | | |
| MCP-H / MCP-L | 75/66 (53.2%/46.8%) | 36/38 (48.6%/51.4%) |
| HIPEC | | |
| Yes / No | 56/85 (39.7%/60.3%) | 31/43 (41.9%/58.1%) |
| CCR | | |
| CCR0-1 / CCR2-3 | 78/63 (55.3%/44.7%) | - |

OS: overall survival, TTP: time to progression, CEA: carcinoembryonic antigen, CA19-9: cancer antigen 19-9, PCI: peritoneal carcinomatosis index, MCP-H: high-grade mucinous carcinoma peritonei, MCP-L: low-grade mucinous carcinoma peritonei, HIPEC: hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, CCR: completeness of cytoreduction.

*: data of 135 patients available for OS analysis

** : data of 105 patients available for OS analysis, 54 patients for TTP analysis.

Table 2: 免疫染色の成績。Results of immunohistochemical examination

| Variables | Number | Percentage |
|------------------------|-------------|-------------|
| MUC-2* | | |
| Positive/negative | 106/7 | 93.8%/6.2% |
| MUC-5AC** | | |
| Positive/negative | 101/6 | 94.4%/5.6% |
| CK-7 | | |
| Positive/negative | 38/103 | 27.0%/73.0% |
| CK-20 | | |
| Positive/negative | 135/6 | 95.7%/4.3% |
| CDX-2*** | | |
| Positive/negative | 124/8 | 93.9%/6.1% |
| Ki-67 index | | |
| Median (range) | 20% (0-80%) | -- |
| High Ki-67 / low Ki-67 | 66/75 | 46.8%/53.2% |

*: data of 113 patients available, **: data of 107 patients available, ***: data of 132 patients

Table 3: 全生存率に及ぼす予後因子(単変量解析) Univariate analysis of factors influencing overall survival and time to progression

| Variables | Overall Survival* | Time To Progression** |
|--|-------------------|-----------------------|
| | P value | P value |
| Age (>58 years vs ≤58 years) | NS | NS |
| Gender (Male vs female) | NS | NS |
| Preoperative CEA (CEA >10 vs CEA ≤10) | 0.028 | NS |
| Preoperative CA 19-9 (CA19-9 >37 / CA19-9 ≤37) | NS | NS |
| PCI (PCI <20 vs PCI ≥20) | 0 | 0.031 |
| Cytology examination (Class I vs Class III vs Class V) | 0.014 | NS |
| Pathology diagnosis (MCP-H vs MCP-L) | 0 | 0.022 |
| HIPEC (Done vs not done) | 0.009 | NS |
| CCR (CCR0-1 / CCR2-3) | 0 | - |
| Ki-67 index (High Ki-67 index vs low Ki-67 index) | NS | 0.009 |
| MUC-2 (Positive vs negative) | NS | NS |
| MUC-5AC (Positive vs negative) | NS | NS |
| CK-7 (Positive vs negative) | NS | NS |
| CK-20 (Positive vs negative) | NS | NS |
| CDX-2 (Positive vs negative) | NS | NS |

CEA: carcinoembryonic antigen, CA19-9: cancer antigen 19-9, PCI: peritoneal carcinomatosis index, MCP-H: high-grade mucinous carcinoma peritonei, MCP-L: low-grade mucinous carcinoma peritonei, HIPEC: hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, CCR: completeness of cytoreduction, NS: not significant.

*: data of 141 patients available for overall survival analysis

** : data of 74 patients available for time to progression analysis

(II) 分担研究報告:腹膜偽粘液腫のKi-67標識率

Table 4: 全生存率に及ぼす因子(多変量解析)
Multivariate analysis of factors influencing overall survival and time to progression

| Variables | Overall | Time to progression** |
|--|-------------|-----------------------|
| | P value | P value (95%CI) |
| Preoperative CEA (CEA>10 vs CEA≤10) | 0.85 (0.11- | - |
| PCI (PCI<20 vs PCI≥20) | 0.12 (0.89- | 0.01 (1.18-2.67) |
| Cytology examination (Class I vs Class III vs Class V) | 0.29 (0.91- | - |
| Pathological diagnosis (MCP-H vs MCP-L) | 0.03 (1.08- | 0.35 (0.57-4.92) |
| HIPEC (Done vs not done) | 0.14 (0.18- | - |
| CCR (CCR 0-1 vs CCR 2-3) | 0.01 (1.35- | - |
| Ki-67 index (Hig Ki-67 index vs low Ki-67 index) | - | 0.20 (0.19-6.12) |

CEA: carcinoembryonic antigen, PCI: peritoneal carcinomatosis index, MCP-H: high- grade mucinous carcinoma peritonei, MCP-L: low-grade mucinous carcinoma peritonei, HIPEC: hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, CCR: completeness of cytoreduction

*: data of 141patients available for overall survival analysis

**.: data of 74 patients for time to progression analysis

Figure -4: 組織学的分類と生存率
Histological classification and overall survival.

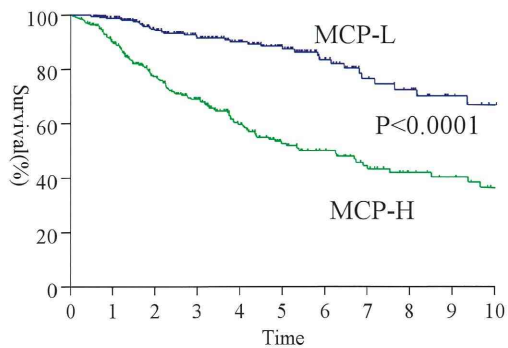


Figure -5: 手術根治度から見た生存率
Survival after CRS from the aspects of CCR scores

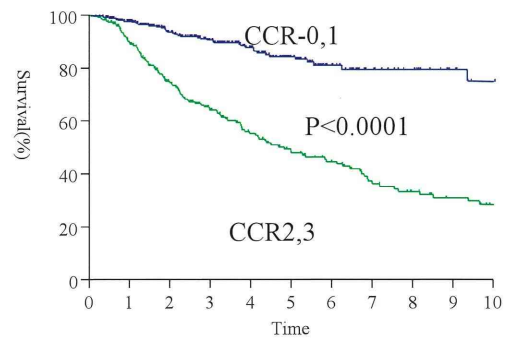
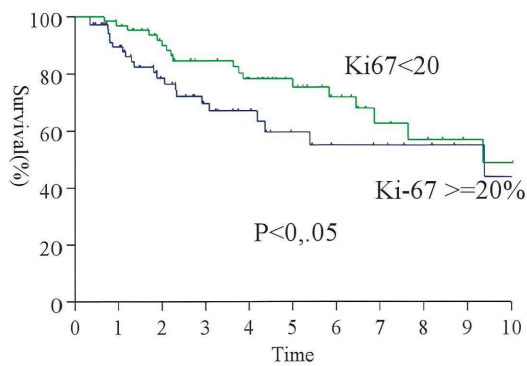


Figure -6: Ki-67標識率と予後
Survival curves according to the Ki-67 LR.



経リンパ行性腹膜転移(三浦真弘)

Trans-lymphatic metastasis in peritoneal dissemination of pseudomyxoma peritonei.

Summary

Mechanism of the formation of peritoneal metastasis (PM) through lymphatic vessels was studied.

Materials and methods. Parietal peritoneum was divided into 8 regions, and specimens of each zone were removed from patients with PM. The specimens were stained with enzyme histochemical staining for alkaline phosphatase (ALPase) and 5'-Nase activity, and with immunohistochemical staining with D2-40. Surface of the peritoneum and subperitoneal tissue were observed by a scanning electron microscopy.

Results Well-developed lymphatic lacunae were found in the shallow submesothelial layer of 7 regions except for the anterior abdominal wall. Lymphatic vessels were found in the deep submesothelial layer up to 200 micrometer from the peritoneal surface.

The mesothelial stomata directly connect with the submesothelial lymphatic vessels through holes of the macula cribriformis. Migration of cancer cells through stoma was found, and cancer cells were detected in the submesothelial lymphatic lacunae.

Lymphatic vessels are not found in the center of established PM, but were found in the adjacent normal tissue. In the subperitoneal tissue outside the PM, morphological findings suggesting lymphangiogenesis designated as cystic lymphatic island, ladder formation, budding, and extension of lymphatic vessels were found.

Conclusion. The triplet structure consisting of mesothelial stomata, holes on macula cribriformis and submesothelial lymphatic lacunae is essential for the migration of peritoneal free cancer cells into the submesothelial lymphatic lacunae. The route of the formation of PM through peritoneal lymphatic vessels was named as trans-lymphatic metastasis.

はじめに

従来から考えられていた腹膜播種形成のメカニズムは、遠隔腹膜に腹腔内遊離癌細胞が接着・腹膜下組織へ浸潤・血管誘導・癌細胞の増殖により播種が完成されるとする経腹膜転移であった。この転移はいくつかの障害を癌細胞が多段階的に乗り越え、播種を完成させるもので、多くの転移関連遺伝子が協調し発現されなければならない¹⁾。一方、低悪性度の癌細胞は十分な種類の転移関連遺伝子の発現がないので、経腹膜転移を形成できない。最近、我々のグループは腹膜下リンパ管を介して転移する経リンパ行性転移のメカニズムを解明した¹⁾。経リンパ行性転移は以前から大網乳斑が知られている²⁾。しかし、大網以外の経リンパ行性転移に関しては明らかではなかった。この研究ではヒトにおける経リンパ行性転移について、腹膜偽粘液腫の腹膜切除標本を用いて詳細に検討した。

対象と方法

ヒトの腹膜の区域

図-1に示すように人の腹膜を0-8の領域に分けた。腹膜偽粘液腫の患者から腹膜切除により切除された標本を用いた。

リンパ管染色

摘出した腹膜をformaldehyde-CaCl₂ fixative (2% paraformaldehyde, 1% CaCl₂) in 0.1M cacodylate buffer containing 7% sucrose で24時間固定した。つぎに、OCT (Miles, Diagnostic Division, Elkhart, IN, USA)に包埋し、cryostat で15- μ m に薄切した³⁾。

whole mount specimenには2cm \times 2cmの腹膜を取り出し、腹膜下組織から脂肪を除去し、広げ、前述の方法で固定した。血管とリンパ管の染色はenzyme-histochemical staining using alkaline phosphatase (ALPase) と5'-Nase activityで行った³⁾。

5'-Nase activity により染色されたリンパ管はlead sulfate reaction productにより褐色に染色された。一方、5'-Nase activity のない血管はalkaline phosphatase (ALPase)の活性があるため青く染色された³⁾。染色した腹膜を顕微鏡で観察した。D2-40はO-linked sialoglycoproteinに対する特異抗体で、リンパ管や腹膜中皮細胞に反応する。D2-40抗体 (DAKO, Tokyo, Japan)を用い免疫染色した⁴⁾。

走査電子顕微鏡

腹膜表面を走査電子顕微鏡で観察した。腹膜中皮細胞や基底膜を 6N-KOHで消化し、腹膜下組織を観察した(Hitachi, S-4800, Tokyo, Japan) ³⁾。

結果

ヒト腹膜のリンパ管

ヒトの腹膜下リンパ管は腹膜表面から1-200 micrometerに存在するものと、200 micrometer以下の深部にあるものがある(図2, 4)。whole mount specimenでは発達したリンパ管網がMorrison窩、横隔膜、骨盤、鎌状間膜、小網、大網に認められた(図3)。このリンパ管網は毛細血管より腹膜下組織の浅い層に分布していた(図4)。

一方、前腹壁の腹膜下リンパ管は腹膜直下にはなく、腹膜下組織200 micrometerに分布していた(図1, region 0)(図5)。図6は腹膜中皮の間にあいたstomaである。図7, 8はKOHで消化した腹膜のSEM像であるが、中皮の直下に基底膜、その下に篩状板がみられる。篩状板はコラーゲンで構成されるもので、薄く切ったチーズのような小孔が多数空いている。腹膜下リンパ管網は篩状板の直下に分布し、篩状板の小孔にも接している。

図9は胃癌細胞が開いた中皮間Stomaから篩状板の小孔を通り、腹膜下リンパ管に侵入しつつあるSEM像である。図10は骨盤腹膜下リンパ管内の胃癌細胞を示す。間質誘導を誘導する前の微小転移(Micrometastasis)と考えられる。図11は間質誘導が完成した虫垂粘液腺癌の転移巣の組織像である。腫瘍の中心部にはリンパ管はみられず、腫瘍の結節と結節の間質に血管・リンパ管が認められる。間質血管数は非常に少ない。

腹膜播種のない腹膜下には様々なリンパ管新生像がみられた(図12-17)。図12は嚢胞状のリンパ管島である。それ以外に既存のリンパ管を結合する梯子状リンパ管新生(図13)、リンパ管の芽出像・伸展像がみられた(図14,15)。また、嚢胞状リンパ管を結合する新生リンパ管(図16)や嚢胞状リンパ管が細かく分かれる像(図17)が観察された。また、図20のような腹膜小突起内に新生リンパ管が見られた。

考察

大網乳斑は腹水や大きな分子を吸収する機能がある。乳斑は円盤状の窪みに立方状中皮が被い、その下には基底膜・篩状板・リンパ管で構成されている。腹腔内遊離癌細胞も乳斑上の立方状中皮の間隙・基底膜の孔を通り、その直下にあるリンパ管に侵入する(2)。今までは乳斑以外の腹膜播種は経腹膜転移であると考えられてきた。

この研究で用いたdouble-enzyme staining method (5'-nucleotidase [5'-Nase] and alkaline phosphatase [ALPase]) (3)は腹膜下リンパ管網と腹膜の関係を3次元で調べることができる。さらに、D2-40抗体による免疫染色やSEMを用いることで、経リンパ行性転移のメカニズムを解明することができた。

この研究ではじめて壁側腹膜の転移が経リンパ行性転移であることが明らかとなった。腹膜偽粘液腫のように遊離癌細胞が粘液で被われている場合(図-19)は、経腹膜転移による腹膜下組織への浸潤はできない。しかし、このような遊離癌細胞でも、中皮が収縮し、篩状版の孔が露出すれば腹膜下リンパ管網に入り込み転移することができる。しかし、前腹壁のリンパ管は腹膜直下にはないため、経リンパ行性転移をおこしにくいと考えられた。実際の転移も腹膜下リンパ管網の発達した腹膜にみられた。

一旦腹膜下リンパ管に遊離癌細胞が侵入すると、リンパ管周囲にある動脈性毛細血管から栄養をうけて癌細胞は増殖し始める(5)。

中皮間隙(mesothelial stoma)・篩状板の孔・腹膜下リンパ管網で構成されるtriplet structureは腹腔内遊離癌細胞が経リンパ行性転移をおこす必須の腹膜の構造である。横隔膜下面・骨盤腹膜・傍結腸溝・モリソン窩・肝周辺靭帯(鎌状靭帯・三角間膜・肝十二指腸間膜・小網には乳斑はないが、このtriplet structureがある。正常な腹膜は平坦で、互いに接着し、平均のstomaの直径は1.2 μm (ranging from 1 – 30 μm)である(6)。また平均の横隔膜下面のstomaの数は250個/mm²である(6)。腹腔内に遊離癌細胞が出現すると、癌細胞や炎症細胞から産生されるサイトカインにより、腹膜中皮細胞は収縮・立方化し、腹膜下基底膜・篩状板の孔が広範に露出する(11)。腹膜偽粘液腫の遊離癌細胞は拡大した中皮間隙を介して腹膜下リンパ管に入り込む。実験的腹膜播種では腹腔内に高度腹膜転移株を移植すると、3日後には横隔膜下腹膜や大網乳斑のリンパ管内に癌細胞が転移している像が認められる(11)。

リンパ管内の癌細胞は周辺血管から栄養をうけて増殖すると、リンパ管は最終的に破壊される。リンパ管の内腔は繊細なanchoring filamentにより維持されているため、腫瘍の増殖で間質圧が上昇するとリンパ管は破壊される(3)。

この研究では播種のない腹膜には様々な形態のリンパ管新生像がみられた。既存のリンパ管から芽出するものと、既存リンパ管と離れた間質に出現する嚢胞状リンパ管の2種類の新生像があった。Asahara末梢血にはendothelial (EC) 前駆細胞があり、リンパ管新生に関わるとしている(7)。Leeはpodoplanin陽性の骨髓細胞がリンパ管新生に関わるとしている(8)。さらに、これらの細胞は癌細胞の存在で末梢血に出現するようになり(8,9)、リンパ管の特異的の新生因子であるVEGF-Cがリンパ管新生を誘導すると考えられる(10,12)。

図-1: ヒト腹膜の区域 Peritoneal zones of human parietal peritoneum. RD: right diaphragm, LD: left diaphragm, Ren: kidney, BV: urinary bladder, Ce: caecum, Rec: rectum, U: uterus, Umbo: umbilicus
Region 0: central, 1: right upper, 2: epigastrium, 3: left upper, 4: left flank, 5: left lower, 6: pelvic. 7: right lower, 8: right flank

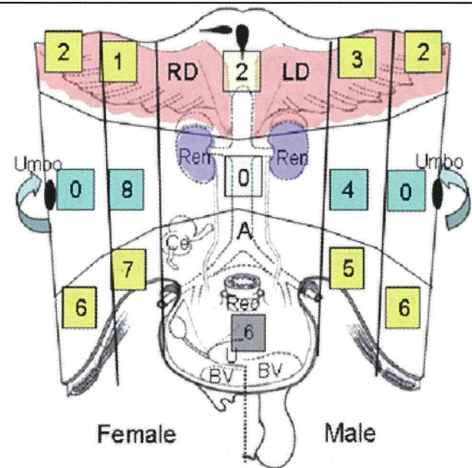


図-2: 酵素2重染色で染色されたヒト腹膜下リンパ管(茶色)と動脈性毛細血管(青)。☆ はリンパ管の弁。

Staining of blood and lymphatic vessels with enzyme-histochemical staining for alkaline phosphatase (ALPase) and 5-Nase activity in the diaphragm. Arterial blood vessels are stained blue, and lymphatic vessels are stained brown. Ly: lymphatic vessel, BV: blood vessel, ☆: lymphatic valve

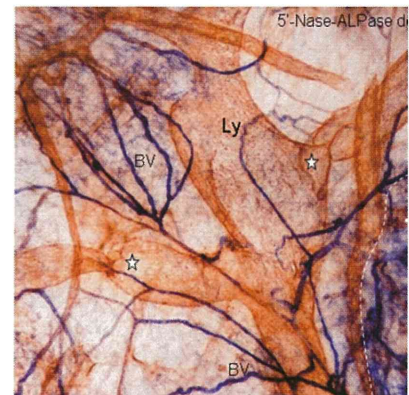


図-3: 酵素2重染色で染色されたヒト腹膜下リンパ管(鎌状間膜)。The extension sample of the human subperitoneal tissue stained with 5'-Nase staining. Well developed lymphatic lacuna is detected (Figure 1, region 6).

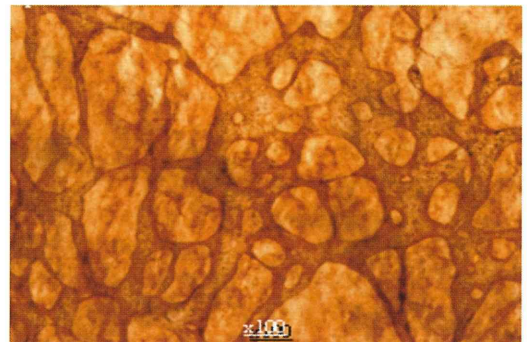


図-4: D2-40抗体で染色したヒト腹膜リンパ管(モリソン窩)。Lymphatic vessels of subperitoneal tissue stained with D2-40 monoclonal antibody. Lymphatic vessels are distributing in the subperitoneal tissue between 1 to 80 micrometer from the peritoneal surface. Ly: lymphatic vessel, PM: peritoneal mesothelial layer (Figure 1, region.1)

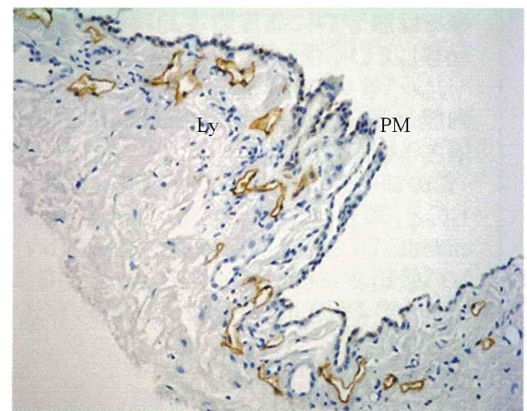


図-5: 上前腹壁腹膜(図-1の領域0)の腹膜下リンパ管。リンパ管は腹膜下200 μm に分布しており、腹膜直下には血管しかみられない。The lymphatic vessels in the subperitoneal tissue of anterior abdominal wall (Figure 1, region 0) distribute in the deep subperitoneal tissue around 200 micrometer from the peritoneal surface.

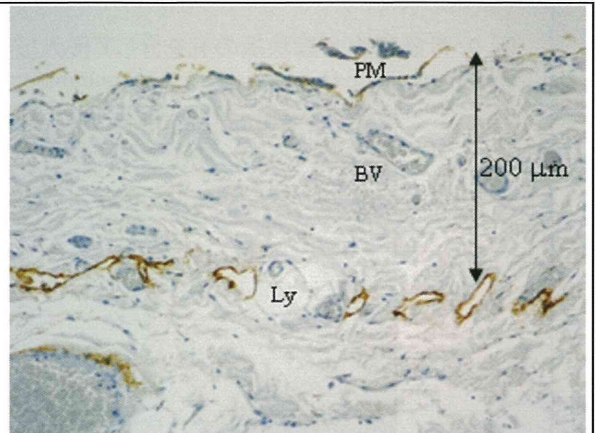


図-6: 横隔膜の腹膜中皮間隙(ストマータ)。左はD2-40 抗体で免疫染色したもので、腹膜直下にリンパ管が認められる。右はSEM像でストマータ直下には篩状板の孔を介してリンパ管が接している。Mesothelial stomata on the diaphragm (SEM, right), and submesothelial lymphatic vessel, stained with D2-40 (left). PM peritoneal mesothelial cells.

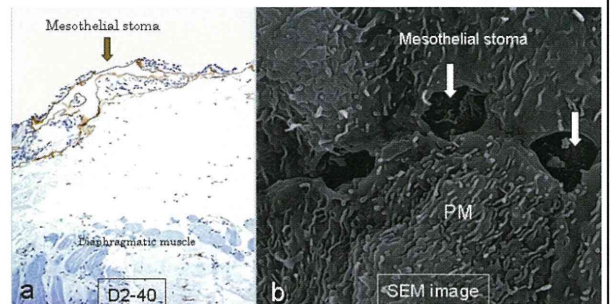


図-7: 腹膜中皮・基底膜と篩状板: KOH消化後の Morrison 窩腹膜。腹膜中皮細胞(PM)がKOHで除去されたあとに基底膜(BM)と篩状板が露出している。★印は篩状板の孔(横隔膜)。SEM finding of mesothelial cells (PM), submesothelial basement membrane (BM) and holes on the macula cribriformis (★) on the diaphragm (Figure 1, region 3).

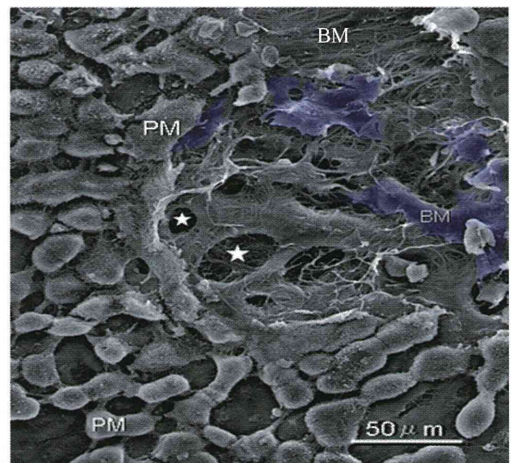


図-8: KOHで完全に中皮と基底膜を消化後の Morrison 窩腹膜で、篩状板が露出している。篩状板には直径20~40 μm の孔が不規則に集合して分布している。篩状板の孔の直下に接してリンパ管があれば、そのリンパ管は腹腔内と連絡できる。SEM finding of macula cribriformis on the Morrison's pouch after chemical digestion by 6N-KOH.

