

原 著

Phosphatidylinositol phospholipase C と超音波破碎を併用した CEA 遊出能増強による腹膜播種性転移早期診断法の試み

岐阜大学医学部第2外科

早川 雅弘 國枝 克行 青木信一郎
小島 則昭 佐治 重豊

目的: 細胞膜表面に疎水結合した CEA を phosphatidylinositol phospholipase C (PLC) で切断・可溶化し, 細胞質内 CEA を超音波細胞破碎 (US) で遊出する感度増強法を併用した腹膜播種性早期診断法の有用性を基礎的・臨床的に検討した。**対象と方法:** CEA 産生ヒト胃癌細胞株 (KATO-III, LoVo, MKN-45) を 1998 年から 1 年間に胃切除し洗浄細胞診 (CY) を施行した胃癌 46 例を対象に, 非処置群, PLC 添加群, US 群および両者併用群 (USP) を作製し, 上清中 CEA 濃度が非処置群に比べ 10% 以上上昇した場合を陽性と判定した。**基礎的検討:** CEA 濃度は cytoplasmic type を示す KATO-III と MKN-45 が apical type の LoVo より高値で, USP 法では cytoplasmic type での増強効果が大きかった。**臨床的検討:** ①各検査法とも陽性率は stage および壁深達度の進行とともに上昇し, 全症例では CY 法が 23.9%, PLC 法が 26.1%, US 法が 26.1%, USP 法が 28.3% で USP 法が最も高値を示した。②各群とも陽性群の予後は陰生群に比べ有意に不良であった。また, T2 以上で P(-) 例では, PLC(+) 群と PLC(-) 群の間に差はみられなかったが, USP(+) 群は USP(-) 群に比べ有意に予後不良であった。**結論:** PLC と US を併用した USP 法の腹膜播種早期診断法として有用性が示唆された。

緒 言

胃癌術後の腹膜播種性転移 (腹膜播種) は, 最も重要な転移形式の 1 つで, 有効な治療法もなく極めて予後不良の因子である。それゆえ, 治療成績向上のためには, 腹膜播種を可及的早期に診断し, 術中から抗癌剤の腹腔内投与などを積極的に併用することが重要である。早期診断法として, 腹腔内洗浄細胞診の有用性が認められつつあるが, 細胞診専門医が少なく, どの施設でも施行可能というわけではない。そこで腹腔内洗浄液中の carcinoembryonic antigen (以下, CEA) 値から, 腹膜播種を早期発見する試みが報告されているが¹⁾⁻³⁾, その精度は決して高くはない。

ところで, CEA は細胞膜に phosphatidylinositol anchor により疎水結合しており, phosphatidylinositol phospholipase C (以下, PLC) により選択的に切断され, 可溶化して細胞膜より遊出することが知られてい

る⁴⁾⁻⁵⁾。教室の辻ら⁶⁾はこの性質を利用し, 腹腔内洗浄液に PLC を添加して, 添加後の CEA 濃度を推察する方法を考案し, 臨床応用の可能性について種々検討した。さらに, 須原ら⁷⁾は PLC による CEA 遊出増強程度を術中に診断できる簡便なキット法を考案し, その有用性を報告した。

そこで, 著者らは上記 PLC 法に新たに超音波細胞破碎 (US 法) を併用することで, 細胞膜結合 CEA と細胞質内 CEA をともに遊出させる方法 (USP 法) を開発し, 相乗効果の可能性を基礎的・臨床的に検討した。

対象と方法

1. 基礎的検討

1) 標的細胞

CEA 産生ヒト胃癌培養細胞株のうち, 免疫組織化学染色により, 細胞膜表面のみが染色される apical type として LoVo を, 細胞質も染色される cytoplasmic type として KATO-III (ヒト印環状細胞癌) と MKN-45 (ヒト低分化腺癌) を用いた。

2) CEA 遊出法

PLC (Boehringer Mannheim Biochemica 製) は *Bacillus cereus* 培地より分離された酵素で、4 で安定、至適 pH は 7.2-7.5、作用温度は 37 である。CEA の遊出には 1×10^5 個の標的細胞に、PLC を添加する PLC 群、超音波細胞破碎を施行する US 群、両者を併用する USP 群および無添加・無処置の非処置群の 4 群を作製した。

方法は各標的細胞を 0.1M phosphate buffer (以下、PB) 液 1ml 中に加え、1,100rpm にて 5 分間遠心・洗浄し上清を排液後、沈渣に PB 液 1ml を加えた。次いで、PLC 群では PLC を添加し、US 群では超音波細胞破碎 (Output 2, Duty cycle 10 にて 2 分間) を、USP 群では PLC を添加後に超音波細胞破碎を併用した。最後に 37 温浴槽で振盪反応し、1,100 回転 5 分間遠心後、上清中の CEA を sandwich 法 (Dinabot CEA RIA base) にて測定した。

3) 判定法

非処置群に比べ CEA 濃度が 10% 以上増加した場合を PLC 法、US 法、USP 法とも陽性と判定した。

2. 臨床的検討

1) 対象

対象は 1998 年 8 月から 1 年間当科で胃切除術を行い、洗浄細胞診を施行し得た胃癌患者中、術後 600 日以上を経過し、予後が判明している 46 例である。性別は男 25 例、女 21 例。年齢は 29 から 85 歳 (平均 61.6 歳)、開腹時の肉眼的進行程度は Stage Ia + Ib⁹ が 19 例、II 3 例、IIIa + IIIb 10 例、IVa + IVb 14 例である。

2) 方法

開腹直後にダグラス窩腔内と左横隔膜窩腔内に生理食塩水を約 50ml 注入し軽く攪拌・洗浄後、可及的全量を回収し少量のヘパリンを添加した。次いで洗浄液を十分振盪後 4 枚重ねたガーゼで脂肪片などを除去し 6 本の試験管に均等分注し、4 本を CEA 抗原遊出程度の検索用に、残り 2 本をパパニコロ染色 (以下、細胞診) 用と上清中 CEA 濃度測定用 (以下、上清中 CEA) に供した。

CEA の遊出は 4 本の試験管を 1,500rpm 5 分間遠心し細胞沈渣を採取後、1ml の PB 液を入れた別の試験管に注入し、1,100rpm で 2 分間遠心洗浄した。得られた沈渣に 1ml の PB 液を再注入し、1 本には PLC を 0.5 単位添加 (PLC 群)、1 本には超音波細胞破碎を施行 (US 群)、1 本は PLC を 0.5 単位添加後超音波細胞破碎を併用 (USP 群)、残り 1 本は無添加 (非処置群) とした。

CEA 濃度は、各試験管を 37 温浴槽にて 120 分間振盪反応後、1,100rpm で 2 分間遠心して上清を採取し sandwich 法で測定した。

細胞診のパパニコロ染色は、細胞沈渣をアルコール固定後ハリス・ヘマトキシリン液を用いて型のごとく染色した。

3. 統計学的検索法

得られた測定値は平均値 ± 標準誤差 (mean ± SE) で表示し、対応 2 群間の比較は Wilcoxon 法で、非対応 2 群間の比較は Mann-Whitney 法で、予後の比較は Kaplan-Meier 法で検定し、危険率 5% 未満を有意差ありと判定した。

結 果

1. 基礎的検討

1) CEA 免疫組織化学染色の結果

LoVo は細胞膜表面のみが染色される apica 1 type を、KATO-III と MKN-45 は細胞質も染色される cytoplasmic type を示した (Fig. 1)。

2) 上清中 CEA 濃度

LoVo: 上清中 CEA 濃度は非処置群が $1.1 \pm 1.4 \text{ ng/ml}$ (以下、単位省略)、PLC 群が 9.7 ± 15.5 、US 群が 3.4 ± 3.0 、USP 群が 13.9 ± 23.0 で、非処置群に比べそれぞれ 8.7 倍、3.1 倍、12.5 倍の値を示し、増強効果は USP 群が最も大きく、PLC 群、US 群の順に低下した。

KATO-III: 非処置群は 10.5 ± 3.3 、PLC 群は 17.0 ± 8.1 、US 群は 38.0 ± 13.5 、USP 群は 46.3 ± 18.6 で、非処置群に比べてそれぞれ 1.6 倍、3.6 倍、4.4 倍の増強を示し、増強効果は US 群と USP 群で優れていた。

MKN-45: 非処置群は 8.8 ± 2.3 、PLC 群は 106.4 ± 9.5 、US 群は 77.2 ± 13.3 、USP 群は 134.2 ± 4.2 で、非処置群に比べてそれぞれ 12.1 倍、8.7 倍、15.2 倍と、増強効果はいずれの群とも優れていた (Fig. 2)。

2. 臨床的検討

1) Stage 別陽性率

各検査法別陽性率は、細胞診では Stage Ia + Ib が 0% (0/19)、II が 0% (0/3)、IIIa + IIIb が 20.0% (2/10)、IVa + IVb が 64.3% (9/14) で、全体では 23.9% (11/46) であった。PLC 法では、陽性率はそれぞれ 0% (0/19)、0% (0/3)、30.0% (3/10)、および 64.3% (9/14) で、全体では 26.1% (12/46) であった。US 法では、陽性率はそれぞれ 5.3% (1/19)、0% (0/3)、30.0% (3/10) および 57.1% (8/14) で、全体では 26.1% (12/46) であった。USP 法では、陽性率はそれぞれ 0% (0/19)、0% (0/3)、30.0% (3/10) および 71.4

Fig. 1 Microscopic findings of positive CEA expression on KATO-III, LoVo and MKN-45 by immunohistochemical staining

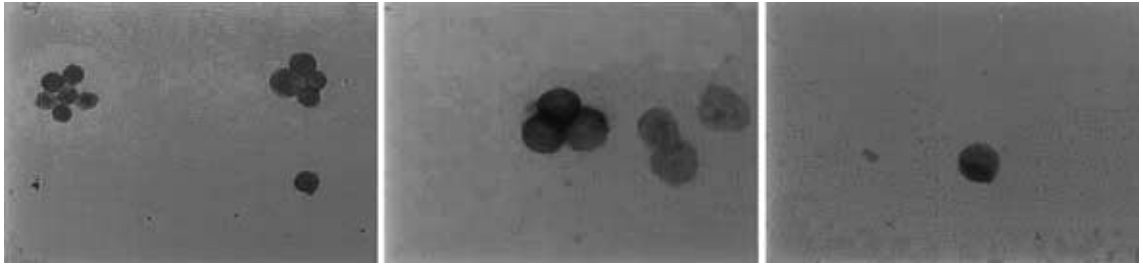
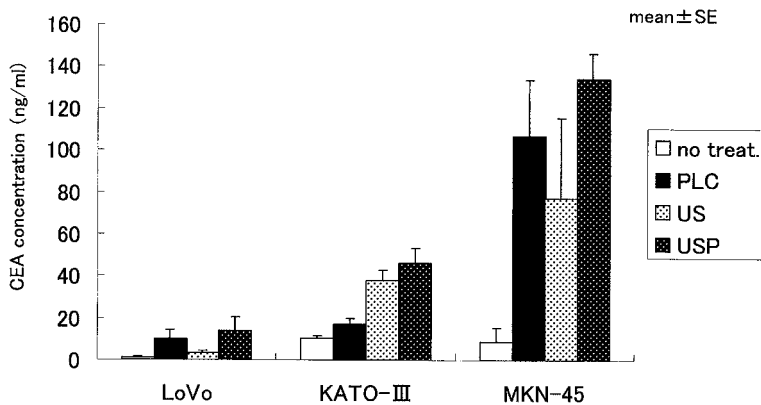


Fig. 2 Comparison of CEA value among LoVo, KATO-III and MKN-45 according to various CEA expression by PLC, US, USP, and without treatment.



% (10/14) で、全体では 28.3% (13/46) であった。陽性率は USP 法が最も高値を示したが、各群間で有意差はみられなかった。また、stage 別陽性率でも各群間で有意差は認められなかった (Fig. 3)。

2) 肉眼的壁深達度別陽性率

各検査法とも陽性率は、T1 群では 0% であったが、T2 群では細胞診が 11.1% (1/9)、PLC 法が 11.1% (1/9)、US 法が 22.2% (2/9)、USP 法が 11.1% (1/9) で、いずれも転移陽性リンパ節が腹腔内に露出していた症例であった。T3 群では細胞診が 46.7% (7/15)、PLC 法が 46.7% (7/15)、US 法が 46.7% (7/15)、USP 法が 53.3% (8/15) で、USP 法が最も高値を示したが、各群間で有意差はみられなかった。T4 群では細胞診が 37.5% (3/8)、PLC 法が 50.0% (4/8)、US 法が 37.5% (3/8)、USP 法が 50.0% (4/8) で、PLC 法と USP 法が最も高値であったが、各群間に有意差は認められなかった (Fig. 4)。

3) 肉眼的腹膜播種の有無別陽性率

肉眼的腹膜播種 (以下、P) 陽性例は 46 例中 8 例 (17.4%) で、内訳は P1 が 3 例、P2 が 2 例、P3 が 3 例であった。P (+) 例の各検査法別陽性率は、細胞診が 100%、PLC 法が 87.5%、US 法が 87.5%、USP 法が 100% で、細胞診と USP 法で全例肉眼所見と一致したが、各検査法間で有意差はみられなかった。一方、P (-) 38 例の陽性率は PLC 法が 13.2%、US 法が 13.2%、USP 法が 13.2% で、細胞診 (7.9%) に比べ高率であったが、有意差は認められなかった (Fig. 5)。

4) 予後との関連

細胞診および PLC 法の予後は、いずれも陽性群が陰性群に比べ有意に不良であった (Fig. 6)。

細胞診および PLC 法の陰性群間では予後に差を認めなかったが、陽性群間では細胞診陽性群が PLC 法陽性群に比べ軽度良好であったが、有意差は認められなかった。

PLC 法での陽性群と陰性群の予後を T2 以上例で比較検討すると、陽性群の予後は陰性群に比べ不良で

Fig. 3 Comparison of positive rate(%) among the surgical stage grouping according to various CEA expression by PLC, US, USP, and cytology.

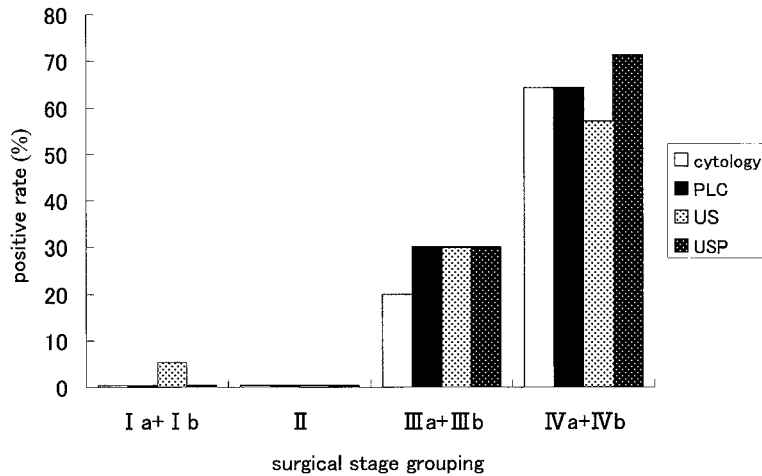
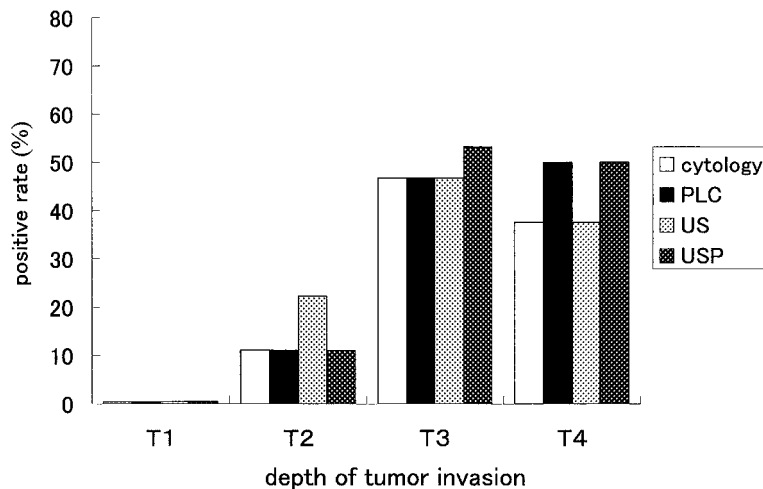


Fig. 4 Comparison of positive rate(%) among the depth of tumor invasion according to various CEA expression by PLC, US, USP, and cytology.



あったが、有意差はみられなかった (Fig. 7).

一方、USP 法では陽性群の予後は陰性群に比べ有意に不良で ($p=0.0008$) あった (Fig. 8).

5) 血清および洗浄液中 CEA 濃度との関係

洗浄液 CEA 濃度は、左横隔膜窩腔あるいはダグラス窩腔の洗浄液中、高値を示した方を当核症例の CEA 濃度として比較検討に用いた。

洗浄液中 CEA 濃度は細胞診陽性群が 352.0 ± 243.1 ng/ml で、陰性群の 2.6 ± 2.0 ng/ml に比べ有意の高値

を示した ($p=0.0002$)。PLC 陽性群は 102.8 ± 55.6 で、陰性群の 0.3 ± 0.1 ng/ml に比べ有意の高値であった ($p=0.0009$)。USP 陽性群は 204.9 ± 137.9 ng/ml で、陰性群の 0.3 ± 0.4 ng/ml に比べ有意の高値であった ($p=0.0065$)。

血清 CEA 濃度は、細胞診陽性群が 14.2 ± 5.0 ng/ml と陰性群の 13.5 ± 7.7 ng/ml に比べ高値を示したが、有意差はみられなかった ($p=0.9764$)。PLC 陽性群は 108.4 ± 98.1 ng/ml で、陰性群の 2.8 ± 0.4 ng/ml に比べ

Fig. 5 Comparison of positive rate (%) among the macroscopic peritoneal dissemination according to various CEA expression by PLC, US, USP, and cytology.

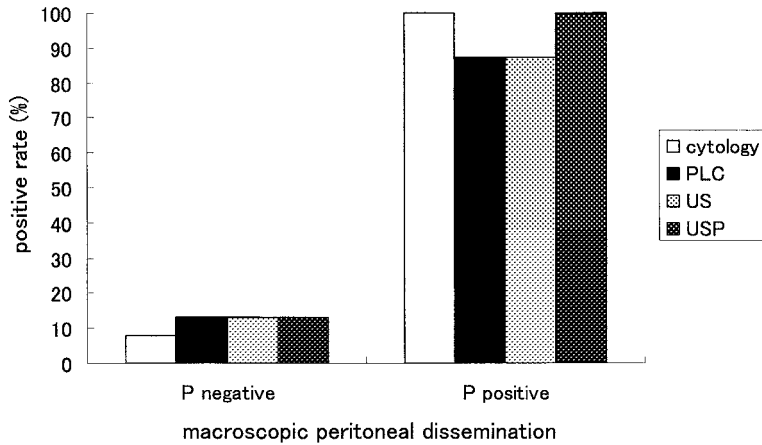
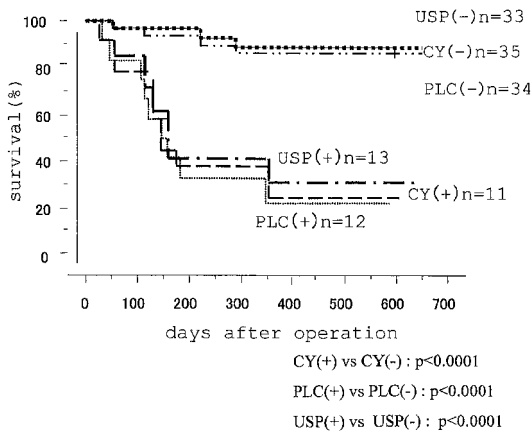


Fig. 6 Comparison of survival curves between the positive group and negative one according to various CEA expression by PLC, US, USP, and cytology.

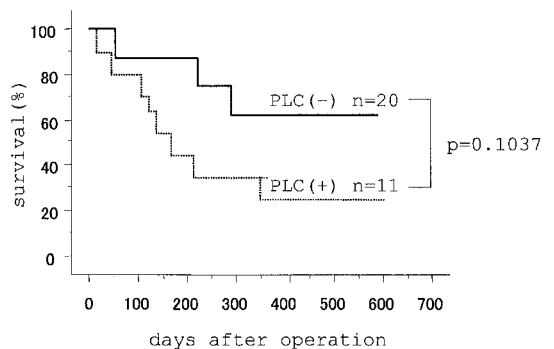


有意の高値を示した (p = 0.0352). USP 陽性群は 47.2 ± 30.7ng/ml で,陰性群の 4.6 ± 2.0ng/ml に比べ有意の高値であった (p = 0.0096).

考 察

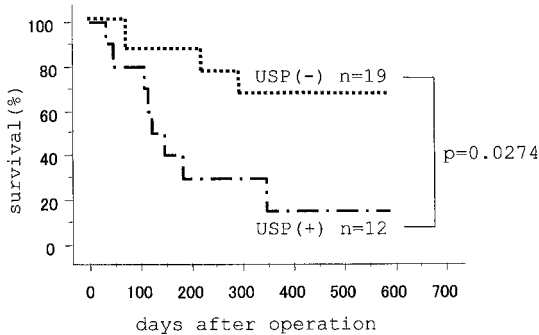
胃癌で初回手術時に,肉眼的には腹膜播種が認められず治癒切除と判定されても,相当例に腹膜再発がみられるが,いずれも抗癌療法に抵抗し治療に難渋する。かかる症例では,開腹時すでにミクロレベルで腹膜播種が存在したと推察されるため⁹⁾¹⁰⁾,腹腔内洗浄細胞診を用いた早期診断の試みが各施設で行われ,その有

Fig. 7 The relationship on survival curves between the positive PLC and negative PLC in the patients with T2, T3, T4 and without macroscopic peritoneal dissemination



用性が報告されている¹¹⁾¹²⁾。しかし,洗浄細胞診の診断は,腹腔内活性化中皮細胞との鑑別が難しいため専門の病理医や細胞診スクリーナーが必要で,また診断上,迅速性に欠けるなどの問題があり,どの施設でも常時施行可能な検査法には至っていない。一方,腹膜播種に対する抗癌剤¹³⁾や免疫賦活剤の腹腔内投与¹⁴⁾あるいは持続的温熱療法¹⁵⁾などが試みられてきたが,いまだ有効な治療法がないのが現状である。しかし,肉眼的腹膜播種陰性で洗浄細胞診陽性例に対し,閉腹前から積極的に治療開始した場合,相当程度の効果が期待されるので¹⁶⁾⁻¹⁸⁾,腹膜播種の早期診断・早期治療は,胃癌の予後改善のため極めて重要な課題と考えら

Fig. 8 The relationship on survival curves between the positive USP and negative USP in the patients with T2, T3, T4 and without macroscopic peritoneal dissemination



れる。

そこで教室では、洗浄細胞診と同程度以上の感度を保持でき、簡便で客観性のある腹膜播種早期診断法として、洗浄液中 CEA に注目し種々検討を重ねてきた。すなわち、CEA は胎児大腸組織と大腸癌から発見された分子量約 18 万の糖蛋白で¹⁹⁾、臨床の場で最も多用されている腫瘍マーカーである。胃癌症例でも血清 CEA や組織 CEA と予後との関連、治療効果との関連などが報告されているが²⁰⁾⁻²²⁾、浅尾ら¹⁾は 1991 年に腹腔洗浄液 CEA 値が腹膜播種性転移の診断に有効であるとはじめて報告した。また、西山ら³⁾も腹腔洗浄液 CEA 値が胃癌の腹膜再発や予後判定に有用であることを述べ、CEA が腹腔内遊離癌細胞や、漿膜浸潤面やリンパ節転移巣から分泌された可能性を指摘した。一方、西田ら²³⁾は癌性腹水の免疫染色やフローサイトメトリー解析の結果、赤血球、白血球、組織球、中皮細胞は CEA 染色が全例陰性で、悪性腫瘍の細胞質のみに CEA が染色されたと報告している。そこで、著者らは CEA の感度増強目的で、細胞膜に疎水結合している CEA を PLC により選択的に切断できる可能性に注目し、PLC を用いた新しい腹膜播種早期診断法を開発し、その有用性を報告してきた^{6,7)}。しかし、癌細胞における CEA の局在様式から、PLC 法では細胞膜表面の CEA を遊出可能ではあるが、細胞質内の CEA は遊出困難と推察されるので、新たに超音波細胞破砕法を併用することで、従来法に比べ感度が高く、しかも簡便性を損なわない CEA 遊出法を考案し、基礎的、臨床的検討を行い、上記の諸結果を得たわけである。

CEA 産生培養癌細胞を用いた基礎的検討

KATO-III, LoVo, MKN-45 に PLC を添加すると、CEA 濃度は非処置に比べそれぞれ 1.6 倍, 8.7 倍, 12.1 倍に上昇することから、癌細胞膜表面の CEA 疎水結合部分が PLC により可溶化・切断できることが確認された。また、US では非処置群に比べ LoVo で 3.1 倍, KATO-III で 3.6 倍, MKN-45 で 8.7 倍と増加し、増強程度は cytoplasmic type を示す KATO-III と MKN-45 で大きかった。一方, apical type を示す LoVo では、US 法より PLC 法の方が増強効果が大きかった。さらに、MKN-45 は細胞膜表面と細胞質内に CEA の存在が免疫染色で確認されたが、PLC 法と US 法とも著明な増強効果が観察された。この結果を基に、PLC 法と US 法の併用意義が示唆され、相乗効果を期待して USP 法を考案したところ、USP 法は apical type および cytoplasmic type とも最も高い増強効果を示し、早期診断法としての有用性が示唆された。

ヒト胃癌症例を用いた臨床的検討

各検査法別陽性率は、細胞診が 31.4%、PLC 法が 35.3%、US 法が 35.3%、USP 法が 39.4% と USP 法で最も高値を示し、US 法と PLC 法は同程度の値を示した。また、USP 法は細胞診陰性例でも 2 例が陽性で、いずれも癌が腹腔内に露出した症例や遠位の所属リンパ節に転移を認めた症例で、既に開腹時マイクロレベルの腹膜播種が存在していた可能性が推察された。なお、USP 法は T1 症例では全例陰性で、偽陽性の少ない検査法であると思われた。また、肉眼的腹膜播種陽性群における各検査法の陽性率は細胞診と USP 法が 100%、PLC 法と US 法が 87.5% で、細胞診と USP 法が良好な成績を示した。言い換えると、肉眼的腹膜播種陽性群で PLC 法と US 法にて陰性であった 12.5% がすべて USP 法にて陽性であった。一方、肉眼的腹膜播種陰性群における陽性率は、細胞診が 7.9% に対し、PLC 法、US 法、USP 法はいずれも 13.2% と高率であり、CEA 遊出現象を応用したこれらの検査法の腹膜播種早期診断法として有用性が示唆された。自験例での肉眼的腹膜播種陽性群の細胞診陽性率は諸家の報告²⁴⁾に比べ高いが、これは P2 以上の症例が多く含まれていたこと、ダグラス窩と左横隔下腔の 2 か所から洗浄液を採取したこと、および細胞診担当医の積極的な検査姿勢などによると考えている。また、洗浄液 CEA と血清 CEA との関連で、前者は USP 群が、後者は PLC 群が最も高い値を示した。この結果は apical type の胃癌細胞で血清 CEA が高値を示す傾向が高いが²⁰⁾、洗浄細胞診での PLC による遊出所見と合わせ

興味深い所見と考えている。

各検査法別予後との関連について

PLC法あるいは細胞診の陽性群は陰性群に比べ有意に予後不良で、両検査法の早期診断法としての意義が示唆された。しかし、ともに陰性群、およびともに陽性群間での比較では両群間に差が認められなかった。また、腹膜播種再発した症例のみで比較した場合には、各検査法の間に差は認められなかった。一方、T2以上群でPLC法とUSP法を比較検討するとPLC法では差がみられなかったが、USP法では陽性群の予後は陰性群に比べ有意に不良で、USP法の有用性が高いと推察可能であった。これまで著者らはPLC法の実用化を目指して、簡便キットを開発してきたが⁷⁾、これに超音波破碎を併用することで、さらなる感度増強が可能と考えている。

ところで、CEA濃度測定を判定基準とする本法の問題点は、評価対象がCEA産生胃癌(組織CEA陽性例)に限られるとの懸念である。しかし、すべての上皮細胞は原則的にはCEA mRNAを有しており²⁵⁾、胃癌の多様性から、実際には高率にCEA産生能を有する癌細胞が高率に混在している。教室の検討でも、胃癌洗浄細胞診のCEA免疫染色陽性率が75%で⁶⁾、血清CEA陰性例でも組織CEA陽性癌細胞の予後は不良で、悪性度が高いと判断可能であった²⁰⁾。それゆえ、腹膜播種の早期診断法として洗浄液中CEA濃度を測定する著者らの方法は正当性が高いと考えている。今回の検討でも、肉眼的腹膜播種陽性例中、PLC法とUSP法とでどちらも陽性と判断できたのは94.1%であり、遊離癌細胞から遊出した微量のCEAを検出可能で、その意義を裏付けるものであると考えられる。一方、近年遊離癌細胞が有するCEA mRNAをRT-PCR法で検出する試みが増加し²⁶⁾、高感度の早期診断法として報告されている。教室でもRT-PCR法による同様の検索を平行して行っているが、検査の迅速性や経済面に難点があり、PCRの条件設定を含め偽陽性例の減少に今後の問題が残されている。いずれにしても、腹膜播種陽性例に対する有効な治療法が確立されていない現状において、どの施設でも簡便かつ迅速に施行できるUSP法により腹膜播種を早期診断し、術中から積極的な治療を開始できれば、胃癌患者の予後改善に大きく寄与できると思われる。

文 献

1) Asao T, Fukuda T, Yazawa S et al : Carcinoembryonic antigen levels in peritoneal washings can

- predict peritoneal recurrence after curative resection of gastric cancer. *Cancer* 68 : 44-47, 1991
- 2) Irinoda, Terashima M, Takagane A et al : Carcinoembryonic antigen level in peritoneal washing is a prognostic factor in patients with gastric cancer. *Oncol Rep* 5 : 661-666, 1998
- 3) 西山正彦, 田中 卓, 吉田和弘ほか : 腹腔内洗浄液中の carcinoembryonic antigen(CEA)による胃癌再発, 予後判定の試み. *臨外* 47 : 935-939, 1992
- 4) Hefta SA, Hefta LJF, Lee TD et al : Carcinoembryonic antigen is anchored to membranes by covalent attachment to a glycosylphosphatidylinositol moiety : Identification of the ethanolamine linkage site : *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 4648-4652, 1988
- 5) Sack TL, Gum JR, Low MG et al : Release of carcinoembryonic antigen from human colon cancer cells by phosphatidylinositol-specific phospholipase. *J Clin Invest* 82 : 586-593, 1988
- 6) 辻 恭嗣, 須原貴志, 加藤元久ほか : Phosphatidylinositol phospholipase Cを用いた carcinoembryonic antigen 可溶性の試みと腹腔洗浄細胞診への応用. *日消外会誌* 30 : 1725-1733, 1997
- 7) 須原貴志, 辻 恭嗣, 加藤元久ほか : Carcinoembryonic antigen 可溶性による感度増強法を応用した腹腔内洗浄細胞診キット化の試み. *日消外会誌* 31 : 2303-2311, 1998
- 8) 胃癌研究会編 : 胃癌取り扱い規約. 改訂第12版. 金原出版, 東京, 1993
- 9) 折田薫三 : 消化器癌の腹膜再発. *消外* 14 : 1467-1471, 1991
- 10) 貝原信明, 村田陽子 : 腹膜播種性転移形式の機序. *消外* 14 : 1593-1599, 1991
- 11) Kodera Y, Yamamura Y, Torii Y et al : Peritoneal washing cytology : prognostic value of positive findings in patients with gastric carcinoma undergoing a potentially curative resection. *J Surg Oncol* 72 : 60-64, 1999
- 12) Bando E, Yonemura Y, Takeshita Y et al : Intraoperative lavage for cytological examination in 1297 patients with gastric carcinoma. *Am J Surg* 178 : 256-262, 1999
- 13) Takahashi T, Hagiwara A, Shimotsu M et al : prophylaxis and treatment of peritoneal carcinomatosis : intraperitoneal chemotherapy with mitomycin C bound to activated carbon particles. *World J Surg* 19 : 565-569, 1995
- 14) Maehara Y, Okuyama T, Kakeji Y et al : Postoperative immunochemotherapy including streptococcal lysate OK-432 is effective for patients with gastric cancer and serosal invasion. *Am J Surg* 168 : 36-40, 1994
- 15) Hirose K, Katayama K, Yamaguchi A et al : Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion for the prophylaxis and treatment of peritoneal metastasis of advanced gastric cancer. Evaluation by multivariate regression analysis.

- Oncology 57 : 106 114, 1999
- 16) 黒須康彦, 遠藤 潔, 富田涼一ほか : 胃癌開腹時腹腔内洗浄細胞診と持続温熱腹膜灌流療法 . 日大医誌 48 : 481 487, 1989
- 17) 貝原信明 : 胃癌腹膜転移の予防と治療 . 日外会誌 97 : 308 311, 1996
- 18) 荒井邦佳, 岩崎善毅, 大橋 学ほか : 胃癌の腹膜転移に対する腹腔内反復化学療法意義と問題点 . 癌と化療 26 : 1809 1812, 1999
- 19) Gold P, Freedman SO : Demonstration of tumor-specific antigens in human colon carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. J Exp Med 121 : 439 462, 1965
- 20) 蔭山 徹 : 胃癌術前血清 CEA 値と組織 CEA の局在様式からみた予後と, CEA 陽性癌細胞の核 DNA 量からみた生物学的悪性度に関する検討 . 岐阜大医紀 39 : 598 631, 1991
- 21) Kim DY, Kim HR, Shim JH et al : Significance of serum and tissue carcinoembryonic antigen for the prognosis of gastric carcinoma patients. J Surg Oncol 74 : 185 192, 2000
- 22) 小川健治, 成高義彦, 湖山信篤ほか : 胃癌, 大腸癌における腫瘍マーカーの臨床的有用性について . 癌の臨 31 : 638 647, 1985
- 23) 西田康一, 山本健夫, 坪井一彦ほか : CEA, CA19 9, CA125 の測定, 免疫染色, フローサイトメトリ法細胞解析による癌性腹水の分析 . 消と免疫 17 : 227 231, 1986
- 24) 梨本 篤, 藪崎 裕, 土屋義昭ほか : 腹腔内洗浄細胞診の臨床的意義 . 日消外会誌 32 : 990 996, 1999
- 25) Masaki Mori, Koshi Mimori, Hiroshi Inoue et al : Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain resection. Cancer Res 55 : 3417 3420, 1995
- 26) Nakanishi H, Kodera Y, Torii A et al : Detection of carcinoembryonic antigen-expressing free tumor cells in peritoneal washes from patients with gastric carcinoma by polymerase chain reaction. Jpn J Cancer Res 88 : 687 692, 1997

A Study of Combined Effects of CEA Release using Phosphatidylinositol Phospholipase C and Ultrasound-induced Cell Lysis in Early Peritoneal Dissemination on Diagnosis

Masahiro Hayakawa, Katsuyuki Kunieda, Shinichirou Aoki, Noriaki Kojima and Shigetoyo Saji
Second Department of Surgery, Gifu University, School of Medicine

Purpose : We studied the combined effects of carcinoembryonic antigen (CEA) release from cancer cell (PLC) using phosphatidylinositol phospholipase C (PIPLC) and ultrasound-induced cell lysis (US) in early peritoneal dissemination on diagnosis. Materials and Methods : Materials were 3 CEA-producing human gastric cancer cell lines KATO-III, LoVo and MKN-45 and Subjects 46 gastric cancer patients undergoing gastrectomy and peritoneal lavage cytology for 1 year 1998. Patients were divided into 4 groups nontreatment, PLC(0.05U of PIPLC administered into sediment from peritoneal lavage fluid) US(ultrasound-induced cell lysis) and USP (combined PLC and US) The reaction was positive if supernatant CEA increased more than 10 % compared to the nontreatment group. Results : CEA was higher in cytoplasmic KATO-III and MKN-45 than in apical LoVo. The effect of CEA release was more marked in the USP group versus cytoplasmic. Positive CEA increased gradually by surgical stage grouping and the depth of tumor invasion 23.9% in nontreatment, 26.1% in PLC, 26.1% in US, and 28.3% in USP, with USP the most positive. The prognosis of positive groups in USP, PLC, and CY was significantly poorer than in negative groups. In cases showing T2 or T3 with negative peritoneal dissemination, no significant difference was seen in survival curves between positive and negative PLC, but the prognosis of USP(+)was significantly poorer than that of USP(-) Conclusions : The combination of PLC and US, i.e.) USP, may be effective in early diagnosis of peritoneal dissemination in gastric cancer patients.

Key words : gastric cancer, peritoneal dissemination, carcinoembryonic antigen, phosphatidylinositol phospholipase C, ultrasound-induced cell lysis

[Jpn J Gastroenterol Surg 35 : 1763 1770, 2002]

Reprint requests : Masahiro Hayakawa Second Department of Sugg. Gifu University School of Medicine 40 Tsukasa-cho, Gifu, 500 8705 JAPAN