

学 位 論 文 題 名

Vascular Endothelial Growth Factor Expression is
an Independent Negative Predictor
in Extrahepatic Biliary Tract Carcinomas

血管内皮増殖因子の発現は肝外胆道癌の独立した予後不良因子である

学位論文内容の要旨

I. 目的

血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor, 以下VEGF)は多彩な機能を持つサイトカインであり, 血管内皮細胞の増殖を直接刺激し, 血管新生を誘導する. 現在までに, 様々な癌の予後がVEGFによる血管新生と相関していると報告されている. しかし, 肝外胆道癌における発現やその意義についての報告は少なく, 本研究を行った.

本研究では, 根治切除症例の転移・再発形式, 予後との関連を検討し, 肝外胆道癌におけるVEGF発現の役割と意義を明らかにすることを目標とした.

II. 材料と方法

1. 材料

1988年より1995年までに北海道大学医学部第2外科および北海道消化器科病院外科で根治切除がなされ, 顕微鏡的に切除標本断端に癌細胞の遺残を認めず, 北海道消化器科病院で経過観察した51症例(胆嚢癌15例, 胆管癌26例, 乳頭部癌10例)を対象とした. 術前に化学療法あるいは放射線療法を受けた症例はなかった. 全ての標本は10%ホルマリンで固定後, パラフィンに包埋した. 腫瘍最大径を含む4 μ m切片を作成し免疫組織染色を行った. 腫瘍の分類と臨床病期分類はUICCのTNM分類に従った.

2. 免疫組織染色

免疫組織反応はストレプトアビジン-ペルオキシダーゼコンプレックス法で行った. パラフィン包埋ブロックから作成した組織切片をキシレンで脱パラフィンした後, 0.3%過酸化水素溶液で内因性ペルオキシダーゼをブロッキングした. 0.25%トリプシン処理後, 一次抗体は2E1(抗VEGFマウスモノクローナル抗体, Immuno-Biological Laboratories社)を使用した. 二次抗体には

Histofine kit (ニチレイ社) 使用し、発色にはdiaminobenzidineを用いた。Hematoxylinで核染色した後、封入し検鏡した。癌細胞がびまん性に染色されたものをVEGF陽性とした。

3. 統計解析

χ^2 検定, Fisher直接検定, log-rank検定, Cox検定を適宜行った。p値0.05未満を有意差ありと判定した。

III. 結果

胆嚢癌15例中5例(33.3%), 胆管癌26例中7例(26.9%), 乳頭部癌10例中4例(40.0%), 計51例中16例(31.4%)でVEGF免疫染色陽性であった。

VEGF免疫染色性と臨床病理学的因子(年齢, 性別, 腫瘍占拠部位, T因子, N因子, M因子, 病期, 腫瘍分化度, リンパ管侵襲, 静脈侵襲神経叢浸潤)との関係を分割表分析した。VEGF免疫染色性は性別と相関があり($p=0.033$), リンパ節転移($p=0.059$), M因子($p=0.086$)と相関傾向を示した。性別はT因子($p=0.004$)と病期($p=0.019$)と相関していた。

再発形式の検討では、腹膜再発との相関傾向が認められた($p=0.069$)。

VEGF陽性例の予後は不良であり、log-rank検定でp値は0.033であった。多変量解析により、VEGFは独立した予後因子であることが明らかになった($p=0.025$)。

IV. 考察

本研究では肝外胆道癌51例のうち16例、31.4%がVEGF陽性であり、胆嚢癌における従来の報告(陽性率33.3%)と矛盾しない結果であった。

VEGFの発現は性別と有意な相関を示したが、これは男性でT因子($p=0.004$)と病期($p=0.019$)が高度なためと推察された。

VEGFの発現とリンパ節転移, M因子, 腹膜再発が相関傾向を示したことから、VEGFが肝外胆道癌の進展, 再発に寄与している可能性が示唆された。

また、多変量解析によりVEGFが肝外胆道癌の独立した予後不良因子であることが示された。

V. 結語

1. 肝外胆道癌の進展, 再発へのVEGFの関与が示唆された。
2. VEGFは肝外胆道癌の独立した予後不良因子である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 守 内 哲 也

副 査 教 授 加 藤 紘 之

副 査 教 授 長 嶋 和 郎

学 位 論 文 題 名

Vascular Endothelial Growth Factor Expression is an Independent Negative Predictor in Extrahepatic Biliary Tract Carcinomas

血管内皮増殖因子の発現は肝外胆道癌の独立した予後不良因子である

血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor, 以下VEGF)は多彩な機能を持つサイトカインであり, 血管内皮細胞の増殖を直接刺激し, 血管新生を誘導する. 現在までに, 様々な癌の予後がVEGFによる血管新生と相関していることが報告されている. しかし, 肝外胆道癌における発現やその意義についての報告は少なく, 本研究を行った.

本研究では, 根治切除症例の転移・再発形式, 予後との関連を検討し, 肝外胆道癌におけるVEGF発現の役割と意義を明らかにすることを目的とした.

1988年より1995年までに北海道大学医学部第2外科および北海道消化器科病院外科で根治切除がなされ, 顕微鏡的に切除標本断端に癌細胞の遺残を認めなかった51症例(胆嚢癌15例, 胆管癌26例, 乳頭部癌10例)を対象とした. 術前に化学療法あるいは放射線療法を受けた症例は無かった. 全ての標本は10%ホルマリンで固定後, パラフィンに包埋した. 腫瘍最大径を含む4 μ m切片を作成し免疫組織染色を行った. 腫瘍の分類と臨床病期分類はUICCのTNM分類に従った.

免疫組織反応はストレプトアビジン-ペルオキシダーゼコンプレックス法で行った. パラフィン包埋ブロックから作成した組織切片をキシレンで脱パラフィンした後, 0.3%過酸化水素溶液で内因性ペルオキシダーゼをブロッキングした. 0.25%トリプシン処理後, 一次抗体は2E1(抗VEGFマウスモノクローナル抗体, Immuno-Biological Laboratories社)を使用した. 二次抗体にはHistofine kit(ニチレイ社)を使用し, 発色にはdiaminobenzidineを用いた. Hematoxylinで核染色した後, 封入し検鏡した. 癌細胞がびまん性に染色され

たものをVEGF陽性とした。

χ^2 検定, Fisher直接検定, log-rank検定, Cox検定を適宜行った。p値0.05未満を有意差有りと判定した。

胆嚢癌15例中5例(33.3%), 胆管癌26例中7例(26.9%), 乳頭部癌10例中4例(40.0%), 計51例中16例(31.4%)でVEGF免疫染色陽性であった。

VEGF免疫染色性と臨床病理学的因子(年齢, 性別, 腫瘍占拠部位, T因子, N因子, M因子, 病期, 腫瘍分化度, リンパ管侵襲, 静脈侵襲神経叢浸潤)との関係を分割表分析した。VEGF免疫染色性は性別と相関があり($p=0.033$), リンパ節転移($p=0.059$), M因子($p=0.086$)と相関傾向を示した。性別はT因子($p=0.004$)と病期($p=0.019$)と相関していた。

再発形式の検討では, 腹膜再発との相関傾向が認められた($p=0.069$)。

VEGF陽性例の予後は不良であり, log-rank検定でp値は0.033であった。多変量解析により, VEGFは独立した予後因子であることが明らかになった($p=0.025$)。

本研究では肝外胆道癌51例のうち16例, 31.4%がVEGF陽性であり, 胆嚢癌における従来の報告(陽性率33.3%)と矛盾しない結果であった。

VEGFの発現は性別と有意な相関を示したが, これは男性でT因子($p=0.004$)と病期($p=0.019$)が高度なためと推察された。

VEGFの発現とリンパ節転移, M因子, 腹膜再発が相関傾向を示したことから, VEGFが肝外胆道癌の進展, 再発に寄与している可能性が示唆された。

また, 多変量解析によりVEGFが肝外胆道癌の独立した予後不良因子であることが示された。

以上の結果より, 肝外胆道癌の進展, 再発へのVEGFの関与が示唆され, VEGFは肝外胆道癌の独立した予後不良因子であることが明らかになった。

口頭発表において長嶋和郎教授より, 胆道癌の悪性化におけるVEGF発現の役割と意義につき質問があった。ついで, 加藤紘之教授より, VEGF発現診断の臨床的意義と利用法につき質問があった。また, 細川真澄教授より, VEGF発現とRasの変異の関連についての質問があった。最後に, 守内哲也教授から, VEGF以外の予後因子についての質問があったが申請者はおおむね妥当な回答をした。

VEGFが胆道癌の新しい予後因子であることを明らかにした本研究の意義は大きく, 審査員協議の結果, 本論文は博士(医学)の学位授与に値するものと判定した。