

学 位 論 文 題 名

Prognostic Significance of Clinical Parameters
and Biologic Markers in Patients with Squamous
Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated
with Concurrent Chemoradiotherapy

（頭頸部扁平上皮癌の放射線化学療法施行例の免疫組織学的、
臨床病理学的予後因子の検討）

学位論文内容の要旨

はじめに

頭頸部癌の治療において、抗癌剤と放射線の同時併用療法は高い治療効果を示し臓器温存が可能となる症例が増えたが、腫瘍が残存し手術が必要になる症例もみられる。治療開始前にその治療効果を予測することができれば、同時併用療法により臓器温存を目指すか、または手術を行うかを選択することが可能となる。

腫瘍細胞の生物学的特性を反映する新たな因子の解明と検索方法の簡便化により、これらの生物学的因子と臨床像、予後などとの関連について多くの研究がなされている。近年、放射線・化学療法の効果は腫瘍細胞のアポトーシスの誘導を介することが判明してきた。頭頸部癌の臨床例においてp53の異常と放射線療法の効果について調べた研究では、明らかな関連は認められないとの報告が多くを占める。しかし、放射線と化学療法を組み合わせた場合の効果とp53の異常について調べた研究は少ない。また、頭頸部癌においてbcl-2、bax蛋白発現と治療効果を調べた研究も少なく、予後との関連については相反する結果が報告されており、まだ明らかな結論が出ていないのが現状である。腫瘍細胞の増殖能は予後因子として重要との報告が散見されるが、頭頸部扁平上皮癌の同時併用療法についての報告は少ない。

今回、カルボプラチン(以下、CBDCA)と放射線の同時併用療法施行例において、治療前の腫瘍細胞のp53蛋白の異常発現ならびにbcl-2、bax蛋白の発現と治療効果・予後との関連について免疫組織学的に検討した。さらに、腫瘍細胞の増殖能についても治療効果、予後に関与しているかを検索した。

対象と方法

対象：1990年11月から1994年11月までの期間、CBDCAと放射線の同時併用療法を施行した頭頸部扁平上皮癌新鮮例147例のうち、治療前の病理組織標本が検索可能であった111例を対象とした。

免疫組織染色：10%緩衝フォルマリン固定パラフィン包埋標本より切片を作成後、抗原の賦活化を行った。抗p53抗体、抗bcl-2抗体、抗bax抗体、細胞増殖マーカーとしてMIB-1を用い、通常のABC法にて免疫組織染色を行った。

陽性細胞の比率の計測：p53とMIB-1については、顕微鏡下に腫瘍組織を400倍にて観察し、画像処理システムを用い、腫瘍細胞平均1003個について核が明瞭に染色された陽性細胞の比率（標識率）を計測した。

p53では標識率が10%より多い場合p53陽性とみなした。bcl-2、baxは、細胞質が明瞭に染色された腫瘍細胞が30%より多い場合、陽性と判断した。

結 果

1) 臨床病理学的所見と治療効果

T3+4群、頸部リンパ節転移陽性群、stageIII+IV群は有意に局所制御率が低かった。また、部位で下咽頭症例は喉頭症例に比べ局所制御率が低かった。粗生存率は、頸部リンパ節転移陽性群、stageIII+IV群で有意に低かった。部位では中咽頭、下咽頭、鼻副鼻腔が喉頭に比べ粗生存率が低かった。多変量解析では頸部リンパ節転移は、粗生存率、局所制御率ともに有意な予後因子とみなされた。

2) 免疫組織染色の結果と臨床病理学的因子

bcl-2陽性症例は111例中14例（13%）であった。bcl-2は鼻・副鼻腔癌において有意に陽性率が高く、また組織分化度がgrade3の群で有意に陽性率が高かった。

bax陽性例は73例（65.8%）であった。baxの陽性率と臨床病理学的因子の間に有意な関係は認められなかった。

p53標識率平均は37.2%であり、p53陽性症例は111例中61例（55%）であった。p53は組織分化度がgrade3の群が標識率が有意に高かった。

MIB-1標識率平均は50.1%であった。MIB-1はリンパ節転移陽性群、stageIII+IV群、組織分化度がgrade3の群で有意に標識率が高かった。

3) 免疫組織学的因子と予後

bcl-2陽性群は陰性例に比べ単変量、多変量解析ともに有意に局所制御率が良好であった。MIB-1標識率40%未満の群と40%以上の群で粗生存率を比較すると、標識率40%未満の群で予後良好であった。

考 察

本研究では、臨床病理学的因子の中では頸部リンパ節転移の有無が重要な予後因子であった。この結果は以前からある多くの報告と同様の結果であった。

アポトーシス関連因子の分析では、まずbcl-2陽性例は陰性例に比べ有意に局所制御率が良好であった。bcl-2は放射線あるいは化学療法によって誘導されるアポトーシスを抑制する働きが認められることより、実際の臨床症例においてbcl-2蛋白の発現と治療効果の関連が検索されている。基礎的研究や造血器の悪性腫瘍ではbcl-2発現と放射線あるいは化学療法に対する抵抗性が相関すると報告されているが、今回の結果はこれらに相反する。しかし、小細胞癌を除く肺癌ではbcl-2陽性例において予後が良好であるとの報告があり、固形癌においてはbcl-2発現が治療効果を高める方向に作用している可能性が示唆された。

Baxは、bcl-2などとの相互作用を介してアポトーシスの調節に関与し、アポトーシスに際し主に促進的に働く考えられている。頭頸部扁平上皮癌におけるbaxについての報告は本研究が初めてである。Bax発現と臨床病理学的因子、予後との間に有意な相関は認められなかった。また、bcl-2とbaxは相互に作用し合うことより、これらの発現と予後との関係を検討したが、有意な相関は得られなかった。

今回の研究では、治療前の腫瘍細胞のp53蛋白の異常発現と治療効果や予後との間には関連がみられなかった。p53の変異と免疫染色での過剰発現は一致しないとの報告が多く、p53を予後因子として評価するためには今後遺伝子レベルでの分析も必要であると思われる。

細胞の増殖能は、乳癌など種々の癌において重要な予後因子であると報告されている。しかし、G0期と早期G1期を除く増殖細胞周期に発現する核内抗原を認識する抗体であるKi-67をパラフィン切片で染色可能

とした抗体であるMIB-1の予後因子としての有用性については、頭頸部癌では議論がある。本研究ではMIB-1標識率40%未満の群と40%以上の群で粗生存率を比較すると、標識率40%未満の群で予後良好であり、予後因子としての有用性が確認された。

結語

放射線化学療法を行った頭頸部扁平上皮癌症例においてアポトーシス関連因子と細胞増殖能のマーカを免疫組織学的に検索し、予後との関連について検討した。

その結果、bcl-2陽性例は有意に局所制御率が良好であり、またMIB-1標識率40%未満の群は有意に粗生存率が高いことが明らかとなった。これらの因子は頸部リンパ節転移の有無と共に頭頸部扁平上皮癌を治療する上で有用なマーカーとなることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 坂 和 男

副 査 教 授 犬 山 征 夫

副 査 教 授 今 村 雅 寛

副 査 教 授 長 嶋 和 郎

学 位 論 文 題 名

Prognostic Significance of Clinical Parameters and Biologic Markers in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated with Concurrent Chemoradiotherapy

(頭頸部扁平上皮癌の放射線化学療法施行例の免疫組織学的、
臨床病理学的予後因子の検討)

頭頸部癌の治療において、抗癌剤と放射線の同時併用療法は高い治療効果を示し臓器温存が可能となる症例が増えたが、腫瘍が残存し手術が必要になる症例もみられる。治療開始前にその治療効果を予測することができれば、同時併用療法により臓器温存を目指すか、または手術を行うかを選択することが可能となる。

1990年11月から1994年11月までの期間、カルボプラチンと放射線の同時併用療法を施行した頭頸部扁平上皮癌新鮮例147例のうち、治療前の病理組織標本が検索可能であった111例を対象として、アポトーシス関連因子であるp53蛋白の異常発現ならびにbcl-2、bax蛋白の発現、さらに腫瘍細胞の増殖能について治療前の腫瘍組織で検索し、治療効果・予後との関連について免疫組織学的に検討した。

T3+4群、頸部リンパ節転移陽性群、stageIII+IV群は有意に局所制御率が低かった。また、部位で下咽頭症例は喉頭症例に比べ局所制御率が低かった。粗生存率は、頸部リンパ節転移陽性群、stageIII+IV群で有意に低かった。部位では中咽頭、下咽頭、鼻副鼻腔が喉頭に比べ粗生存率が低かった。多変量解析では頸部リンパ節転移は、粗生存率、局所制御率ともに有意な予後因子であった。

全症例111例のうち87例(78.4%)にCRが得られ、免疫組織染色の結果とCR率との間に有意な関係は認めなかったが、bcl-2陽性例14例中13例(92.9%)にCRが得られた。臨床的にCRと判定した87例のその後の再発率との関係を検討した。全体では87例中35例(40.3%)に再発をきたしているが、bcl-2陽性例は再発率が15.4%と非常に低い傾向が見られた。他の因子では特に有意な関係は認められなかった。

bcl-2陽性群は陰性群に比べ単変量、多変量解析ともに有意に局所制御率が良好であった。単変量解析でMIB-1標識率40%未満の群と40%以上の群で粗生存率を比較すると、標識率40%未満の群で予後良好であった。

本研究では、臨床病理学的因子の中では頸部リンパ節転移の有無が重要な予後因子であ

った。この結果は以前からある多くの報告と同様の結果であった。

アポトーシス関連因子の分析では、まずbcl-2陽性例は陰性例に比べ有意に局所制御率が良好であった。基礎的研究や造血器の悪性腫瘍ではbcl-2発現と放射線あるいは化学療法に対する抵抗性が相関すると報告されているが、今回の結果はこれらに相反する。小細胞癌を除く肺癌などの固形癌ではbcl-2陽性例において予後が良好であるとの報告があり、固形癌においてはbcl-2発現が治療効果を高める方向に作用している可能性が示唆された。

Baxは、頭頸部扁平上皮癌におけるbaxについての報告は本研究が初めてであるが、bax発現と臨床病理学的因子、予後との間に有意な相関は認められなかった。

今回の研究では、治療前の腫瘍細胞のp53蛋白の異常発現と治療効果や予後との間には関連がみられなかった。p53の変異と免疫組織染色での過剰発現は一致しないとの報告が多く、p53を予後因子として評価するためには異なる検出方法、遺伝子レベルでの詳細な分析での検討が必要であると思われる。

MIB-1はKi-67をパラフィン切片で染色可能とした抗体であるが、予後因子としての有用性については議論がある。本研究ではMIB-1標識率40%未満の群と40%以上の群で粗生存率を比較すると、標識率40%未満の群で予後良好であり、予後因子としての有用性が確認された。

公開発表では、長嶋和郎教授から頭頸部扁平上皮癌をとりまく最近の治療の変遷について質問があった。長嶋、今村雅寛教授は、bcl-2はアポトーシスを阻害するのでbcl-2陽性例は予後が悪いと予測されるが、今回の検討ではその逆であったことの理由について質問した。また、今村教授は細胞周期から見た放射線化学療法の効果の発現、予後因子との関連性について、犬山征夫教授は喫煙の影響について、また喉頭温存率について質問した。宮坂和男教授からは、リンパ節転移の評価方法についての質問があり、今回の結果の臨床への応用の展望を求めた。申請者はおおむね妥当な回答をした。

この論文は、頭頸部扁平上皮癌の放射線化学療法施行例の予後因子について、多くの症例の免疫組織学的検索と、詳しい臨床データに基づき検討し、リンパ節転移の有無、bcl-2が有用な予後因子であることを明らかにしたことで高く評価された。今回の結果を基にして臓器機能温存を目指した頭頸部癌の治療がさらに進歩することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。