

学位論文題名

RCAS 1 as a Tumor Progression Marker: An Independent
Negative Prognostic Factor in Gallbladder Cancer

(胆嚢癌における独立予後因子としての RCAS 1 発現の有用性)

学位論文内容の要旨

背景と目的

胆嚢癌は予後不良の疾患として知られ、その治癒切除率は 20-40%、5 年生存率は 5-40%と報告されている。また、良性疾患にて摘出された胆嚢に偶発的に胆嚢癌が平存した場合、追加切除が必要かといった議論も決着がなされていない。これらの問題に対して新たな治療戦略、補助療法を確立するにあたり、胆嚢癌の発癌過程に対する分子生物学的理解が必須である。一方 RCAS1 は癌の細胞膜に存在している蛋白で、FAS ligand と同様に正常免疫細胞上に発現している RCAS1 receptor に対し、ligand として作用する。その結果免疫細胞の apoptosis を誘導することで、癌細胞の免疫回避に関与していると考えられている。今回われわれは、胆嚢癌における RCAS1 の分子生物学的意義の評価を目的として以下の検討を行った。

方法

1992 年から 1999 年に手術された胆嚢癌症例 46 例、胆嚢炎症例 46 例、胆嚢腺筋症 14 例、胆嚢腺腫 7 例の計 110 例を対照とした。癌症例は 31 才から 86 才 (平均年齢 65.7 才) で男女比は 17:29 であった。切除された胆嚢癌組織における蛋白発現を調べるため、抗 RCAS1 抗体、HRP 標識二次抗体および DAB を用いて免疫染色した。染色された各標本に対し細胞 1000 個中 RCAS1 陽性細胞が占める割合を算出し、25% 以下を RCAS1 I, 25-50%を RCAS1 II, 50-75%を RCAS1 III, 75%以上を RCAS1 IV とした。さらに RCAS1 II, III, IV を陽性群、RCAS1 I を陰性群として、癌症例 46 例における病理学的因子との相関を比較検討した。次に癌症例中予後を正確に追跡できた 42 例において、RCAS1 陽性群、陰性群の生存率を Kaplan-Meier 法を用いて算出し、Log rank 法にて比較検討した。さらに単・多変量解析をもちいて、RCAS1 が予後におよぼす影響を検討した。pT2 症例 21 例に対しても同様の検討を行った。

結果

1) 発現頻度:非胆嚢癌症例では RCAS1 の発現率は各標本で 5%以下であり, 全例が陰性であった。胆嚢癌症例では RCAS1 I が 14 例 (30%), RCAS1 II が 7 例 (15%), RCAS1 III が 10 例 (22%), RCAS1 IV が 15 例 (33%) で, 陽性 32 例(70%), 陰性 14 例(30%)であった。Stage 別に RCAS1 の陽性率を見ると, stage I が 44.4% (9 例中 4 例), stage II が 53.3% (15 例中 8 例), stage III が 85.7% (7 例中 6 例), stage IV が 93.3% (15 例中 14 例)で, stage が進行するにつれ RCAS1 の陽性率が増加した。2) RCAS1 の発現と病理学的因子との関連: RCAS1 の発現と腫瘍深達度 ($p=0.0180$)、リンパ節転移 ($p=0.0033$)、リンパ管浸潤 ($p=0.0104$)、脈管浸潤 ($p=0.0224$)、神経浸潤 ($p=0.0351$)、Stage ($p=0.0026$)との間で有意な相関が見られた。3) 予後との関連: RCAS1 の発現別に 5 年生存率をみると陽性群 28%, 陰性群 91%であり, 陽性群で有意に予後不良であった($p=0.0001$)。さらに多変量解析にて RCAS1 の危険率は 12.690 ($p=0.0337$, 95%信頼区間 1.216-132.423)であり、独立予後因子であった。4) pT2 症例 21 例における予後との関連: 5 年生存率は陽性群 23%, 陰性群 82%であり, 陽性群で有意に予後不良であった($p=0.0074$)。さらに単変量解析においても RCAS1 の危険率は 12.560 ($p=0.0257$, 95%信頼区間 1.360-115.990)であり、有意な予後因子であることが判明した。

考察

RCAS1 の発現は前癌状態を含む非胆嚢癌症例では認められず, 癌症例で stage が進行するにつれて発現率が増加した。この事は RCAS1 の発現が, 胆嚢癌の carcinogenesis において胆嚢上皮を癌化させる step ではなく、癌化後の進展に参与していると考えられた。また RCAS1 陽性症例についてみると腫瘍進達度, リンパ節転移, リンパ管浸潤, 脈管浸潤, 神経浸潤, stage 進行症例が有意に多かった。RCAS1 の発現と腫瘍進達度の相関は, RCAS1 の発現によって免疫回避能を獲得した腫瘍が, より深層に進達しやすくなったためと考えられた。同様の結果は肺癌でも報告されている。

Kaplan-Meier 法による 5 年生存率は RCAS1 陽性例で有意に低く, 多変量解析でも腫瘍進達度, リンパ節転移と並んで独立予後因子であることが示された。興味深い事は, 単純胆嚢摘出のみでよいかしばしば議論される pT2 症例でも同様の結果が得られた事である。この事は, pT2 症例のうち予後が不良であることが明らかな RCAS1 陽性例に対しては, リンパ節郭清を含めた拡大切除が必要である事を示している。さらに RCAS1 陽性症例全体に対する術後の adjuvant therapy として, 抗 RCAS1 抗体を用いた radioimmunotherapy などの新しい免疫療法の可能性が示唆された。

結語

RCAS1 の発現は胆嚢癌の悪性度をよく反映しており, 予後を予測する有用な指標となりうるものと思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 秋 田 弘 俊
副 査 教 授 今 村 雅 寛
副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

RCAS 1 as a Tumor Progression Marker: An Independent Negative Prognostic Factor in Gallbladder Cancer

(胆嚢癌における独立予後因子としての RCAS 1 発現の有用性)

RCAS1 は癌の細胞膜に存在している蛋白で、FAS ligand と同様に正常免疫細胞上に発現している RCAS1 receptor に対し、ligand として作用する。その結果免疫細胞の apoptosis を誘導することで、癌細胞の免疫回避に関与していると考えられている。今回われわれは、胆嚢癌における RCAS1 の分子生物学的意義の評価を目的として以下の検討を行った。

1992 年から 1999 年に手術された胆嚢癌症例 46 例、胆嚢炎症例 46 例、胆嚢腺筋症 14 例、胆嚢腺腫 7 例の計 110 例を対象とした。癌症例は 31 才から 86 才（平均年齢 65.7 才）で男女比は 17:29 であった。切除された胆嚢癌組織における蛋白発現を調べるため、抗 RCAS1 抗体、HRP 標識二次抗体および DAB を用いて免疫染色した。染色された標本を陽性群 (+群)、陰性群 (-群) の 2 群に分類し、発現、予後、病理学的因子について比較検討した。生存期間は Kaplan-Meier 法を用い、Log rank 法にて検定した。

結果として、非胆嚢癌症例では RCAS1 の発現はみられなかった。胆嚢癌症例では陽性 32 例(70%)、陰性 14 例(30%)であった。RCAS1 の発現と腫瘍深達度($p=0.0180$)、リンパ節転移($p=0.0033$)、リンパ管浸潤($p=0.0104$)、脈管浸潤($p=0.0224$)、神経浸潤($p=0.0351$)、Stage($p=0.0026$)との間で有意な相関が見られた。RCAS1 の発現別に 5 年生存率をみると陽性群 28%、陰性群 91%であり、陽性群で有意に予後不良であった($p=0.0001$)。多変量解析にて RCAS1 の危険率は 12.690 ($p=0.0337$, 95%信頼区間 1.216-132.423)であり、独立予後因子であった。手術術式について議論される pT2 症例でも 5 年生存率で有意差がみられ、単変量解析では RCAS1 のみが予後因子であった。

以上の結果から RCAS1 の発現は、胆嚢癌の癌化・進展過程において胆嚢上皮を癌

化させる step ではなく、癌化したものの進展に関与していると考えられた。また、RCAS1 の発現によって免疫回避能を獲得した腫瘍はより深層に進達することにより、リンパ節転移、各脈管因子への浸潤をきたしやすいと考えられた。更に独立予後因子で、しかも癌のみで発現していることから、抗 RCAS1 抗体を用いた radioimmunotherapy 等による新しい adjuvant therapy の可能性が示唆された。また、pT2 症例で RCAS1 陽性のものでは拡大切除も念頭に置く必要があると考えられた。

口頭発表において、今村教授より RCAS1 の発現と相関する因子の臓器ごとによる違い、生物学的意義、RCAS1 非産生株に RCAS1 を導入した場合予想される浸潤・増殖能について質問があった。ついで加藤教授より腺腫と微小癌における発現の違い、pT2 症例についての手術適応の妥当性、臨床における予後予測の可能性、T 細胞との相関について質問があった。また秋田教授より類似した機能を持つ Fas との間でのクロストークの有無、RCAS1 がもつ免疫回避能以外の機能の可能性について質問があったが、申請者はおおむね妥当な回答をした。

胆嚢癌における RCAS1 の分子生物学的意義を明らかにし、胆嚢癌の予後の予想、遺伝子治療の可能性を示唆した本研究の意義は大きく、審査員一同協議の結果、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと判定した。