学 位 論 文 題 名

Overexpression of caveolin-1 in esophageal cell carcinoma
correlates with lymph node metastasis and pathologic stage

(食道癌における Caveolin-1 の過剰発現は
リンパ節転移と臨床病期に相関する。)

学位論文内容の要旨

目的

caveolin-1 は細胞膜のカベオラに存在する膜タンパクで、様々なシグナル伝達と小胞体輸送を司っている。Caveolin-1 はこれまで癌抑制遺伝子と考えられていた。In vitro では腫瘍抑制的に働いているという報告がほとんどであり、また種々の癌細胞株でも発現が低下しているとされている。しかし最近、前立腺癌の予後が caveolin-1 発現と負の相関をしているとの報告がなされた。本タンパクの食道扁平上皮癌における発現やその意義についての報告はいまだなく、本研究では、食道扁平上皮癌切除症例における Caveolin-1 の発現と臨床病理学的因子および予後との関連を検討し、その役割と意義を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

1. 材料

1988 年から 1999 年までに根治切除がなされた食道癌症例 130 症例 (男性 113 例, 女性 17 例; 平均年齢 63 歳) を対象とした。今回の検討では術前に化学療法あるいは放射線療法を施行した症例は除外した。すべての標本は 10%ホルマリンで固定後、パラフィン包埋した。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 分類を用いた。

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施行した。一次抗体として 400 倍に希釈した抗 caveolin-1 抗体 (anti-caveolin-1 rabbit IgG polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology., Santa Cruz, CA, USA) を使用した。陽性対照として同プレパラート内の筋肉及び血管内皮細胞を用い、陰性対照には非処理ウサギ血清を用いた。癌細胞のうち細胞膜および細胞質がびまん性に染色された細胞が 50%以上のものを陽性とした。

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。

結果

食道扁平上皮癌 130 例中 58 例 (44.6%) が陽性、72 例 (55.4%) が陰性であった。両群に

において背景因子に差は認められなかった。Caveolin-1 陽性群と陰性群との2群間において、臨床病理学的因子（年齢、性別、T因子、N因子、M因子、腫瘍径、病期、腫瘍分化度、重複癌の有無、脈管侵襲、切除断端陽性の有無、術後療法の有無）との関係を分割表分析した結果、Caveolin-1 免疫染色陽性は病期 ($p=0.029$)、N因子 ($p=0.023$)、M因子 ($p=0.018$) と有意な相関を認めた。予後に関して、Kaplan-Meier 法を用いて検討した結果、log-rank 検定で p 値が 0.0215 であり、caveolin-1 陽性症例で有意に予後不良であった。Cox の比例ハザードモデルを用いて予後に影響及ぼす因子を検討した結果、Caveolin-1 の過剰発現 ($p=0.0238$)、T 因子 ($p=0.0002$)、N 因子 ($p<0.0001$)、M 因子 ($p=0.0002$)、リンパ管侵襲 ($p=0.0021$)、切除断端陽性 ($p<0.0001$) が予後因子であった。多変量解析の結果は T 因子 ($p=0.0296$)、N 因子 ($p=0.0003$)、切除断端陽性 ($p=0.0452$) が予後因子であった。Caveolin-1 発現のリンパ節転移予測における感度は 54.5%、特異度は 65.6%であった。

考察

腫瘍は発生、増殖、進展する際に種々のタンパクを利用する。Ras 遺伝子の産物である p21 タンパクのようにその働きがほぼ解明されているものもあるが、caveolin-1 は腫瘍に対する作用機序がまだ明らかにはされていない。Caveolin-1 はこれまで癌抑制遺伝子と認識されており、*in vitro* の検討結果では腫瘍抑制因子として働き、肺癌、大腸癌、肉腫などの細胞株で発現が低下していると報告されている。一方最近になり前立腺癌での免疫組織染色による検討で、caveolin-1 の強発現はリンパ節転移、切除断端陽性と相関があり、また負の独立予後因子であったという報告がなされ、これまで癌において抑制的に働くと考えられてきた caveolin-1 の役割は、臓器によって異なることが半明した。

本研究において、食道扁平上皮癌における caveolin-1 の過剰発現はリンパ節転移と相関があり、負の予後因子であることが示されたが、このことは他の癌と逆である前立腺癌での報告とほぼ同様の結果であった。前立腺癌では caveolin-1 がアンドロゲン依存性の腫瘍増殖を促進すること、およびアンドロゲン受容体の働きを活性化すると報告がある。前立腺癌は男性の腫瘍であり、食道癌も男性により多く発生することから、その増殖、進展の過程において前立腺癌と同様の機序が、食道癌の極端な男性優位となる原因の一端を担っている可能性も考えられる。

現在、食道癌の悪性度の指標となりうる特異的なマーカーは未だ確立されていないのが実状である。本研究において、caveolin-1 免疫染色陽性はリンパ節転移のマーカーとして感度、特異度はともに約 60%程度であった。単独の転移予測因子とはなり得ないが、術前の内視鏡下生検で得られた組織の Caveolin-1 免疫染色が参考所見の一つとなり得る可能性が考えられた。また caveolin-1 陽性群は有意に予後不良であり術前の予後予測因子としての有用性が示唆された。

結語

食道扁平上皮癌において caveolin-1 の強発現が認められ、その増殖、進展に関わっていることが示唆された。caveolin-1 はリンパ節転移の予測因子となり得る可能性が考えられた。さらに、caveolin-1 は食道扁平上皮癌の予後不良因子であると考えられた。

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

Overexpression of caveolin-1 in esophageal cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage

(食道癌における Caveolin-1 の過剰発現は
リンパ節転移と臨床病期に相関する。)

caveolin-1 は細胞膜のカベオラに存在する膜タンパクで、様々なシグナル伝達と小胞体輸送を司っている。Caveolin-1 はこれまで癌抑制遺伝子と考えられていた。In vitro では腫瘍抑制的に働いているという報告がほとんどであり、また種々の癌細胞株でも発現が低下しているとされている。しかし最近、前立腺癌の予後が caveolin-1 発現と負の相関をしているとの報告がなされた。本タンパクの食道扁平上皮癌における発現やその意義についての報告はいまだなく、本研究では、食道扁平上皮癌切除症例における Caveolin-1 の発現と臨床病理学的因子および予後との関連を検討し、その役割と意義を明らかにすることを目的とした。

1988 年から 1999 年までに根治切除がなされた食道癌症例 130 症例 (男性 113 例, 女性 17 例; 平均年齢 63 歳) を対象とした。今回の検討では術前に化学療法あるいは放射線療法を施行した症例は除外した。すべての標本は 10%ホルマリンで固定後、パラフィン包埋した。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 分類を用いた。

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施行した。一次抗体として 400 倍に希釈した抗 caveolin-1 抗体 (anti-caveolin-1 rabbit IgG polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) を使用した。陽性対照として同プレパラート内の筋肉及び血管内皮細胞を用い、陰性対照には非処理ウサギ血清を用いた。癌細胞のうち細胞膜および細胞質がびまん性に染色された細胞が 50%以上のものを陽性とした。

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 未満を有意差ありと判定した。

食道扁平上皮癌 130 例中 58 例 (44.6%) が陽性、72 例 (55.4%) が陰性であった。両群において背景因子に差は認められなかった。Caveolin-1 陽性群と陰性群との 2 群間において、臨床病理学的因子 (年齢、性別、T 因子、N 因子、M 因子、腫瘍径、病期、腫瘍分化度、重複癌の有無、脈管侵襲、切除断端陽性の有無、術後療法の有無) との関係を分割表分析した結果、Caveolin-1 免疫染色陽性は病期 ($p=0.029$)、N 因子 ($p=0.023$)、M 因子 ($p=0.018$) と有意な相関を認めた。予後に関して、Kaplan-Meier 法を用いて検討した結果、log-rank 検定で p 値が 0.0215 であり、caveolin-1 陽性症例で有意に予後不良であった。Cox

の比例ハザードモデルを用いて予後に影響及ぼす因子を検討した結果、Caveolin-1 の過剰発現 ($p=0.0238$)、T 因子 ($p=0.0002$)、N 因子 ($p<0.0001$)、M 因子 ($p=0.0002$)、リンパ管侵襲 ($p=0.0021$)、切除断端陽性 ($p<0.0001$)が予後因子であった。多変量解析の結果はT 因子 ($p=0.0296$)、N 因子 ($p=0.0003$)、切除断端陽性 ($p=0.0452$)が予後因子であった。Caveolin-1 発現のリンパ節転移予測における感度は54.5%、特異度は65.6%であった。

腫瘍は発生、増殖、進展する際に種々のタンパクを利用する。Ras 遺伝子の産物である p21 タンパクのようにその働きがほぼ解明されているものもあるが、caveolin-1 は腫瘍に対する作用機序がいまだ明らかにはされていない。Caveolin-1 はこれまで癌抑制遺伝子と認識されており、in vitro の検討結果では腫瘍抑制因子として働き、肺癌、大腸癌、肉腫などの細胞株で発現が低下していると報告されている。一方最近になり前立腺癌での免疫組織染色による検討で、caveolin-1 の強発現はリンパ節転移、切除断端陽性と相関があり、また負の独立予後因子であったという報告がなされ、これまで癌において抑制的に働くと考えられてきた caveolin-1 の役割は、臓器によって異なることが判明した。

本研究において、食道扁平上皮癌における caveolin-1 の過剰発現はリンパ節転移と相関があり、負の予後因子であることが示されたが、このことは他の癌と逆である前立腺癌での報告とほぼ同様の結果であった。前立腺癌では caveolin-1 がアンドロゲン依存性の腫瘍増殖を促進すること、およびアンドロゲン受容体の働きを活性化すると報告がある。前立腺癌は男性の腫瘍であり、食道癌も男性により多く発生することから、その増殖、進展の過程において前立腺癌と同様の機序が、食道癌の極端な男性優位となる原因の一端を担っている可能性も考えられる。

現在、食道癌の悪性度の指標となりうる特異的なマーカーは未だ確立されていないのが実状である。本研究において、caveolin-1 免疫染色陽性はリンパ節転移のマーカーとして感度、特異度はともに約60%程度であった。単独の転移予測因子とはなり得ないが、術前の内視鏡下生検で得られた組織の Caveolin-1 免疫染色が参考所見の一つとなり得る可能性が考えられた。また caveolin-1 陽性群は有意に予後不良であり術前の予後予測因子としての有用性が示唆された。

口頭発表において今村雅寛教授よりリンパ節転移に関わる機序、重複癌と相関しなかった理由、女性のみでの発現状況、予後の差についての質問があった。つづいて加藤紘之教授より増殖との関わり、腫瘍評価の新しい手法となりうるか、術前検査として使えるかについての質問があった。また秋田弘俊教授より予想される悪性化に至る経路、正常上皮・前癌病変での発現状況に関する質問があったが、申請者はおおむね適切な回答をした。

食道扁平上皮癌における caveolin-1 の発現状況と臨床・病理組織学的因子および予後との相関を明らかにし、新しい予後因子としての有用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、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者は博士(医学)の学位授与に値するものと判定した。