

学位論文題名

Overexpression of hypoxia-inducible-factor 1 α (HIF-1 α)
in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with
lymph node metastasis and pathologic stage

(食道扁平上皮癌におけるhypoxia-inducible-factor 1 α (HIF-1 α) の
高発現は、リンパ節転移の有無および病理学的病期と相関する)

学位論文内容の要旨

目的

食道癌は予後不良な癌である。外科手術を施行された患者の5年生存率は3領域リンパ節廓清と化学療法や放射線療法の併用にも関わらずいまだ50%未満である。食道癌ではリンパ節転移の存在が最も重要な予後規定因子とされるが、最新の画像診断を用いても術前にリンパ節転移が存在するか否かを決定することは困難であることからリンパ節転移の存在、即ち予後を予測するマーカーの開発が望まれている。

hypoxia-inducible-factor 1 α (HIF-1 α)は腫瘍細胞が低酸素環境下に順応する際に、中心的な役割を果たすことが知られている120 kDaの核タンパクである。HIF-1 α のC末端はp300と結合し、p300/CBP-HIF-1 α 複合体がVEGFを含む低酸素応答遺伝子の転写を活性化させ、腫瘍の低酸素環境への順応を可能とする。本研究はHIF-1 α の発現が食道癌の予後にいかなる影響を及ぼすかを目的として行った。

材料と方法

本研究では、外科的切除で得られた食道扁平上皮癌130症例の摘出標本をモノクローナル抗HIF-1 α 抗体で免疫染色し、そのimmunoreactivityと病理組織学的因子との相関を検討することを目的とした。対象は1989年から1999年の10年間に根治的食道切除術と3領域リンパ節廓清を施行した食道原発扁平上皮癌患者130例である。在院死症例は除外した。病理組織学的進行度はUICCのTNM分類を用いて評価した。HIF-1 α タンパクのimmunoreactivityは文献上の基準を参照し、核或いは細胞質が染色されている癌細胞数をスコア化した。Negative;染色を認めないもの、1+;1%未満の細胞において核が染色されるもの、2+;1%以上10%未満の核が染色される、或いは薄く細胞質が染色されるもの、3+;10%以上50%未満の核が染色される、或いは明確に細胞質が染色されるもの、4+;50%以上の核が染色される、あるいは濃く細胞質が染色されるものとし測定した。HIF-1 α

3+以上を HIF-1 α 高発現群と定義した。HIF-1 α 発現と病理組織学的因子との相関は χ^2 test 或いは Fisher's test を用いて解析した。累積生存率は、Kaplan-Meier 法を用い、有意差は log-rank test で判定を行った。単変量及び多変量解析は Cox proportional hazard model を用いた。全ての解析で $P < 0.05$ を有意差ありとした

結果

患者の内訳は、男性 113 例、女性 17 例で、平均年齢は 63 歳であった。81 例(62%)が比較的早期の病期であった。66 例(51%)にリンパ節転移を認め、22 例(17%)に遠隔リンパ節転移を認めた。手術時に遠隔他臓器転移は認めなかった。52 例に補助療法を施行している。化学療法が 12 例、放射線療法が 18 例、化学療法と放射線療法の併用が 22 例である。平均 follow up 期間は 29 ヶ月であった。HIF-1 α negative は 42 例、1+ は 15 例、2+ は 33 例、3+ は 30 例、4+ は 10 例と 3+ 以上の HIF-1 α 高発現群は 40 例であった。高発現群は、病理組織学的病期が進行するにつれ頻度が増した。高発現群は、腫瘍深達度 ($P=0.0186$)、リンパ節転移 ($P=0.0035$)、遠隔転移 ($P=0.0320$)、pTNM stage ($P=0.0019$)、リンパ管侵襲 ($P=0.0492$)、切除断端陽性 ($P=0.0156$) と相関を示した。5 年生存率は、50.4% であった。HIF-1 α の高発現群は低発現群と比較して有意に予後不良であった ($P=0.0007$)。単変量解析では、深達度 ($P < 0.0001$)、遠隔転移 ($P=0.0002$)、リンパ節転移 ($P < 0.0001$)、リンパ管侵襲 ($P=0.0021$)、切除断端陽性 ($P < 0.0001$)、HIF-1 α の高発現 ($P=0.0011$) が予後と相関した。多変量解析では、深達度 ($P=0.0091$)、リンパ節転移 ($P=0.0003$)、切除断端陽性 ($P=0.0375$) が独立した予後規定因子であったが、HIF-1 α の高発現は独立した予後規定因子でなかった。補助療法を受けた患者のうち HIF-1 α 高発現群は HIF-1 α の低発現群と比較して予後不良であった ($P=0.0464$)。

考察

多くの固形腫瘍は部位により低酸素環境下にさらされているが、血管新生がなければ、血管からの酸素やグルコースを含めた栄養素の供給に制限があるため、腫瘍は数 mm^2 以上に増大することはできないとされている。一方、癌細胞増殖は血管新生よりも速いペースで進むため、組織は一段と低酸素環境下にさらされるが腫瘍はこれらの状況を乗り越えるために低酸素環境下に順応しようとする。

低酸素環境に順応する上で重要な因子となる HIF-1 α の高発現は、腫瘍深達度、リンパ節転移、遠隔転移、pTNM stage、リンパ管侵襲、切除断端陽性と相関を示した。また、HIF-1 α 高発現群は HIF-1 α の低発現群と比較して予後不良であった。一般に低酸素は抗癌剤の薬理効果を抑制し、また腫瘍に対する放射線治療の効果を阻害することが知られている。実際、子宮頸癌や頭頸部癌において、処置前に酸素レベルを測定することで放射線感受性と放射線治療による予後を予測しようと報告されており今回の検討でも、補助療法を施行した食道扁平上皮癌患者の HIF-1 α 高発現群は HIF-1 α 低発現群と比較して予後不良であった。

結語

HIF-1 α 高発現はリンパ節転移のマーカーとなり、また有力な予後予測因子になり得る可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 木 敬
副 査 教 授 秋 田 弘 俊
副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

Overexpression of hypoxia-inducible-factor 1 α (HIF-1 α) in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage

(食道扁平上皮癌におけるhypoxia-inducible-factor 1 α (HIF-1 α) の
高発現は、リンパ節転移の有無および病理学的病期と相関する)

食道癌は予後不良な癌である。外科手術を施行された患者の5年生存率は、3領域リンパ節廓清と化学療法や放射線療法の併用にも関わらず、未だ50%未満である。hypoxia-inducible-factor 1 α (HIF-1 α)は、腫瘍細胞が低酸素環境下に順応する際に、中心的な役割を果たすことが知られている。申請者は食道扁平上皮癌の予後、臨床病理学的因子とHIF-1 α の関係を明らかにする事を目的とし、免疫組織学的手法を用いて検討した。

対象は過去10年に、根治的食道切除術を施行した食道原発扁平上皮癌患者130例である。在院死症例は除外した。病理組織学的進行度はUICCのTNM分類を用いて評価した。抗HIF-1 α 抗体を用い、HIF-1 α の染色は、核或いは細胞質が染色されている癌細胞数を計測し分類した。Negative;染色を認めないもの、1+;1%未満の細胞において核が染色されるもの、2+;1%以上10%未満の核が染色される、或いは薄く細胞質が染色されるもの、3+;10%以上50%未満の核が染色される、或いは明確に細胞質が染色されるもの、4+;50%以上の核が染色される、或いは濃く細胞質が染色されるものとし測定した。HIF-1 α 3+以上をHIF-1 α 高発現群と定義した。HIF-1 α 発現と病理組織学的因子との相関は χ^2 test 或いはFisher's testを用いて解析した。累積生存率は、Kaplan-Meier法を用い、有意差はlog-rank testで判定を行った。単変量及び多変量解析はCox proportional hazard modelを用いた。全ての解析で、P

<0.05 を有意差ありとした

結果として HIF-1 α negative は 42 例, 1+ は 15 例, 2+ は 33 例, 3+ は 30 例, 4+ は 10 例であった。HIF-1 α 高発現群は 40 例であった。高発現群は、病理組織学的病期が進行するにつれ頻度が増した。高発現群は、腫瘍深達度 (P=0.0186), リンパ節転移 (P=0.0035), 遠隔転移 (P=0.0320), pTNM stage (P=0.0019), リンパ管侵襲 (P=0.0492), 切除断端陽性 (P=0.0156) と有意な相関を示した。5 年生存率は、50.4% であった。Kaplan-Meier 法による生存分析では HIF-1 α の高発現群は、低発現群と比較して有意に予後不良であった (P=0.0007)。単変量解析では、腫瘍深達度 (P<0.0001), 遠隔転移 (P=0.0002), リンパ節転移 (P<0.0001), リンパ管侵襲 (P=0.0021), HIF-1 α の高発現 (P=0.0011) が予後予測因子であった。多変量解析では、深達度 (P=0.0091), リンパ節転移 (P=0.0003) が独立した予後規定因子であったが、HIF-1 α の高発現は独立した予後規定因子でなかった。補助療法を受けた患者のうち、HIF-1 α 高発現群は HIF-1 α の低発現群と比較して予後不良であった (P=0.0464)。

以上の結果から、食道扁平上皮癌において、HIF-1 α 高発現はリンパ節転移の存在を反映し、リンパ節転移の指標となり、予後予測因子になり得る可能性が示唆された。

口頭発表において、秋田教授より食道扁平上皮癌における HIF-1 α 発現の免疫組織学的特徴、高発現群の臨床病理学的因子との相関の解釈、臨床応用の可能性についての質問があった。ついで加藤教授より、リンパ節転移陰性例における解釈の仕方、進行症例での HIF-1 α 高発現の意義、他の腫瘍マーカーとの比較についての質問があった。また吉木教授より食道扁平上皮癌以外の腫瘍での発現に関する質問があったが、申請者はおおむね妥当な回答をした。

食道扁平上皮癌における HIF-1 α の臨床病理学的意義を明らかにし、予後の予想、治療への応用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。