

学位論文題名

Caveolin-1 overexpression is a favourable prognostic factor for patients with extrahepatic bile duct carcinoma

(肝外胆管癌において Caveolin-1 の強発現は予後良好因子である)

学位論文内容の要旨

緒言

肝外胆管癌は比較的緩徐に進行する癌であるにも関わらず、その初期においては所見に乏しく診断の時点で周囲組織へ浸潤あるいは転移し、根治手術可能な症例は少ない。また根治手術可能な場合でも、術中術後の合併症の発生率は比較的高い。このため手術が患者にとって真に有益である群を選ぶことが重要である。近年腫瘍の分子生物学的性質を調べることによりこれらの群を見いだし、さらには治療に応用しようとする研究が広くなされているが、肝外胆管癌においては切除される症例が少ないため、その分子生物学的解析はほとんど行われていない。

caveolin-1 は細胞膜の raft に豊富に含まれている caveolae を構成する主成分で、22kDa の蛋白である。近年細胞内シグナル伝達分子と相互に作用したり、抑制したりすることが明らかになり、発癌あるいは癌の進行への関わりが注目されている。in vitro の研究では、caveolin-1 は腫瘍増殖性シグナル伝達分子の発現で抑制され、また caveolin-1 を細胞株内で強制発現させたものでは細胞の増殖を抑制するなど、癌抑制遺伝子であることを示唆する報告が多くなされている。一方、前立腺癌、食道癌についての検討では caveolin-1 の高発現が予後不良因子であると報告され、in vitro の報告との間に矛盾が生じている。

本論文では、肝外胆管癌組織における caveolin-1 の発現と患者の臨床病理学的因子との関連を中心に検討した。その結果、前立腺癌、食道癌における報告と異なり caveolin-1 高発現群は予後良好であり、in vitro の報告に矛盾せず癌抑制的に働くことが示された。

方法

1992 年から 1999 年までに根治切除させた肝外胆管癌 60 例(男性 46 例、女性 14 例)を対象にした。症例は 44 歳から 81 歳で、平均年齢は 66.2 歳であった。組織における caveolin-1 の発現は、パラフィン包埋切片に抗 caveolin-1 抗体を 1 次抗体とした免疫染色を行い評価した。染色された癌細胞が 50%以上のものを陽性群、50%未満のものを陰性群とし、臨床病理学的因子、および予後との相関を検討した。臨床病理学的因子との相関は χ^2 検定もしくは Fisher 検定、予後との相関は Kaplan-Meier 法における Log rank 検定、また単変量解析及び多変量解析を Cox 比例ハザードモデルにより検討した。

結果

caveolin-1 は 60 例中 23 例で陽性であった。臨床病理学的因子との相関では、caveolin-1 は年齢と TNM 分類における病理学的 T 因子において負の相関を認めた。Kaplan-Meier 法による生存曲線の分析では、陽性群と陰性群の 5 年生存率はそれぞれ 50.5%、12.4%であり、Log-rank 検定において陽性群は陰性群に対し有意に予後良好であった(P=0.0051)。Cox 比例ハザードモデルを用いた単変量解析では、caveolin-1 の発現は予後と正の相関を認めた。また臨床病理学的因子のうち TNM 分類における病理学的 N 因子、神経周囲浸潤、脈管浸潤と負の相関を認めた。これらによる多変量解析でも、caveolin-1 は予後と有意に正の相関を示し、病理学的 N 因子、脈管浸潤とともに独立予後規定因子であることが認められた。

考察

最近の研究では caveolin ファミリーは細胞膜の caveolae において特定のシグナル伝達分子(Src-like kinases, H-ras, eNOS, G 蛋白など)を編成し濃縮させる足場蛋白であることが示されている。caveolin-1 は様々なシグナルカスケードにおいて構成する分子を阻害する。また逆にいくつかの発癌性カスケードにおけるシグナル伝達は、caveolin-1 遺伝子の発現を転写レベルで抑制する。caveolin-1 の発現は、発癌性に形質転換された細胞株や多くの癌細胞株において低下あるいはほとんど認められないが、これらの細胞株に caveolin-1 を発現させると細胞の増殖は抑制される。さらに NIH-3T3 細胞株において caveolin-1 アンチセンスで caveolin-1 蛋白を減少させると、細胞株は形質転換され腫瘍性に増殖する。これらの報告は、caveolin-1 が腫瘍抑制的な働きを持つ蛋白であることを示唆している。

しかし臨床において得られた腫瘍組織における研究では、これらに矛盾する報告が散見される。前立腺癌と食道癌においては caveolin-1 の腫瘍での発現が予後不良因子であると結論され、caveolin-1 はむしろ腫瘍増殖的因子ではないかと考察されている。本論文での肝外胆管癌の報告は、これらの報告とは対立的で、caveolin-1 が腫瘍抑制的であるという、これまでになされた *in vitro* での報告に一致している。肝外胆管癌における caveolin-1 の発現と pT あるいはリンパ管浸潤との負の相関は、caveolin-1 により腫瘍増殖が抑制されていることを示唆している。また caveolin-1 高発現群は予後良好であり、caveolin-1 が腫瘍抑制的因子であることを支持している。これらの矛盾する報告をまとめると、caveolin-1 の機能は画一的なものではなく、癌の組織学的起源により異なるのではないかと考えられる。

caveolin-1 の働きが腫瘍起源により異なる要因として、食道癌においては性ホルモンが強く関与している可能性が示唆されている。また乳癌においては mutation を起こした caveolin-1 の働きは、従来の caveolin-1 の性質と異なり腫瘍増殖性であることが報告されている。mutation を起こした caveolin-1 も mutation を起こしていない caveolin-1 も従来の抗体では同様に染色される。前立腺癌や食道癌における caveolin-1 が mutation を起こしたものであり、caveolin-1 が腫瘍増殖的に働いているとすれば、これらの矛盾は解決されるが、今後の検討課題である。

本論文では、肝外胆管癌における caveolin-1 の発現と、臨床病理学的因子との相関について検討した。本研究の結果より、caveolin-1 は肝外胆管癌において、予後良好因子であることが示された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 木 敬
副 査 教 授 今 村 雅 寛
副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

Caveolin-1 overexpression is a favourable prognostic factor for patients with extrahepatic bile duct carcinoma

(肝外胆管癌において Caveolin-1 の強発現は予後良好因子である)

肝癌胆管癌は比較的緩徐に進行する癌にも関わらず、根治手術が可能な症例は少ない。近年腫瘍の分子生物学的性質を調べ、診断治療に応用しようとする研究が広くなされているが、肝癌胆管癌においては根治切除される症例が少なく分子生物学的解析の報告は多くない。本研究では肝外胆管癌の予後を規定する分子生物学的因子として Caveolin-1 に注目し、切除標本における Caveolin-1 蛋白の発現を検討し、予後との相関を明らかにすることを目的とした。

対象は 1992 年より 1999 年に手術された肝外胆管癌のうち治癒切除であった 60 例で、年齢は 44 歳から 81 歳、追跡期間の中央値は 28.8 カ月であった。切除標本のうち腫瘍の最大断面を用い、抗 Caveolin-1 ウサギポリクローナル抗体を 1 次抗体とし、SAB 法にて染色した。染色度の判定は、およそ 1000 個の染色された腫瘍細胞をカウントし、50%以上が染色されるものを陽性とした。予後因子との相関には χ^2 乗検定もしくは Fisher 検定、生存曲線には Kaplan-Meier 法を用い、2 群の比較には log-rank 検定を行った。生存分析における単変量解析、多変量解析には Cox 比例ハザードモデルを用い、Wald 検定を行った。

結果として、Caveolin-1 陽性例は 23 例、陰性例は 37 例であった。近傍の正常胆管細胞では Caveolin-1 の発現を認めなかった。臨床病理学的因子との相関では、Caveolin-1 の強発現と、年齢、病理学的腫瘍浸達度との間に負の相関を認めた。またリンパ管侵襲との間に負に相関する傾向を認めた。Kaplan-Meier 法による生存曲線の分析では、Caveolin-1 強発現群が弱発現群に対し、有意に予後良好であった。Cox 比例ハザードモデルを用いた生存分析では、単変量解析で Caveolin-1、病理学的リンパ節転移、静脈侵襲、神経周囲浸潤において有意差を認めた。これらを多変量解析

したところ、Caveolin-1 は良好な、病理学的リンパ節転移、静脈侵襲は不良な独立予後規定因子であった。

以上の結果から、肝外胆管癌における Caveolin-1 の機能は基礎研究に矛盾せず腫瘍増殖に対し抑制的である可能性が考えられた。また、Caveolin-1 の強発現は肝外胆管癌において良好な予後規定因子であることが明らかとなった。

口頭発表において、今村教授より Caveolin-1 の発現度と悪性度の相関の有無、再発形式との相関、他臓器で Caveolin-1 が予後不良因子であり本研究の結果と解離することに対する意義についての質問があった。次いで加藤教授より、肝外胆管癌の分子生物学的マーカー中の Caveolin-1 の位置づけ、本研究で神経浸潤が独立予後規定因子から外れることに対する質問があった。また吉木教授より、原発巣と転移巣における Caveolin-1 の発現の違いについての検討の有無、炎症による Caveolin-1 の発現への影響についての質問があった。聴衆よりは秋田教授より、腫瘍抑制的機能を持つ Caveolin-1 が正常において発現せず癌においては発現している結果に対する考察、炎症の影響についての質問があったがそれぞれについて申請者はおおむね妥当な回答をした。

肝外胆管癌において Caveolin-1 が良好な予後規定因子であることを明らかにし、Caveolin-1 の肝外胆管癌組織における働きが基礎研究結果に矛盾せず腫瘍抑制的である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。