

学 位 論 文 題 名

大腸腫瘍性病変の背景粘膜の検討

学位論文内容の要旨

緒言

炎症は悪性腫瘍発生の危険因子とされており、大腸腫瘍性病変が背景粘膜の炎症に関連性があると仮定すると、腫瘍性病変の多発症例や癌併発例では、腫瘍性病変の存在しない症例に比べ、その背景粘膜の炎症の程度は強いと推測される。しかし、内視鏡的に正常と診断される大腸粘膜には組織学的にどの程度の炎症が存在しているのかは知られておらず、また、正常例と腫瘍性病変の背景粘膜を組織学的に検討した報告もほとんどない。今回、正常例と腫瘍性病変を有する症例の背景粘膜について組織学的な炎症の所見を比較検討した。

一方、活性酸素が炎症、動脈硬化、発癌など多くの疾患の原因になることが知られており、今回大腸腫瘍の発生において活性酸素の関与を検討するために、酸化ストレスマーカーとしての 8-OHdG の発現を免疫組織化学染色により正常例と腫瘍性病変例の背景粘膜について検討した。加えて、代表的な癌抑制遺伝子である p53、細胞増殖能の指標である proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、炎症と深く関係する cyclooxygenase-2 (COX-2) についても同様に免疫組織化学染色を行い検討した。

対象と方法

2004年1月から2005年8月までの間、北海道大学病院光学医療診療部にて全大腸の内視鏡検査の施行例を対象とし、対照群、腫瘍群の2群に分類した。対照群は腹部症状がなく、大腸内視鏡検査でも異常所見を認めず、過去に大腸疾患の既往がない症例とした。腫瘍群は大腸内視鏡検査で少なくとも1個以上の腫瘍性病変を認めた症例でかつ病理組織検査で腺腫または癌と診断された症例とした。さらに、腫瘍群のうち全大腸に5個以上の腫瘍性病変を認めたものを多発ポリープ群、病理組織診断で癌を併発していたものを癌併発群とした。対象は、対照群18例で平均年齢 61.2 ± 15.5 歳、男性7例、女性11例であった。腫瘍群は37例、平均年齢 66.5 ± 10.0 歳であり、男性24例、女性13例で、この両群間の背景に有意差は認められなかった。そのうち多発ポリープ群は12例、癌併発群は8例認めた。免疫染色検査は、対照群9例、多発ポリープ群8例、癌併発群8例に施行した。

背景粘膜の組織像として、盲腸、上行結腸、横行結腸、S状結腸、直腸から大腸内視鏡検査にて生検を1個施行し、さらに多発ポリープ群ではポリープが一番多く発生している部位で最も大きいポリープの基部、癌併発群は癌病変の基部で内視鏡的に正常に見える粘膜よりそれぞれ1個の生検を施行した。得られた生検組織はHematoxylin-eosin法で染色し、goblet cell depletion、単核球浸潤、好中球浸潤、好酸球浸潤について、normal、mild、moderate、markedに分けそれぞれ0、1、2、3とscore化して検討を行った。免疫組織学的検討として8-OHdG、p53、PCNA、COX-2の標本作製し、各部位ごとに全体のどのくらいの割合で陽性細胞があるかを検討し、0から30%

を陰性、40 から 60%を弱陽性、70%以上を陽性とした。

結果

対照群の背景粘膜は、goblet cell depletion、単核球浸潤、好酸球浸潤において、盲腸で最も炎症 score が高く、左側結腸、直腸と肛門側にいくに従って、score は小さくなる傾向を示した。goblet cell depletion においては、直腸と盲腸、および上行結腸の間、単核球浸潤においては、直腸と盲腸の間、好酸球浸潤については直腸と盲腸、上行結腸および横行結腸の間に有意差を認めた。好中球浸潤については、1 領域にのみ認められるのみであった。

大腸腫瘍群において、盲腸と直腸で goblet cell depletion の炎症 score が対照群より高い傾向を認めたが統計学的有意差は認めず、その他の単核球浸潤、好酸球浸潤の炎症 score においても対照群のそれとを比較したが、各部位で有意差は認めなかった。対照群ではほとんど認められなかったが好中球浸潤は、腫瘍群において7 部位に認められたが、対照群と比較して有意差は認められなかった。

また、多発ポリープ群、癌併発群で同様に検討してみたが、対照群と比較して各部位で有意な所見は得られなかった。多発ポリープ群および癌併発群の腫瘍基部の組織像においても、対照群の同部位の score と比較しても、有意な所見は得られなかった。

免疫組織学的検討では、8-OHdG は腺管より上皮によく発現する傾向を認めた。上皮において各群を比較すると、多発ポリープ群において、発現率が高い傾向が認められたが、対照群と比較して有意差は認めなかった。p53 は、どの群にも陽性の症例は認めず、弱陽性が対照群で2 症例、5 区域と多発ポリープ群で2 症例4 区域で認め、癌併発例では認めなかった。PCNA は、全群で陰性の症例は認めなかった。弱陽性が対照群で1 症例1 区域、多発ポリープ群で1 症例2 区域、癌併発群で2 症例3 区域に認め、それ以外は全て陽性であった。COX-2 は、全症例で陽性所見は認めなかった。

考察

正常群の大腸背景粘膜において、goblet cell depletion、単核球浸潤、好酸球浸潤など、軽度から中等度の炎症が起こっていることが明らかとなった。また、その炎症の程度は深部大腸で最も強く、左側結腸、直腸にいくにつれて軽度になっていった。腫瘍性病変を有している群の背景粘膜における、組織学的炎症の所見は対照群と同様であり、その傾向はポリープが多発している場合、癌を併発している場合も同様であった。また、腫瘍性病変の基部の粘膜においても同区管の背景粘膜と差は認められなかった。

免疫化学染色において、酸化ストレスマーカーとしての 8-OHdG については、有意差は認めなかったが、多発ポリープ群の背景粘膜の上皮細胞に 8-OHdG の発現が多い傾向を認め、腫瘍性病変発生に大腸粘膜の酸化ストレスが関与している可能性が示唆され、今後さらなる検討が必要と考えられた。代表的な癌抑制遺伝子である p53 は、今回の検討において正常大腸粘膜ではほとんど発現は認めなかった。細胞増殖能の指標である PCNA は、ほぼ全例、背景粘膜の腺管細胞の核に良く染まり、いずれの群の背景粘膜にも良く染まったため、腫瘍性病変の背景粘膜の検討には適さなかった。COX-2 に関しては背景粘膜にはほとんど COX-2 の発現は認めず、腫瘍性病変の背景粘膜の同定には有用性が低いと思われた。

結語

大腸粘膜において内視鏡所見が正常であっても、組織学的には軽度から中等度の炎症所見が存在することが明らかになった。しかし、大腸腫瘍性病変の発生に背景粘膜の炎症がどのように関わっているかについては十分な結果が得られなかった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 浅 香 正 博

副 査 教 授 小 池 隆 夫

副 査 教 授 今 村 雅 寛

学 位 論 文 題 名

大腸腫瘍性病変の背景粘膜の検討

炎症は悪性腫瘍発生の危険因子とされており、大腸腫瘍性病変が背景粘膜の炎症に関連性があると仮定すると、腫瘍性病変の多発症例や癌併発例では、腫瘍性病変の存在しない症例に比べ、その背景粘膜の炎症の程度は強いと推測される。しかし、正常とされる大腸粘膜には組織学的にどの程度の炎症が存在しているのかは知られておらず、また、正常例と腫瘍性病変の背景粘膜を組織学的に検討した報告もほとんどない。今回、正常大腸における背景粘膜の炎症の程度と、腫瘍性病変発生に関して腫瘍性病変を有しない症例と有する症例の背景粘膜について組織学的に炎症所見に差があるかを比較検討するために、対照群と腫瘍群の背景粘膜より採取した生検材料を用い、作成した colitis score によって検討した。さらに腫瘍群については多発ポリープ群、癌併発群を設定し同様に検討した。加えて酸化ストレスマーカーである 8-OHdG、代表的な癌抑制遺伝子である p53、細胞増殖能の指標である PCNA、炎症と深く関連する COX-2 についても免疫組織学的に検討した。その結果、正常の大腸において軽度から中等度の炎症が存在し、その程度は深部大腸で強く左側結腸、直腸といくにつれて軽度になっていることが明らかとなった。また、腫瘍性病変発生に関して、背景粘膜の炎症には差がないことが明らかとなった。その傾向はポリープが多発している場合、癌を併発している場合も同様であった。免疫化学染色において、8-OHdG については、有意差は認めなかったが、多発ポリープ群の背景粘膜の上皮細胞に 8-OHdG の発現が多い傾向を認め、腫瘍性病変発生に大腸粘膜の酸化ストレスが関与している可能性が示唆された。p53、PCNA、COX-2 に関しては背景粘膜に差は認めず、腫瘍性病変の背景粘膜の同定には有用性が低いと思われた。

口頭発表に際し、副査の小池教授より正常の大腸において部位により炎症所見に差がある理由、年齢で分けた場合に炎症所見に差がでるのかについて質問があった。これに対して申請者は、腸内細菌の分布や便の停滞時間、大腸粘膜の免疫能、不揮発性有機酸による粘膜障害の可能性などが推測されるがはっきりとした原因に関しては不明であると答えた。年齢による炎症の差については、今回 40 歳以下の症例が少なくきちんとした検討はできていないが、今回の症例の範囲内では年齢による差は認めなかったと回答した。

次いで副査今村教授より大腸腫瘍性病変の発生は背景粘膜の炎症とは関連性がないという最初の仮説と異なった結果となった理由、癌併発群より多発ポリープ群において8-OHdGの発現が強く認める傾向を示した理由についての質問があった。これに対して申請者は、潰瘍性大腸炎などのいわゆる colitic cancer は dysplasia-carcinoma sequence 経路が考えられており、典型的な adenoma-carcinoma sequence による発癌では早期から k-ras 遺伝子に変異し、一般の大腸癌で50-80%変異を生じるのに対し、潰瘍性大腸炎合併癌では20%と低く、このような差異により一般の大腸癌が炎症粘膜を背景として癌を発生してくる潰瘍性大腸炎とは異なってくる可能性が推定されること、また、多発ポリープ群は adenoma-carcinoma sequence を表し、癌併発群は de novo を表していると考えられ、この違いが8-OHdG発現の差異になった可能性があると考えられると回答した。

さらに主査浅香教授より大腸における goblet cell depletion の意義、今後の検討課題について質問があった。これに対し申請者は、goblet cell depletion は細菌と大腸粘膜の相互反応によって起こるもので炎症を示す指標となること、今後検討する課題としては HRF など hypoxia で出現するものを検討する余地があるのではないかと回答した。

本研究は、正常な大腸粘膜の炎症についてその程度と分布を明らかにしたこと、通常の大腸癌発生に関して腸管の炎症の関与がないことを明らかにしたことが高く評価され、この研究を足掛かりとして今後大腸癌発生のメカニズムの究明が進んでいくことが期待された。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのみ十分な資格を有するものと判断した。