

学位論文題名

The phenotype of peritumoral lymphatic vessels
could be a prognostic factor in
human tongue squamous cell carcinoma

(ヒト舌扁平上皮がん腫瘍周囲リンパ管の形質は
腫瘍の予後を規定する因子となりうる)

学位論文内容の要旨

舌扁平上皮がんは頸部リンパ節へ転移することが多く、転移の有無は患者の予後因子の中で最も重要な要素を占めている。これまでの研究は腫瘍そのものの生物学的解析が主で、腫瘍周囲のリンパ管の形質と腫瘍の悪性度との関連についてについて検討したものは少ない。本研究は、舌扁平上皮がん周囲のリンパ管を主として形態学的に解析し、臨床的病理学的パラメーターとの関係について検索することを目的とした。

1993年から2003年の間に、北海道大学歯学部附属病院口腔外科を受診し、病理組織学的に舌扁平上皮癌と診断した43症例を対象とした。症例の内訳は、男性33例、女性10例で、初診時の年齢は28歳から91歳で平均年齢は64歳だった。臨床病期はUICCのTNM分類に従い分類した。T分類ではT1,14例、T2,24例、T3,4例、T4,1例であった。N分類では、初診時、N0,36例、N1-3は7例だったが、経過観察中にリンパ節後発転移が7例にみられた。初診時、遠隔転移は43例全例に認められなかったが、経過観察中に2例に遠隔転移が認められた。病理組織学的に腫瘍の増殖様式を浸潤性増殖、膨張性増殖の2群に分類したところ、浸潤型増殖症例は17例、膨張型増殖症例は26例であった。なお、今回の検索は、術前放射線療法・化学療法を行っていない症例を対象とした。

リンパ管の同定にはD2-40抗体を用いた。D2-40 は精巣胚細胞腫瘍に発現する分子量40kDaのO型シアロ糖タンパクである癌胎児性抗原のM2A抗原を認識し、正常組織中ではリンパ管内皮細胞を特異的に認識することが示されている。本研究では、D2-40抗体陽性のリンパ管を、その大きさから腫瘍微小リンパ管、腫瘍大リンパ管の2群に分類した。腫瘍微小リンパ管は極めて小さな管腔および管腔が不明瞭なものを含む管腔径が30 μ m以下のリンパ管とし、腫瘍大リンパ管は、集合リンパ管には満たないが、毛細リンパ管の中では極めて大きい、管腔径が50 μ m以上、100 μ m以下のものとした。腫瘍より500 μ m以内の任意の3部位中のリンパ管数を測定し、その平均を各症例の平均リンパ管数とした。平均リンパ管数が5個以上みられたものを腫瘍リンパ管多数症例、5個未満のものを少数症例とした。

腫瘍微小リンパ管の数と臨床病理学的なパラメーターとの関係について検討した。腫瘍微小リンパ管の数と年齢、性別、T分類との間に相関は認められなかったが、腫瘍が浸潤型の増殖様式を示す場合、腫瘍微小リンパ管の数が増加する傾向がみられ、さらに、腫瘍微小リンパ管数と腫瘍の転移をきたした症例との間には有意の相関がみられた。なお、腫瘍微小リンパ管は腫瘍に近接する部位に多く認められた。

腫瘍大リンパ管の数と臨床病理学的パラメーターとの関係では、年齢、性別、T分類との間に相関は認められなかったが、増殖様式および腫瘍の転移をきたした症例との間には有意の相関がみられた。

腫瘍の転移をきたした症例では、腫瘍微小リンパ管数および、腫瘍大リンパ管数が多くなり、リンパ管数と腫瘍転移の間には有意の相関がみられ、腫瘍リンパ管数の検索が腫瘍の予後予測因子としての臨床的有用性が示された。

43例中19例を対象に、腫瘍リンパ管内皮細胞の増殖活性の検討を

行なった。連続切片を作成し、D2-40 抗体および細胞周期マーカーである MIB-1 抗体を用いて免疫染色を行った。リンパ管内皮細胞核に MIB1 の発現がみられるものを増殖活性のある内皮細胞とみなし、管腔の不明瞭なリンパ管、もしくは1つのリンパ管内皮細胞からなるリンパ管を除外し、内皮細胞において MIB-1 陽性細胞が1つ以上みられたリンパ管を、増殖活性の高いリンパ管と評価した。正常粘膜下のリンパ管には MIB-1 陽性細胞は認められなかったが、腫瘍周囲のリンパ管には MIB-1 陽性を示すリンパ管が存在した。腫瘍の転移をきたした症例は、増殖活性をもつ腫瘍リンパ管の割合が平均 23.6%と高く、一方、腫瘍の転移のみられなかった症例では、増殖活性をもつ腫瘍リンパ管は 8%で、腫瘍リンパ管の増殖活性と腫瘍のリンパ節転移の間に密接な関係のあることが示唆された。

43症例のうち28症例を対象に、HE染色標本上で腫瘍リンパ管内皮細胞の核クロマチン濃度を画像解析装置により計測した。

正常上皮下にみられたリンパ管内皮細胞の核の濃度を1とした場合、腫瘍の転移のみられなかった症例ではその平均値が1.17、腫瘍の転移をきたした症例では1.38と腫瘍リンパ管内皮細胞核平均DNA濃度が高いことが示され、それぞれの間に有意の相関が認められた。

以上の結果から、腫瘍の転移をきたした症例では、リンパ管数の多さと有意の相関がみられることより、腫瘍リンパ管数の検索が、腫瘍の予後予測因子としての臨床的有効性を持つこと、および、腫瘍の転移をきたした症例では、腫瘍リンパ管内皮細胞が活発に増殖しており、腫瘍リンパ管の増殖と腫瘍のリンパ節転移に密接な関係のあることが示唆された。さらに、正常上皮下にみられるリンパ管内皮細胞の核濃度に比較し、腫瘍リンパ管内皮細胞では核濃度が有意に高く、腫瘍リンパ管が、腫瘍血管内皮でいわれているような染色体異常をもつ可能性が示唆された。

結語

- 1 腫瘍の転移をきたした症例では、腫瘍周囲のリンパ管数の有意の増加がみられた。
- 2 リンパ節後発転移をきたした症例では、微小リンパ管が有意に多く、リンパ節後発転移のスクリーニング検査として、臨床的に有用性が高いことが示された。
- 3 腫瘍のリンパ節転移と腫瘍周囲リンパ管内皮細胞増殖活性の間に有意の相関関係が認められた。
- 4 腫瘍周囲のリンパ管内皮細胞のDNA量は正常組織のリンパ管内皮細胞に比べ増加し、腫瘍周囲リンパ管が正常組織のリンパ管と異なる遺伝子背景を有する可能性が示唆された。

以上の所見は、腫瘍リンパ管の形質を検索することが、腫瘍の転移・予後を予測するマーカーとして有用性が高いことが示された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 進 藤 正 信

副 査 教 授 福 島 和 昭

副 査 教 授 戸 塚 靖 則

学 位 論 文 題 名

The phenotype of peritumoral lymphatic vessels could be a prognostic factor in human tongue squamous cell carcinoma

(ヒト舌扁平上皮がん腫瘍周囲リンパ管の形質は
腫瘍の予後を規定する因子となりうる)

審査は、審査員全員が出席の下に、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口頭試問により行われた。

最初に、申請者により学位論文に関する以下の説明がなされた。

舌扁平上皮がんは頸部リンパ節へ転移することが多く、転移の有無は患者の予後因子の中で最も重要な要素を占めている。これまでの研究は腫瘍そのものの生物学的解析が主で、腫瘍周囲のリンパ管の形質と腫瘍の悪性度との関連についてについて検討したものは少ない。本研究は、舌扁平上皮がん周囲のリンパ管を主として形態学的に解析し、臨床的病理学的パラメーターとの関係について検索することを目的とした。

1993年から2003年の間に、北海道大学歯学部附属病院口腔外科を受診し、病理組織学的に舌扁平上皮癌と診断した43症例を対象とした。症例の内訳は、男性33例、女性10例で、初診時の年齢は28歳から91歳で平均年齢は64歳だった。臨床病期はUICCのTNM分類に従い分類した。T分類ではT1,14例、T2 24例、T3,4例、T4,1例であった。N分類では、初診時、NO36例、N1-3は7例だったが、経過観察中にリンパ節後発転移が7例にみられた。初診時、遠隔転移は43例全例に認められなかったが、経過観察中に2例に遠隔転移が認められた。病理組織学的に

腫瘍の増殖様式を浸潤性増殖、膨張性増殖の2群に分類したところ、浸潤型増殖症例は17例、膨張型増殖症例は26例であった。

リンパ管の同定にはD2-40抗体を用いた。D2-40抗体陽性のリンパ管を、その大きさから腫瘍微小リンパ管、腫瘍大リンパ管の2群に分類した。腫瘍より500 μ m以内の任意の3部位中のリンパ管数を測定し、平均リンパ管数が5個以上みられたものを腫瘍リンパ管多数症例、5個未満のものを少数症例とした。腫瘍の転移をきたした症例では、腫瘍微小リンパ管数および、腫瘍大リンパ管数が多くなり、リンパ管数と腫瘍転移の間には有意の相関がみられ、腫瘍リンパ管数の検索が腫瘍の予後予測因子としての臨床的有用性が示された。

43例中19例を対象に、細胞周期マーカーであるMIB-1抗体を用いて腫瘍リンパ管内皮細胞の増殖活性の検討を行なった。転移をきたした症例は、増殖活性をもつ腫瘍リンパ管の割合が平均23.6%と高く、一方、転移のみられなかった症例では、増殖活性をもつ腫瘍リンパ管は8%で、腫瘍リンパ管の増殖活性とリンパ節転移の間に密接な関係のあることが示唆された。

43症例のうち28症例を対象に、HE染色標本上で腫瘍リンパ管内皮細胞の核クロマチン濃度を画像解析装置により計測した。正常上皮下にみられたリンパ管内皮細胞の核の濃度を1とした場合、低転移能症例ではその平均値が1.17、高転移能症例では1.38と腫瘍リンパ管内皮細胞核平均DNA濃度が高いことが示され、それぞれの間に有意の相関が認められた。

以上の結果から、腫瘍リンパ管数の検索が、腫瘍の予後予測因子としての臨床的有効性を持つこと、および、腫瘍リンパ管の増殖とリンパ節転移に密接な関係のあることが示唆された。さらに、腫瘍リンパ管内皮細胞では核濃度が有意に高く、腫瘍リンパ管が、腫瘍血管内皮でいわれているような染色体異常をもつ可能性が示唆された。

引き続き、審査担当者からの質問が行われた。主な質問項目は、

1. リンパ管を直径から2群に分けた理由
2. リンパ管内皮細胞のDNA濃度の意味するところ
3. 血管の分布との関連性
4. 舌以外の部位のリンパ管との性状の違いについて
5. 腫瘍周囲500 μ mの範囲をどのように決定したか などであった。

いずれの質問に対しても、申請者から明確な回答が得られ、関連分野に関しても深い知識を有しており、学位授与に相当するものと考えられた。