

学位論文題名

The Prognostic Significance of RCAS 1 Expression in Squamous Cell Carcinoma of the Oesophagus

(食道扁平上皮癌における RCAS 1 の予後因子としての重要性)

学位論文内容の要旨

目的

RCAS1 (receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells)はヒトの癌細胞に存在する膜タンパクで、免疫担当細胞に存在するレセプターに結合しアポトーシスを引き起こすと考えられている。現在までにいくつかの癌の予後がRCAS1の発現と相関していると報告されているが、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なく、本研究では、食道癌切除症例における臨床病理学的因子および予後との関連を検討し、RCAS1発現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95症例(男性81例, 女性14例, 平均年齢61.9歳)を対象とした。今回の検討では術前後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。パラフィン包埋切片ブロックから作成した組織切片をキシレンで脱パラフィンした後、3%過酸化水素溶液で内因性ペルオキシダーゼをブロッキングした。10%正常ヤギ血清で飽和させた後、一次抗体として500倍に希釈した抗RCAS1抗体 (anti-RCAS1 mouse IgM monoclonal antibody, Medical & Biological Laboratories Co., Ltd., Nagoya, Japan) を使用した。二次抗体はHistofine SAB-PO kit (Nichirei Corporation, Tokyo, Japan)を使用し、発色には3,3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride (Histofine SAB-PO kit, Nichirei Corporation, Tokyo, Japan)を用いた。Hematoxylinで核染色した後、封入し検鏡した。癌細胞のうちびまん性に染色された細胞が5%未満のものを陰性、5-25%を弱陽性、25-50%を中等度陽性、50%以上のものを強陽性とした。

3. 統計解析

χ^2 検定、Fisher直接検定、log-rank検定、Cox検定を適直行った。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 95 例中 32 例 (33.7%) が強陽性、34 例 (35.8%) が中等度陽性、25 例 (26.3%) が弱陽性、4 例 (4.2%) が弱陽性であった。RCAS1 強陽性群とそれ以下の群との 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) との関係分割表分析した。RCAS1 免疫染色性は年齢 ($p=0.0282$)、病期 ($p=0.0168$) と相関があり、T 因子と腫瘍径に相関傾向 (ともに $p=0.0689$) を認めた。予後に関する検討では、log-rank 検定で p 値が 0.0345 であり、RCAS1 強陽性の症例で有意に予後不良であった。さらに、多変量解析により RCAS1 は独立した予後因子であることが判明した ($p=0.0006$)。

考察

NK 細胞や腫瘍毒性をもつ T リンパ球 (Cytotoxic T lymphocytes, CTLs) は、抗腫瘍免疫反応において重要な役割を担っていると考えられており、腫瘍が存続、進展するためにはこれらによる免疫反応を回避する必要がある。RCAS1 は癌細胞に存在するタンパクで ligand として作用し、前述した免疫担当細胞がもつ receptor に結合して apoptosis を誘導すると考えられているが、そのメカニズムは今のところ十分には解明されていない。しかし、RCAS1 を強発現している癌組織では、低発現のものと比較して腫瘍に浸潤するリンパ球が高度に apoptosis を起こしているとの報告があり、RCAS1 による腫瘍の免疫回避機構における関与が裏付けられている。

本研究において、RCAS1 は T 因子および腫瘍径に相関傾向があることが示されたが、このことから食道扁平上皮癌における腫瘍の進展、増殖に関与している可能性があると考えられた。このことは、肺の非小細胞癌においても同様の結果が報告されている。また、RCAS1 は食道扁平上皮癌の病期と強く相関しており、子宮癌や卵巣癌におけるのと同様に予後を規定する有力な因子の一つであることが示唆された。すなわち、食道扁平上皮癌においても、RCAS1 が強発現している症例では腫瘍が免疫を回避することによって腫瘍の増殖や病期の進行に影響を与えていると考えられる。

現在、食道癌においては悪性度の指標となりうる特異的なマーカーが確立されていないのが実状である。本研究では、免疫組織染色の結果より RCAS1 は癌細胞でのみ発現が認められ、正常上皮細胞では発現していなかった。また最近では RCAS1 が分泌タンパクであることも報告されている。以上より、生検による検体や末梢血を用いた診断、さらには RCAS1 発現細胞にターゲットを絞った新しい治療法の発展に貢献する可能性が示唆された。

結語

食道扁平上皮癌において RCAS1 の発現が認められ、その増殖、進展に関する新しいマーカーとなりうる可能性が示唆された。さらに、RCAS1 は食道扁平上皮癌の独立した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 今 村 雅 寛

副 査 教 授 秋 田 弘 俊

副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

The Prognostic Significance of RCAS 1 Expression in Squamous Cell Carcinoma of the Oesophagus

(食道扁平上皮癌における RCAS 1 の予後因子としての重要性)

RCAS1 (receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells)はヒトの癌細胞に存在する膜タンパクで、免疫担当細胞に存在するレセプターに結合しアポトーシスを誘導すると考えられている。RCAS1 を強発現している癌組織では、低発現のものと比較して腫瘍に浸潤するリンパ球が高度に apoptosis を起こしているとの報告があり、RCAS1 による腫瘍の免疫回避機構における関与が裏付けられている。現在までにいくつかの癌の予後がRCAS1 の発現と相関していると報告されているが、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なく、本研究では、食道癌切除症例における臨床病理学的因子および予後との関連を検討し、RCAS1 発現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 95 症例 (男性 81 例, 女性 14 例; 平均年齢 61.9 歳) を対象とした。今回の検討では術前後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。腫瘍最大径を含む 4 μm のパラフィン包埋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 SAB-PO 法で施行した。組織切片をキシレンで脱パラフィンした後、3%過酸化水素溶液で内因性ペルオキシダーゼをブロッキングした。10%正常ヤギ血清で飽和させた後、一次抗体として 500 倍に希釈した抗 RCAS1 抗体 (anti-RCAS1 mouse IgM monoclonal antibody, Medical & Biological Laboratories Co., Ltd., Nagoya, Japan) を使用した。二次抗体は Histofine SAB-PO kit (Nichirei Corporation, Tokyo, Japan) を使用し、発色には 3,3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride (Histofine SAB-PO kit, Nichirei Corporation, Tokyo, Japan) を用いた。Hematoxylin で核染色した後、封入し検鏡した。癌細胞のうちびまん性に染色された細胞が 5%未満のものを陰性、5-25%を弱陽性、25-50%を中等度陽性、50%以上のものを強陽性とした。統計解析には 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。

結果として食道扁平上皮癌 95 例中 32 例 (33.7%) が強陽性、34 例 (35.8%) が中等度陽性、25 例 (26.3%) が弱陽性、4 例 (4.2%) が陰性であった。RCAS1 強陽性群とそれ以下の群との 2 群間において、臨床病理学的因子との関係を分割表分析した。RCAS1 免疫染色性は年齢 ($p=0.0282$)、病期 ($p=0.0168$) と相関があり、T 因子と腫瘍径に相関傾向 (ともに $p=0.0689$) を認めた。予後に関する検討では、log-rank 検定で p 値が 0.0345 であり、RCAS1 強陽性の症例で有意に予後不良であった。さらに、多変量解析により RCAS1 は独立した予後因子であることが判明した ($p=0.0006$)。

本研究において、RCAS1はT因子および腫瘍径に相関傾向があることが示されたが、このことから食道扁平上皮癌における腫瘍の進展、増殖に関与している可能性があると考えられた。また、RCAS1は食道扁平上皮癌の病期と強く相関しており、予後を規定する有力な因子の一つであることが示唆された。すなわち、食道扁平上皮癌においても、RCAS1が強発現している症例では腫瘍が免疫を回避することによって腫瘍の増殖や病期の進行に影響を与えていると考えられる。

現在、食道癌においては悪性度の指標となりうる特異的なマーカーが確立されていないのが実状である。本研究では、免疫組織染色の結果よりRCAS1は癌細胞でのみ発現が認められ、正常上皮細胞では発現していなかった。また最近ではRCAS1が分泌タンパクであることも報告されている。以上より、生検による検体や末梢血を用いた診断、さらにはRCAS1発現細胞にターゲットを絞った新しい治療法の発展に貢献する可能性が示唆された。

口頭発表において、秋田弘俊教授より正常上皮細胞でのRCAS1の発現の有無、RCAS1陽性率とStage分類におけるcut-off値の妥当性、診断および治療における展望についての質問があった。つづいて加藤紘之教授より免疫染色とマイクロアレイとの有用性における差異、遺伝子治療における有用性、術式選択における有用性についての質問があった。また今村雅寛教授より活性化したT細胞でのアポトーシスの亢進の有無、年齢とRCAS1との相関における理由、RCAS1レセプターの存在、RCAS1の癌細胞自身への作用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RCAS1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、新しい独立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、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと判定した。