

氏名・(本籍)	川口 晃 (滋賀県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第89号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日	平成3年3月23日
学位論文題目	上皮成長因子の発現からみた食道癌の進展と予後

審査委員	主査 教授	細川 四郎
	副査 教授	小玉 正智
	副査 教授	服部 隆則

論 文 内 容 要 旨

〔目 的〕

近年、上皮成長因子 (EGF: epidermal growth factor) は、EGF-receptor (EGFR) を介し、種々の細胞の増殖分化を促すことで知られるようになってきた。また EGFR が v-erb B 癌遺伝子産物と相同性を示すことが明らかとなり、癌の進展と EGF / EGFR 系の関連が注目されてきている。扁平上皮癌においては EGFR の発現と予後の間に相関を認めたという報告が散見されるが、EGF の腫瘍増殖促進効果には一定の見解をみていない。そこで、食道癌の進展と EGF / EGFR 系の関係を調べるため、食道癌原発巣の EGF の発現を免疫組織学的に検討した。さらに EGF の腫瘍内 DNA 量の変化に対する影響を調べるため、DNA ploidy pattern との関連についても検討を行った。

〔方 法〕

- 1) 対象: 滋賀医大第一外科において除切された食道癌 37 例を対象とした (1979 年～1898 年)。材料は、10%ホルマリン固定後パラフィン包埋したものをを用いた。
- 2) EGF の免疫組織学的染色: 4 μ m の薄切切片を、ABC 法により染色した。一次抗体として抗 EGF-monoclonal antibody (湧永製薬株式会社) をを用いた。
- 3) 食道癌細胞核内 DNA 量の測定: 100 μ m の厚切り切片を脱パラフィン後、実体顕微鏡下に癌病巣部を採取した。酵素処理およびホモジェナイジングにより得られた単離細胞により塗抹標本作製後、4', 6-diamidino-2-phenylindole dihydro-chloride (DAPI) 染色を施し、落射型蛍光顕微測光法にてその DNA 蛍光強度を測定した。各標本内に混在するリンパ球の DNA

量 (2C 値) が 20 となるように測定データ全体を換算し、食道癌核内 DNA 量分布をヒストグラム表示した。ヒストグラムは diploid、aneuploid、mosaic pattern の 3 つに分類した。

4) 病理組織学的検索は食道癌取扱い規約に従った。また統計処理は χ^2 検定によった。生存率の算出には Kaplan-Meire 法を、その有意差検定には generalized Wilcoxon test を用いた。

〔結果〕

1) 食道癌における h-EGF の発現と予後、および病理組織学的予後因子との関連

h-EGF の発現は全症例中の 45.9% に認められた。EGF は癌病巣部の細胞質、および正常上皮における傍基底細胞層や中間層の細胞質に認められた。深達度別には、表在癌ではその発現を認めず、深達度が増すにつれて有意に陽性例の増加する傾向を認めた。術後生存率を解析すると、EGF 陽性例において有意な生存率の低下を認めた。リンパ節転移との関係においては、高次リンパ節群に転移をきたしていた症例において、有意に EGF 陽性例が増加する傾向を認めた。また、この傾向はリンパ管侵襲 (ly) についても認められた。

2) 食道癌核内 DNA 量分布パターンと h-EGF 発現との関連

DNA ploidy pattern の内訳は、diploid pattern 20%、aneuploid pattern 45.7%、mosaic pattern 34.3% であった。Diploid pattern を示す症例の 71.4% が EGF 陰性であり、EGF の陽性率は diploid、aneuploid、mosaic tumor の順に増加したが、統計学的に有意差は認められなかった。

〔考察〕

正常上皮における EGF は傍基底細胞層および中間層に発現されており、比較的分化した細胞に発現されるものと考えられた。食道癌における EGF 陽性例は、陰性例に比べ有意な生存率の低下を示した。一方、EGF の発現は表在癌において認められず、深達度を規定している因子の一つではあるが、癌進展の過程で次第にその発現能を獲得してくるものであると考えられた。一方、EGFR は表層癌においても比較的高頻度に認められており、carcinogenesis になんらかの役割を果していると考えられ、EGF/EGFR 系の paracrine 的な相乗効果が注目される。さらに、EGF の発現している癌は、強いリンパ行性転移能を有している可能性をうかがわせていた。

我々は、DNA ploidy pattern が食道癌の悪性度の指標となりうることを報告してきた。一方、EGF は EGFR を介して究極的に DNA 合成を制御していることが知られている。今回の検討において、EGF の発現と DNA ploidy pattern との間には有為な相関は認められなかったが、EGF の発現は ploidy の変化として捕えられるほどの遺伝子増幅を伴わないものと思われ、また DNA ploidy の変化とは異なった食道癌の悪性度の指標となりうるものと考えられた。

〔結論〕

食道癌 37 例を対象として、食道癌の進展に及ぼす EGF の影響、および DNA ploidy pattern

との関連を検討した。

- 1) EGFは、比較的分化した細胞に発現されていた。
- 2) EGF発現症例は、陰性例に比べ有意な生存率の低下を示した。
- 3) EGFは、癌進展の過程で次第にその発現能を獲得してくるものと考えられた。
- 4) EGF陽性例は、高いリンパ行性転移能を有していると考えられた。
- 5) EGFの発現は、DNA ploidyの変化とは異なった食道癌の悪性度の指標となりうるものと考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

食道癌において erb-B の増幅が報告されてきた一方、erb-B とホモロジー有する上皮成長因子 (EGF) レセプターの発現が、食道癌の予後と相関を示すことが報告されるようになってきた。本論文は、EGF-receptor のリガンドである EGF が食道癌の増殖進展にいかに関与しているものであるかを明らかにするため、食道癌切除症例 37 例について、免疫組織学的手法を用いて検討すると共に、EGF の発現と食道癌細胞核内 DNA 量の変異との相関を、DNA ploidy pattern から検討したもので、以下の結果を得た。

- (1) EGF は、正常上皮の傍基底細胞層と中間層に弱く発現されており、一方、EGF-receptor (EGFR) は、基底細胞層と傍基底細胞層に発現を認めた。
- (2) EGF 陽性例は、食道癌切除症例中の 45.9% に認められた。
- (3) EGF あるいは EGFR の発現症例は、陰性症例に対し有意に低い生存率を示した。しかし、両者共陰性の群と、いずれか一方のみが発現されている群間の生存率には統計学的有意差を認めず、両者が共に発現されていた群においてのみ有意に生存率の低下を認めた。
- (4) 粘膜表層癌における EGF の発現は、認められなかった。しかし、深達度が増すにつれ EGF の発現率は有意に増加した。一方、EGFR と深達度の間には相関を認めなかった。
- (5) EGF の発現は、リンパ節転移率、およびリンパ管侵襲度と有意に相関を示した。
- (6) EGF 陽性率は、DNA ploidy pattern では、diploid pattern、aneuploid pattern、mosaic pattern の順に増加傾向を示したが、統計学的有意差は得られなかった。

以上の実験結果により、EGFR は食道癌発生の比較的早い段階から発現され、癌発生初期における細胞増殖にかかわっている可能性を示唆させるのに対し、EGF は食道癌の進展に伴って次第にその発現が、増強されていくものと考えられた。さらに、予後との相関より、EGF-receptor と EGF の相互発現が、食道癌の予後因子になりうることが示された。DNA ploidy pattern との関連においては統計学的な有意差は認められなかったものの、EGF の発現と DNA 量の変異とが相関している可能性が示された。

以上、本研究は食道癌の進展増殖に関して、EGF/EGFR 系の paracrine あるいは autocrine

的影響の存在を示唆したもので、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。