Thymidine phosphorylase expression in tumor-infiltrating macrophages may be correlated with poor prognosis in uterine endometrial cancer

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 石川, 賀子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1656

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第　３７９号	学位授与年月日	平成１５年１２月２６日
氏　　名	石　川　賀　子		
論文題目	Thymidine phosphorylase expression in tumor-infiltrating macrophages may be correlated with poor prognosis in uterine endometrial cancer (子宮体癌組織内の浸潤マクロファージ由来チミジンホスホリラーゼの発現は予後不良と相関する)		

博士（医学）　石川賀子

論文題目

Thymidine phosphorylase expression in tumor-infiltrating macrophages may be correlated with poor prognosis in uterine endometrial cancer

（子宮体癌組織内の浸潤マクロファージ由来チミジンホスホリラーゼの発現は予後不良と相関する）

論文の内容の要旨

[はじめに]

血管新生は、癌の浸潤や転移において重要なステップである。また、乳癌、直腸・大腸癌、卵巣癌などで、癌の転移、予後と微小血管密度(MVD)には相関があることが報告されている。チミジンホスホリラーゼ(TP)は血小板由来血管内皮細胞増殖因子と同一物質であり、各種癌においてMVDや侵襲性、予後と関連していることが報告され、その働きは、特に浸潤の初期段階において高いことが予想される。また、反対にTPの発現は予後と相関がないとする報告もある。こういった分析の中には、組織の抽出物からTPの測定を行った報告もあるが、これではTPの由来（癌細胞か間質細胞か）が不明である。血管新生は癌細胞だけでなく浸潤マクロファージによってもたらされる複雑なネットワークにより調節されている。そこで、子宮体癌におけるTP発現の局在や分布に注目し、臨床病理学的因子と予後との関連を検討した。

[患者ならびに方法]

1992年1月から1997年12月までに、浜松医科大学と自治医科大学産婦人科で手術が行われた、子宮体癌101症例（ＩＡ期18例、ＩＢ期24例、ＩＣ期28例、ⅡＡ期3例、ⅡＢ期12例、ⅢA期4例、ⅢC期12例）。術式は、腹式子宮全摘出術および付属器摘出術、または広汎子宮全摘出術が行われた。インフォームドコンセントの後、これら患者の手術標本のパラフィン切片を用い、TP、CD68および第8因子関連抗原の免疫組織化学染色（間接酵素抗体法）を行った。一次抗体は、mAb654-1、抗von Willebrand factor抗体、抗CD68抗体を用いた。TPの染色性は、腫瘍細胞と間質細胞それぞれ1000個以上数え、染色された細胞の割合が0の場合1、25%＞：2、25～75%：3、75%＜：4というカテゴリーに分け、さらに、カテゴリー1、2を低発現、3、4を高発現とした。CD68については、強拡大（400倍）での浸潤先端部位におけるホットスポットの数が、認められないものを0、認められない個所と認められる個所が混在するものを1、4ヶ所未満を2、4ヶ所以上を3というカテゴリーに分け、0、1を低発現、2、3を高発現とした。MVDは、新生血管の豊富な4ヶ所での血管数の平均を求め、それ以上の血管新生が見られた場合を高発現、平均未満の場合低発現とした。これらの染色性と臨床病理学的因子、各種予後因子および生存期間と比較した。

[結果]

①TPの染色性：101例のうち61例（60.4%）が腫瘍細胞に高発現し、59例（58.4%）が間質細胞に高発現し、両者とも高発現したものは41例（40.6%）存在した。免疫反応は、主に浸潤先端部位で増強する傾向にあった。間質細胞のほとんどがマクロファージ様の細胞で、間質のTP陽性細胞の91.5%が、CD68にも陽性であった。また、間質におけるTP

陽性細胞の中には、線維芽細胞も認められた。②MVD と TP の発現：101 例の微小血管数は 4.7～124.3 にわたり、平均 46.9 であった。von Willebrand factor の発現は腫瘍の浸潤先端部位に優位であった。平均を境に、血管過多例（MVD＞46.9）は 35 例、過少例（MVD ≦46.9）は 66 例であった。腫瘍細胞と間質マクロファージ・線維芽細胞（以下間質細胞と記す）ともに TP を高発現する例の MVD は有意に高く（65.6±28.0）、TP の発現と MVD は相関が示唆された。また、MVD は、腫瘍サイズ、組織学的分化度、筋層浸潤、リンパ節転移と相関が認められた。③TP の染色性と臨床病理学的因子：腫瘍細胞の TP 高発現と、筋層浸潤、リンパ節転移、血行性転移、MVD との間に相関が認められた。また間質細胞の TP 発現と、組織学的分化度、筋層浸潤、脈管侵襲、リンパ節転移、血行性転移、MVD との間に相関が認められた。④TP 発現および MVD と予後との関係：血管過多例の平均生存期間は、血管過少例より有意に短縮していた(P=0.013)。5 年生存率は、腫瘍細胞 TP 低発現・間質細胞 TP 低発現例 95.2%、腫瘍細胞 TP 高発現・間質細胞 TP 低発現例 85.0%、腫瘍細胞 TP 低発現・間質細胞 TP 高発現例 63.2%、腫瘍細胞 TP 高発現・間質細胞 TP 高発現 61.0%であった。また、間質細胞 TP 低発現例の 5 年生存率は 90.2%、高発現例は 58.3%、腫瘍細胞 TP 低発現例は 80.0%、高発現例は 50.8%であった。腫瘍細胞または間質細胞の TP 高発現は予後不良の傾向にあるが、両者を組み合わせて比較すると、腫瘍細胞の TP 発現の有無にかかわらず、間質細胞での発現がより予後不良であった。⑤多変量解析によって検討したところ、TNM 分類（ハザード比 7.96）、リンパ節転移（7.79）、血行性転移（7.07）、筋層浸潤（6.08）、組織学的分類（5.23）、MVD（5.19）、間質細胞 TP 発現（3.58）が独立した予後因子であった。

[考察]

多くの臨床的検討で、MVD がさまざまな腫瘍の再発や転移の可能性を予想することが示されている。我々の子宮体癌における検討において、腫瘍細胞や間質細胞の TP 発現が MVD の増加を促し、腫瘍サイズ、組織学的分化度、筋層浸潤、リンパ節転移と相関していることがわかり、MVD は予後不良の指標となり得ることが推測された。また、TP の染色性は腫瘍の浸潤先端部位で強く、間質ではマクロファージ、線維芽細胞に染色されることが判明した。正常組織に接しているマクロファージが必ずしも TP を高発現しているわけではなく、また、炎症性サイトカインが TP 発現を促進することもいわれており、腫瘍が誘導したサイトカインがマクロファージの TP 産生を促す、あるいは、腫瘍浸潤性のマクロファージによって作られたサイトカインが、TP 産生を促していることなどが推測される。TP は活性化マクロファージの指標となり得るかもしれない。

我々は、間質における TP 発現が独立した予後不良因子であると結論した。癌そのものの増大よりも、浸潤、転移に関与していることが推測される。今後、腫瘍浸潤マクロファージは抗悪性腫瘍に対する治療の新しいターゲットとなり得ることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

血管新生は、癌の浸潤や転移において重要なステップであり、癌細胞だけでなく、浸潤マクロファージによってもたらされる複雑なネットワーク（血管新生促進因子と抑制因子のバランス）により調節されている。チミジンホスホリラーゼ(TP)は血小板由来血管内皮細胞増殖因子と同一物質であり、各種の癌において微小血管密度（MVD）や侵襲性、予後と関連していることが報告されている。申請者らは子宮体癌における TP 発現の局在や分布に注目し、臨床病理学的因子や予後との関連を検討した。

[患者ならびに方法]

子宮体癌新鮮例 101 症例について、手術標本のパラフィン切片を用い、TP、CD68（マクロファージ）および第 8 因子関連抗原（血管内皮細胞）の免疫組織染色（間接酵素抗体法）を行った。一次抗体は、それぞれ抗 TP モノクローナル抗体（mAb654-1)、抗 CD68 抗体、抗 von Willebrand 因子抗体を用いた。TP の染色性は、腫瘍細胞と間質細胞それぞれ 1000 個以上数え、陽性細胞の割合により、1：陽性細胞がない、2：25%＞、3：25～75%、4：75%＜ の 4 群に分け、1、2 を低発現、3、4 を高発現とした。CD68 については、強拡大（400 倍）で浸潤先進部位のホットスポットを 5 カ所選び、その中で陽性細胞が 75%以上を示すホットスポットの数により、0：認められないもの、1：認められない個所と認められる個所(75%未満)が混在するもの、2：4 ヶ所未満、3：4 ヶ所以上に分類し、0、1 を低発現、2、3 を高発現とした。MVD は、新生血管の豊富な 4 ヶ所での血管数の平均を求め、それ以上の血管新生が見られた場合を高発現、平均未満の場合を低発現とした。これらの免疫染色の結果と臨床病理学的因子、予後因子および生存期間を比較した。申請者らは次の結果を得た。

1） TP 発現：腫瘍細胞では 60.4%（61/101）が、間質細胞では 58.4%（59/101）が高発現を示した。両者とも高発現したものは 40.6%（41/101）であった。免疫反応は、浸潤先進部位で増強する傾向にあった。間質の TP 陽性細胞の 91.5%が、CD68 陽性であった。

2） MVD と TP 発現：平均 MVD は 46.9（4.7～124.3）であった。von Willebrand 因子の発現は腫瘍の浸潤先進部位に優位であった。MVD 高発現は 34.7%(35/101)、MVD 低発現は 65.3%(66/101)であった。TP 高発現群の MVD は有意に高く（65.6±28.0）、TP 発現と MVD は相関していた。また、MVD は、腫瘍サイズ、組織学的分化度、筋層浸潤、リンパ節転移と相関が認められた。

3） TP 発現と臨床病理学的因子：腫瘍細胞の TP 発現と、筋層浸潤、リンパ節転移、血行性転移、MVD との間に、また間質細胞の TP 発現と、組織学的分化度、筋層浸潤、脈管侵襲、リンパ節転移、血行性転移、MVD との間に相関が認められた。

4）・TP 発現および MVD と予後との関係：MVD 高発現群の平均生存期間は、MVD 低発現群より有意に短縮していた(P=0.013)。5 年生存率は、腫瘍細胞 TP 低発現(−)/間質細胞 TP 低発現群(−)：95.2%、(+)/（−）群：85.0%、(−)/（+）群：63.2%、(+)/（+）群：61.0%であった。両者を組み合わせて比較すると、腫瘍細胞の TP 発現の有無にかかわらず、間質細胞での TP 高発現群が予後不良であった。

5） 多変量解析では、stage 分類（ハザード比 7.96）、リンパ節転移（7.79）、血行性転移（7.07）、筋層浸潤（6.08）、組織学的分類（5.23）、MVD（5.19）、間質細胞 TP 発現（3.58）が独立した予後因子であることを示した。

以上の結果から注目すべきことは、腫瘍細胞の TP ではなくマクロファージの TP が子宮体癌の予後因子となることを示した点である。腫瘍あるいは腫瘍浸潤性のマクロファージによって作られたサイトカインによってマクロファージが活性化され、TP を高発現し、血管新生を亢進して子宮体癌の進展をおこすと考察した。本研究は腫瘍の血管新生の機序の一つを示しただけでなく、腫瘍組織の間質の TP を調べることによって、予後の推定や治療法の選択に寄与する有益な研究であると考えられた。

審査委員会は本論文について、次のような試問を行った。

1) 正常組織における TP 発現と性周期との関係について
2) 病理組織の解釈と評価について
3) 免疫染色結果の評価方法について
4) CD68 陽性細胞だけの予後への影響について
5) CD68 陽性マクロファージの働きについて
6) CD68 以外のマクロファージのマーカーについて
7) von Willebrand 因子の免疫染色及び血管内皮マーカーの妥当性について
8) 血管とリンパ管との識別について
9) TP 発現を亢進させる癌組織からの因子について
10) TP 発現の調節について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者　主査　峯田周幸
副査　中村達　副査　三浦克敏