



Loss of claudin-1 expression correlates with malignancy of hepatocellular carcinoma

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 東, 幸宏 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/391

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 452号	学位授与年月日	平成20年 3月 7日
氏名	東 幸 広		
論文題目	Loss of claudin-1 expression correlates with malignancy of hepatocellular carcinoma (クラウディン1の発現消失は肝細胞癌の悪性度と相関する)		

博士(医学) 東 幸 宏

論文題目

Loss of claudin-1 expression correlates with malignancy of hepatocellular carcinoma

(クラウジン1の発現消失は肝細胞癌の悪性度と相関する)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

悪性新生物の転移、浸潤は原発巣細胞集団からの悪性細胞の自発的遊離によって始まる。この現象には、隣接する細胞間に形成される細胞接着装置Adherens junction (AJ) やTight junction (TJ) の機能低下が関与すると考えられる。肝細胞癌患者の予後は、他の消化器悪性腫瘍と同様に癌の脈管浸潤や肝内外の転移によって左右される。よって、悪性度の高い肝細胞癌では細胞接着装置の機能が低下していることは十分予想される。

従来の研究では、AJの構成蛋白であるEpithelial cadherin (E-cad) の発現減弱が消化管悪性腫瘍や肝細胞癌の悪性度と相関することが報告されてきた。しかし、細胞極性の維持や細胞間隙での物質通過調節機能はTJが担うことより、最近では各種悪性腫瘍におけるTJの構成蛋白質claudin (CL) の発現が調べられている。CLは20を超えるサブタイプが存在し、それらは組織特異的に発現調節されている。

近年、多くの悪性腫瘍組織内のCL発現異常が報告されるようになった。しかし、肝細胞癌におけるCL発現を検討した報告は少ない。今回は、CLサブタイプのなかで種々の組織に普遍的に発現し、機能解析の進んでいるCL-1を研究対象とした。本研究の目的は、肝細胞癌組織におけるE-cadやCL-1の発現様式を検討し、それら発現状況と肝細胞癌の臨床病理学的因子および肝切除後成績との関係を明らかにすることである。

〔方法〕

1993年から2002年の間に初回治療として肝切除術を施行した肝細胞癌55症例を対象とした。

ホルマリン固定、パラフィン包埋された切除検体を用い、癌部および隣接非癌部におけるCL-1およびE-cadの発現細胞を免疫組織化学染色法にて同定した。癌部、非癌部における目的蛋白陽性癌細胞、肝細胞数を算定し、陽性細胞の割合が0%のものを0、1-33%のものを1、34-66%のものを2、67-100%のものを3と点数化し、癌部と非癌部の点数が同等かそれ以上のものを発現保持と定義し、非癌部より癌部の点数が非癌部より低いものは発現減弱と定義した。肝細胞癌組織におけるCL-1およびE-cadの発現様式と肝細胞癌臨床病理学的因子および肝切除後成績を比較検討した。各種組織型の混在する癌では、優勢組織をもってその分化度とし、CL-1、E-cadの発現様式も同部で検討した。

〔結果〕

HE染色を用いた背景肝の病理学的評価では、肝硬変40例、慢性活動性肝炎13例、正常肝2例であった。肝細胞癌組織の分化度は、高分化14例、中分化18例、低分化18例、未分化5例であった。非癌部では、CL-1およびE-cadは肝細胞や胆管上皮細胞の細胞膜に発現していた。これらの発現は肝硬変や肝炎を有する非癌組織においても同様であった。

高分化型肝細胞癌組織内の殆どの癌細胞はCL-1およびE-cadを細胞膜に発現しており、14例中12例

(85.7%)で発現保持されていた。しかし低分化型肝細胞癌ではE-cad発現が18例中9例(50.0%)で保持されていたのに対し、CL-1においては4例(22.2%)しか保持されず、高分化肝細胞癌と比較して有意にCL-1の発現減弱を認めた(P=0.0004)。

また、門脈浸潤陰性肝細胞癌では36例中22例(61.1%)でCL-1発現が保持されていたが、門脈浸潤陽性肝細胞癌では、19例中14例(73.3%)でCL-1発現が減弱しており、門脈浸潤陽性例では有意にCL-1発現が減弱していた(P=0.0141)。また、門脈腫瘍栓は、原発組織と同様にCL-1発現が減弱していた。

肝切除後累積生存率と各種臨床病理学的因子の比較検討では、門脈浸潤陽性およびCL-1発現減弱の2因子が多変量解析上の独立した予後不良因子であった。

[考察]

肝細胞癌切除標本を用いた今回の検討では、低分化型、門脈浸潤陽性の症例においてCL-1発現が減弱し、CL-1発現減弱が肝切除後の予後不良因子であることが明らかとなった。CL-1発現減弱機構は不明であるが、CL-1発現低下が細胞極性の喪失、自発的運動能の獲得により周囲への浸潤、転移をもたらすと考えられる。

[結論]

肝細胞癌においてCL-1の発現減弱は、低分化、門脈浸潤と相関し、CL-1発現減弱症例は肝切除後の予後が不良であった。このことより、CL-1の発現解析により肝細胞癌患者の予後が予測できることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

悪性新生物の転移、浸潤機構において細胞間接着装置adherens junctionやtight junctionの機能低下の関与が示唆されている。従来、adherens junctionの構成蛋白であるEpithelial cadherin (E-cad) の発現減弱が消化管悪性腫瘍や肝細胞癌の悪性度と相関することが報告されてきた。近年、細胞極性の維持や細胞間隙の物質通過調節機能を担うtight junctionの関与が注目され、その構成蛋白質のひとつであるclaudin (CL)の各種悪性腫瘍における発現が検討されている。申請者は、組織特異的に発現調節されているサブタイプのなかで種々の組織に普遍的に発現し、機能解析の進んでいるCL-1に注目し、E-cadとともに肝細胞癌組織における発現様式を検討し、臨床病理学的因子ならびに予後との関係を検討した。

1993年から2002年の間に初回治療として肝切除術を施行した肝細胞癌55症例を対象とした。背景肝の病理学的評価は、肝硬変40例、慢性活動性肝炎13例、正常肝2例であり、肝細胞癌組織の分化度は、高分化14例、中分化18例、低分化18例、未分化5例であった。ホルマリン固定、パラフィン包埋された切除検体の癌部および隣接非癌部におけるCL-1およびE-cadの発現を免疫組織化学染色法にて解析し、癌部ならびに非癌部における各々の目的蛋白の染色陽性細胞数を算定した。全細胞数に対する割合を点数化し、癌部と非癌部の点数が同等かそれ以上のものを発現保持と定義し、癌部の点数が非癌部より低いものは発現減弱と定義した。

CL-1およびE-cadは、非癌部においては肝細胞や胆管上皮細胞の細胞膜に発現していた。これらの発現は肝硬変や肝炎を有する非癌組織においても同様であった。高分化型肝細胞癌組織内では殆どの癌細胞がCL-1およびE-cadを細胞膜に発現しており、14例中12例(85.7%)で発現保持されていた。低分化型肝細胞

胞癌ではE-cadが18例中9例（50.0%）で発現保持されていたのに対し、CL-1においては4例（22.2%）しか発現保持されず、高分化肝細胞癌と比較して有意にCL-1の発現減弱を認めた（ $P=0.0004$ ）。また、門脈浸潤陰性肝細胞癌では36例中22例（61.1%）でCL-1発現が保持されていたが、門脈浸潤陽性肝細胞癌では、19例中14例（73.3%）で発現が減弱しており、門脈浸潤陽性例では有意なCL-1の発現減弱を認めた（ $P=0.0141$ ）。肝切除後累積生存率と各種臨床病理学的因子の比較検討では、門脈浸潤陽性とともによりCL-1発現減弱が多変量解析上の独立した予後不良因子であった。

肝細胞癌においてCL-1の発現減弱は、腫瘍低分化度及び門脈浸潤と相関し、CL-1発現減弱症例は肝切除後の予後が不良であったことより、申請者はCL-1発現低下が細胞極性の喪失、自発的運動能の獲得により周囲への浸潤、転移をもたらすとしている。またCL-1の発現解析により肝細胞癌患者の予後が予測できるとした。

審査委員会は、申請者が今回の研究により、CL-1の発現が肝細胞癌の悪性度に深く関わる事実を初めて明らかにしたこと、更に、その発現量の解析により肝細胞癌患者の予後が予測できる可能性を示したことを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) CL-1の染色性は発現蛋白量をどの程度反映するか
- 2) 肝細胞における細胞の極性について
- 3) tight junction構造の構成成分は何か
- 4) 肝細胞におけるtight junctionの役割
- 5) CL-1の発現量は細胞形態に影響するか
- 6) E-cadの発現量は細胞形態に影響するか
- 7) CL-1の遺伝子発現制御機構は何か
- 8) E-cadの遺伝子発現制御機構は何か
- 9) CL-1とE-cadの染色性に関連はあるか
- 10) CL-1発現低下によりどのような機能変化がありうるか
- 11) 細胞間接着装置を介したシグナル伝達機構は何か

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 浦野哲盟
副査 小出幸夫 副査 杉原一廣