

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
近藤圭策	主査 教授 宮崎 瑞夫 主査 教授 谷川 允彦 副査 教授 勝 健一 副査 教授 芝山 雄老 副査 教授 林 秀行
主論文題名 Expression of chymase-positive cells in gastric cancer and its correlation with the angiogenesis (胃癌におけるキマーゼ陽性細胞の発現と血管新生との相関性)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>肥満細胞が、胃癌をはじめ多様なヒト癌の周辺に発現することはこれまでに報告されている。肥満細胞には、セリンプロテアーゼであるキマーゼを貯留し放出する働きがある。キマーゼはヒトにおいては Angiotensin I (A I) から Angiotensin II (A II) を産生する angiotensin converting enzyme (ACE) 様の酵素として循環領域では注目されており、A II の産生を介して組織のリモデリング、血管新生促進等に関与するとされている。また、matrix metalloproteinase-9(MMP-9)の活性化作用も新しく知られている。A II や MMP-9 が、腫瘍の浸潤や血管新生に深く関係することは周知であり、キマーゼが血管新生を介して胃癌の進展に関与する可能性はきわめて大きい。しかし肥満細胞由来のキマーゼに着目して胃癌における血管新生を検討した報告は未だない。加えて新鮮標本のみならずホルマリン固定標本にもキマーゼの染色が可能となったので、今回この新しい免疫組織染色法を用いて、進行胃癌を対象に胃癌周辺に浸潤するキマーゼ陽性細胞および血管新生との関連を検討した。</p> <p>《対象および方法》</p> <p>1990年から1996年に大阪医科大学付属病院 一般・消化器外科で外科的切除した進行胃癌 168 症例の標本を対象とした。なお全ての症例は術前の化学療法は受けていない。ホルマリン固定パラフィン包埋切片に対し、human chymase (2D11G10D)のマウスモノクローナル抗体によりキマーゼ陽性細胞の同定を、Endothelial Cell Marker (CD34)を用いて微小血管の同定をそれぞれ免疫組織化学染色にて行った。陽性細胞の算定はいわゆるホットスポット法を用いた。腫瘍周囲で最もキマーゼ陽性細胞が発現している部位を光学顕微鏡下 100 倍、5 視野で算出し、その平均値を癌部キマーゼ陽性細胞数とした。また正常組織においても同様に算出し、正常部キマーゼ陽性細胞数とした。微小血管についても、腫瘍周囲で最も陽性細胞が発現している部位を光学顕微鏡下 100 倍、5 視野で算出し、その平均値を癌部微小血管密度とし、正常組織においても同様に算出し、正常部微小血管密度とした。また根治的手術症例 133 例に対して、カットオフ値を平均値に設定しキマーゼ陽性細胞数と微小血管密度の各々を高値と低値の 2 群に分け、Kaplan-Meier 法で予後を検討した。</p>	

《結果》

- 1) 腫瘍周囲のキマーゼ陽性細胞数は平均 81 ± 45 個、正常組織のキマーゼ陽性細胞数は平均 23 ± 11 個であり、キマーゼ陽性細胞数の発現は正常組織に比べて腫瘍周囲組織に有意に多かった($p < 0.01$)。
- 2) 腫瘍周囲の微小血管密度は平均 148 ± 92 、正常組織の微小血管密度は平均 35 ± 21 であり、微小血管密度も正常組織に比べて腫瘍周囲に有意に高かった($p < 0.01$)。
- 3) 未分化型胃癌では、分化型胃癌に比べてキマーゼ陽性細胞数、微小血管密度ともに有意に高かった($p < 0.01$)。
- 4) 深達度、病期の進行に伴い、キマーゼ陽性細胞数や微小血管密度は有意に高くなった($p < 0.01$)。
- 5) キマーゼ陽性細胞数と微小血管密度との間には、正の相関を認めた($r = 0.604, p < 0.01$)。
- 6) キマーゼ陽性細胞数低値群は、高値群に比べて有意に予後が良好であった(低値群:5年生存率 67%, 高値群:5年生存率 48%, $p < 0.05$)。
- 7) 微小血管密度低値群も、高値群に比べて有意に予後が良好であった(低値群:5年生存率 74%, 高値群:5年生存率 37%, $p < 0.01$)。

《考察および結論》

本研究において、キマーゼ陽性肥満細胞の多寡と胃癌における血管新生とが密接に関与していることを初めて示した。これまで、肥満細胞と胃癌の進展に関する報告は散見されたが、キマーゼに着目したものはなかった。キマーゼは ACE と同様に A II 産生酵素として、特にヒト組織で重要であり、A II を介した作用として、vascular endothelial growth

factor(VEGF)を発現させる。更に直接的に pro-MMP-9 を活性型である MMP-9 に変換させる。これら二つの因子は、腫瘍における血管新生に密接にかかわっている。肥満細胞は、キマーゼ以外にもトリプターゼを合成遊離するが、この酵素が血管新生に関与する可能性は *in vivo* の実験報告から極めて低いとされており、肥満細胞の血管新生作用はキマーゼが担っていると考えるのが妥当である。

未分化型胃癌は、分化型胃癌に比べて血管新生が豊富とされている。今回の研究結果においても、未分化型胃癌は分化型に比べて微小血管密度が有意に高かった。微小血管密度とキマーゼ陽性細胞数の間には有意な正の相関を認めたことから、未分化型胃癌に多くのキマーゼ陽性細胞が観察された理由の一端が明らかとなった。

癌の発症と食習慣に関する疫学調査で、大豆摂取量の多い人ほど胃癌の発症が低いことが報告されている。大豆成分には、ヒトキマーゼ阻害作用をもつ Bowman-Birk 阻害物質が含まれている。同阻害物質には A II 産生や MMP-9 の活性を抑える作用があり、血管新生の抑制作用も知られている。従ってキマーゼ阻害薬は、血管新生抑制を介した胃癌発症の抑制の可能性が期待できる。

本研究は癌組織に集積する肥満細胞の役割の一端を示唆したものである。胃癌進展の機序に肥満細胞由来のキマーゼが血管新生を介して関与する可能性を、ヒト標本を用いてはじめて示した。更にキマーゼ阻害薬の胃癌治療薬となる可能性をも示すことができた。抗キマーゼ抗体を用いた免疫染色は、胃癌の予後、キマーゼ阻害薬の有効性の指標としての有用性も高いと考える。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	近藤 圭 策
論文審査担当者		主 査 教授 宮 崎 瑞 夫 主 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 勝 健 一 副 査 教授 芝 山 雄 老 副 査 教授 林 秀 行	
主論文題名 Expression of chymase-positive cells in gastric cancer and its correlation with the angiogenesis (胃癌におけるキマーゼ陽性細胞の発現と血管新生との相関性)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は癌組織の近辺に集積する肥満細胞に着目し、肥満細胞から放出されるセリンプロテアーゼであるキマーゼの胃癌へ進展の関与の可能性を示した。キマーゼは ACE と同様に AII 産生酵素として、特にヒト組織で重要である。AII を介した作用として</p> <p>VEGF を発現させ、更に直接的に pro-MMP-9 を活性型である MMP-9 に変換することが知られている。これら二つの因子は、腫瘍における血管新生に密接にかかわっている。これまで、肥満細胞と胃癌の進展に関する報告は散見されたが、その機序を示すものはなかった。本研究では、はじめてキマーゼに着目し、胃癌組織の免疫染色により、キマーゼ陽性細胞と微小血管密度が調べられている。胃癌周囲のキマーゼ陽性細胞の発現は微小血管密度とともに正常組織より高く、また胃癌の進行にともなって微小血管密度とキマーゼ陽性細胞の発現は高くなることが確かめられている。さらに、キマーゼ陽性細胞の発現と微小血管密度との間には正の相関があることが確認されている。また胃癌組織におけるキマーゼ陽性細胞の発現の多寡が予後に影響することも示唆されている。本研究により、はじめて胃癌の進展において肥満細胞由来のキマーゼが血管新生を促している事実が示されている。更にキマーゼ阻害薬の胃癌治療薬となる可能性をも示している。また抗キマーゼ抗体を用いた免疫染色は、胃癌の予後、キマーゼ阻害薬の有効性の指標としての有用性が高いことをも示唆している。今後、集学的治療の確立が課題とされている胃癌の進展制御の手段としてキマーゼ阻害薬の臨床応用に期待を抱かせる研究である。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 9 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Journal of Surgical Oncology 93: 36-43, 2006</p>			