

|          |   |
|----------|---|
| 氏名       | おかだ こういちろう<br>岡田 耕一郎  |
| 学位の種類    | 博士(医学)  |
| 学位記番号    | 乙第208号  |
| 学位授与年月日  | 平成17年 9月30日   |
| 学位授与の要件  | 学位規則第条第2項該当   |
| 学位論文題目   | Expression of hypoxia-inducible factor(HIF-1 $\alpha$ ),<br>VEGF-C and VEGF-D in non-invasive and invasive<br>breast ductal carcinomas<br>(非浸潤性、浸潤性乳管癌における HIF-1 $\alpha$ および<br>VEGF-C, VEGF-D 発現) |
| 学位論文審査委員 | (主査) 林 一彦<br>(副査) 井藤久雄 應儀成二   |

### 学位論文の内容の要旨

HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ) は、細胞内の低酸素に反応して活性化され、VEGF(vascular endothelial growth factor)などの転写因子として働く。ヒトの悪性腫瘍において、VEGF は血管新生誘導により腫瘍の増大や転移と関係する。VEGF ファミリーには、原型の VEGF 以外にもリンパ管新生に関与する VEGF-C, VEGF-D があり、腫瘍の悪性化との関係が報告されている。しかし、HIF-1 $\alpha$  と VEGF-C, VEGF-D の関係は明らかではない。本研究の目的は、乳腺腫瘍における HIF-1 $\alpha$ , VEGF-C, VEGF-D の発現を免疫組織化学的に検討し、これらの発現型式の関係と臨床病理学的要因との関連を解明することである。

### 方法

2000年から2003年の期間に、鳥取大学器官再生外科学分野で乳腺腫瘍の診断で外科的に摘出された68例を対象とした。その内訳は線維腺腫(以下FA)12例、非浸潤性乳管癌(以下DCIS)20例、浸潤性乳管癌(以下IDC)36例である。ホルマリン固定された標本を5mm間隔で全割し、腫瘍の中心部分をH.E.染色と免疫染色で解析した。対照として、癌組織から3cm以上はなれた乳腺正常組織を用いた。

免疫組織化学的染色は、HIF-1 $\alpha$ はCSA system(DAKO社)を、VEGF-C, VEGF-DはヒストファインシンプルステインMAX-PO(ニチレイ社)を使用した。第一次抗体はHIF-1 $\alpha$ モノクローナル抗体(1:1000 Abcam社), VEGF-Cポリクローナル抗体(1:400 R&D社), VEGF-Dモノクローナル抗体(1:100 R&D社)を使用した。

評価方法では、HIF-1 $\alpha$ は核、VEGF-C, VEGF-Dは細胞質が染色された細胞を陽性細胞と判

定した。10 視野中の 1000 個の腫瘍細胞に対する陽性細胞数を比率で求めた。HIF-1 $\alpha$ では 1%以上、VEGF-C, VEGF-D は 10%以上を陽性と判定した。

## 結 果

HIF-1 $\alpha$ は、正常乳腺と FA では発現しなかったが、悪性腫瘍では発現した。HIF-1 $\alpha$ は DCIS では 40%, IDC では 44%が陽性であり、両群に有意差はなかった。VEGF-C は、DCIS では 55%, IDC では 67%が陽性であったが、両群で有意差はなかった。VEGF-D は、DCIS では 45%、IDC では 64%であったが、両群に有意差はなかった。

乳癌において、IDC では HIF-1 $\alpha$ と VEGF-C 発現の間に、有意な正の相関を認めたが、DCIS では認めなかった。

臨床病理学的因子の分析に関しては、DCIS では HIF-1 $\alpha$ 陽性群が陰性群に比べ有意に壊死組織が多く見られ、かつ、大きさや壊死巣の有無等に基づく DCIS の予後指標である Van Nuys prognostic index (VNPI) も有意に高かった。

## 考 察

乳腺腫瘍において、HIF-1 $\alpha$ は、良性腫瘍では発現しなかったが、悪性腫瘍では発現することが判明した。したがって、HIF-1 $\alpha$ は乳腺腫瘍の癌化に関与している可能性が示唆された。

乳癌の初期と考えられている DCIS において、HIF-1 $\alpha$ 発現は、腫瘍内の壊死組織と悪性度を反映する VNPI と相関することが示された。こうした結果から腫瘍内の壊死は、腫瘍組織の低酸素状態を反映する根拠であり、HIF-1 $\alpha$ 発現が組織学的な悪性度を反映する指標となる可能性が示された。

一方、IDC において、VEGF-C と HIF-1 $\alpha$ 発現に正の相関が認められたことから、HIF-1 $\alpha$ が VEGF-C 発現を調節している可能性がある。乳癌において、リンパ管新生は、血管新生と同様に、癌の浸潤や転移にかかわっている。HIF-1 $\alpha$ が血管新生とリンパ管新生の調節因子であることが解明されれば、乳癌治療の有力なターゲットとなると期待される。

## 結 語

乳腺腫瘍において、HIF-1 $\alpha$ は、乳癌細胞に限局して発現することが判明した。HIF-1 $\alpha$ は血管新生因子だけでなく、リンパ管新生因子である VEGF-C 発現にも関わっている可能性が示唆された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、乳腺腫瘍における HIF-1 $\alpha$ , VEGF-C, VEGF-D の発現を免疫組織化学的に分析し、その関係を検討したものである。その結果、HIF-1 $\alpha$ は、悪性腫瘍において限定して発現するこ

とが明らかになった。また、浸潤性乳管癌において HIF-1 $\alpha$  と VEGF-C 発現の間に、有意な正の相関を認めた。この結果から、HIF-1 $\alpha$  発現がリンパ管新生因子である VEGF-C 発現を誘導する可能性が示された。

本論文の内容は、HIF-1 $\alpha$  が乳腺腫瘍の癌化、および VEGF-C 発現に関与していることを示唆するものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認める。