

氏名	やました ひでき 山下 英 樹
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第486号
学位授与年月日	平成16年 9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Cyclooxygenase-2 in human malignant fibrous histiocytoma: correlations with intratumoral microvessel density、 expression of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase (悪性線維性組織球腫におけるシクロオキシゲナーゼ-2の発現：腫瘍内微小血管密度、血管内皮増殖因子およびチミジンホスホリラーゼとの関連)
学位論文審査委員	(主査) 豊島良太 (副査) 山田一夫 井藤久雄

学位論文の内容の要旨

Cyclooxygenase (COX)は、アラキドン酸からのプロスタグランジン(PG)生合成の律速酵素であり、COX-1、COX-2の2つのサブタイプが知られている。近年COX-2の発現は急性滲出性炎症反応のみならず、大腸癌をはじめとする種々の上皮系悪性腫瘍などに関与していると報告されているが、軟部腫瘍での検討は極めて少ない。そこで、本研究では成人の軟部腫瘍の中で頻度が高い悪性線維性組織球腫(Malignant fibrous histiocytoma; MFH)におけるCOX-2の発現と臨床病理学的因子、腫瘍内微小血管密度(Intratumoral microvessel density;IMVD)、血管内皮増殖因子(Vascular endothelial growth factor;VEGF)およびチミジンホスホリラーゼ(Thymidine phosphorylase;TP)発現との関連を検討した。

症例と方法

ヒトMFH培養細胞株2株より蛋白を抽出し、Western blotにてCOX-2蛋白の発現を検討した。また外科的に切除されたMFH35例、対照として良性の線維組織球性腫瘍(Benign fibrous histiocytoma ;BFHT)30例を用いた。

COX-2、VEGF、TP発現は免疫組織化学的に検索した。COX-2蛋白は10%以上、TP蛋白は40%以上の腫瘍細胞に免疫活性の見出された腫瘍をそれぞれ陽性および高発現と定義した。

VEGF 蛋白は腫瘍の免疫活性強度を強陽性、中等度陽性、弱陽性、陰性の 4 段階に分類し、前 2 者を高発現レベル、後 2 者を低発現レベルとした。腫瘍内微小血管は CD34 免疫活性で可視化し、IMVD は強拡大 10 視野における血管数の 1 視野あたりの平均値として求めた。COX-2、VEGF、TP 各 3 因子の発現を基に以下の 3 群に分類した;Category I;3 因子いずれも陰性、低発現の群、Category II ;3 因子のうち 1 つあるいは 2 つが陽性、高発現の群、Category III ;3 因子すべてが陽性、高発現の群。

なお、予後調査の可能であった 28 例については Kaplan-Meier 法で解析し、COX-2、VEGF、TP の発現と比較検討した。

結 果

MFH 細胞株 2 株における Western blot 解析において COX-2 蛋白は、72kD の単一バンドとして検出された。

COX-2 陽性症例は MFH35 症例中 22 例(62.9%)であり、BFHT では COX-2 陽性例はなかった。MFH における COX-2 陽性群 22 例と陰性群 13 例の両群を比較すると、性別、発生部位、組織型、組織学的悪性度に差はなかったが、70 歳以下において陽性症例の頻度が有意に高かった($P < 0.01$)。

MFH における平均 IMVD は COX-2 陽性群で 104.5 ± 11.3 、陰性群で 67.2 ± 5.80 、BFHT では 27.9 ± 3.12 であり、前者が後 2 者に比べ有意に高値を示した($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。

VEGF および TP 蛋白は COX-2 陽性群 22 例において各々 20 例(90.9%)、17 例(77.3%)。が高発現していたのに対して、COX-2 陰性群 13 例では各々 3 例(23.1%)、5 例(38.5%)が高発現しており、後者に比べ前者の頻度が有意に高かった($P < 0.05$)。

IMVD は VEGF 高発現群(23 例)が 107.0 ± 10.2 、TP 高発現群(22 例)が 110.3 ± 10.0 であり、VEGF 低発現群(12 例)の 59.3 ± 5.8 、TP 低発現群(13 例)の 57.5 ± 6.3 と比較し、各々、有意に高かった($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$)。Category III における IMVD は 120.8 ± 11.5 で Category I の 62.6 ± 6.8 、II の 61.9 ± 27.5 と比較し有意に高値であった($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$)。

COX-2、VEGF、TP 陽性例、高発現例は、陰性例、低発現例と比較しそれぞれ生存率が低い傾向を示したが、有意差はなかった。

考 察

Western blot 法による検索では MFH 細胞株 2 株の何れにおいても COX-2 蛋白発現がシングル・バンドとして検出され、用いた抗体の特異性が確認された。手術摘出標本においては MFH35 例中 22 例に COX-2 蛋白が発現していたが、BFHT には発現を認めなかった。このことは腫瘍細胞における COX-2 の発現は悪性化に関与している可能性を示唆している。実際に COX-2 陽性症例では陰性症例と比較し平均生存率が低い傾向があった。なお、COX-2 発現と予後との関連が見いだされなかったのは、検討した症例数が少ないためと考えられる。

COX-2 は種々の悪性腫瘍で血管新生に関与していると報告されている。本研究においても COX-2 発現は MFH における腫瘍内微小血管密度、また、VEGF と TP の発現にも関連していた。

さらに3因子(COX-2、VEGF、TP)全てが陽性および高発現している CategoryⅢでは他群と比較しIMVDが有意に高値を示した。すなわちMFHにおいてCOX-2はVEGFとTPと相互に関連し、血管新生に寄与していることが示唆された。

結 語

悪性線維性組織球腫MFHにおけるCOX-2蛋白発現は腫瘍内微小血管新生に関連し、悪性度の指標になりうる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では外科的に切除された悪性線維性組織球腫(MFH)と良性線維性組織球性腫瘍(BFHT)におけるCOX-2蛋白発現の意義を、腫瘍内微小血管と比較しつつ検討を加えている。用いた抗体の特異性はMFH培養細胞株を用いたウエスタン・プロット法で確認されている。

免疫組織化学的検討から、COX-2はMFH35症例中22例(62.9%)で発現していたが、BFHTではCOX-2陽性例はなかった。MFHにおけるCOX-2発現は性別、発生部位、組織型、組織学的悪性度に差はなかったが、70歳以下において陽性症例の頻度が有意に高いことを見いだした。また、COX-2発現は腫瘍内微小血管密度と相関し、さらに、他の血管新生因子発現とも関連していることを示した。加えて、COX-2発現例では予後不良の傾向が見いだされている。

かかる知見はMFHにおけるCOX-2発現の病理学的意義について解明したものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認められる。