

氏名	やまぐち けんいち 山口 研 一
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第517号
学位授与年月日	平成17年 3月11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	Expression of inducible nitric oxide synthase is significantly correlated with expression of vascular endothelial growth factor and dendritic cell infiltration in patients with advanced gastric carcinoma (進行胃癌患者における産生型一酸化窒素合成酵素発現は血管内皮成長因子発現および樹状細胞浸潤と有意に相関する)
学位論文審査委員	(主査) 井藤久雄 (副査) 村脇義和 池口正英

## 学位論文の内容の要旨

一酸化窒素 (nitric oxide ; NO) は L-アルギニンから L-シトルリンへの変換において NO 合成酵素 (nitric oxide synthase ; NOS) によって産生される。これまでに 3 種の NOS が報告されているが、このうち産生型 NOS である inducible NO (iNOS) は最も高い NO 産生能を有する。NO はヒト腫瘍において血管新生や免疫反応と関連することが報告されているが、胃癌における iNOS 発現と血管新生や免疫反応との関連に関する報告はない。

そこで、本研究では進行胃癌について免疫組織学的に iNOS 発現を評価し、血管新生因子である血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor ; VEGF) や微小血管密度 (microvessel density ; MVD)、腫瘍免疫担当細胞である樹状細胞 (dendritic cell ; DC) 浸潤との関連を検討した。

### 症例と方法

鳥取大学医学部病態制御外科分野で治癒切除術が施行されていた漿膜浸潤進行胃癌患者 137 例 (男性 72 名、女性 63 名) の切除標本を用いて、ストレプトアビジン-ビオチン (SAB) 法にて免疫染色を行った。iNOS 発現同定には抗 iNOS ポリクローナル抗体を、P53 蛋白の染色には抗 p53 モノクローナル抗体を、VEGF 発現同定には抗 VEGF ポリクローナル抗体を、微小血管の同定には抗 CD34 モノクローナル抗体を用い 100 倍視野あたりの平均値を算定した。DC の可視化には抗 S-100 蛋白モノクローナル抗体を使用した。

さらに、胃癌細胞における iNOS および VEGF 発現と予後との関連を検討した。

## 結 果

iNOS 発現は 135 例中 106 例 (78.5%) で陽性であり、分化型腺癌より低分化型腺癌で有意に高発現していた ( $p < 0.05$ )。他方、リンパ節転移、リンパ管、静脈浸潤、病期などの臨床病理学的因子との相関はなかった。P53 発現は 106 例中 43 例 (40.6%) で陽性であったが、P53 発現と iNOS 発現には相関はなかった。VEGF 発現は 135 例中 37 例 (36.7%) で陽性であり、iNOS 発現と VEGF 発現の間には正の相関が認められた。

微小血管数の平均値は 42.5 であり、この平均値をカットオフ値として高 MVD 群と低 MVD 群に分けると、VEGF と iNOS 発現がともに陽性の症例では有意に高 MVD 群の比率が高値であった。DC 数の平均値は 13.2 であり、VEGF と iNOS 発現がともに陽性の症例では有意に DC 浸潤の低下が認められた。

iNOS 発現陽性群と陰性群の 5 年生存率はそれぞれ 47.2%、75.9% であり、前者は有意に予後不良であった ( $p < 0.05$ )。Cox 比例ハザードモデルを用いた予後因子の検討を行ったところ、腫瘍径やリンパ節転移とともに iNOS 発現が独立した予後因子であった。次に、iNOS 発現と VEGF 発現とを組み合わせて予後との関連を検討したところ、両者とも陽性の群の 5 年生存率は他の二群より有意に予後不良であった ( $p < 0.01$ )。

## 考 察

iNOS 発現陽性胃癌症例では陰性症例に比較して有意に予後不良であり、腫瘍径やリンパ節転移とともに独立した予後因子であった。検索しうる範囲では、胃癌における iNOS 発現と予後との関係を示した検討は他にない。

悪性腫瘍の発育や転移は血管新生に依存していることが知られているが、それらの中でも VEGF は腫瘍血管新生の主要な調節因子であると考えられている。今回の検討では iNOS と VEGF 発現の間には正の相関を認めたものの、iNOS と P53 発現との間に相関はなかった。VEGF と iNOS 発現ともに陽性の症例では他の症例と比較して MVD 高密度群の比率が有意に高かったため、iNOS は VEGF 発現を介して胃癌の血管新生を促進するものと考えられる。

NO は宿主における免疫抑制にも関わっていると報告されており、NO は生体内で最も強力な抗原提示細胞である DC のアポトーシスをも誘導すると報告されている。担癌患者においては DC 数の減少と DC の機能低下があり、これが癌の発育や転移を促進する可能性がある。筆者らは胃癌組織での DC 数の減少が予後と相関すること、胃癌組織において DC 浸潤と VEGF 発現との間に負の相関があることを既に報告している。本研究では VEGF と iNOS 発現がともに陽性の症例では、他の症例に比較して DC 高度浸潤群の比率が有意に低下していた。従って、胃癌細胞が iNOS を発現することにより DC 浸潤を抑制し、結果的に免疫機構からの回避を誘導している可能性が示唆された。

## 結 論

ヒト胃癌細胞は高率に iNOS を発現しており、VEGF 発現を介して腫瘍内微小血管密度を高め、さらに樹状細胞浸潤を抑制することにより腫瘍増殖に有利な環境を形成することが示された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では漿膜浸潤進行胃癌症例における iNOS 発現を免疫組織化学的に検討し、VEGF や P53 発現あるいは腫瘍内微少血管、樹状細胞数と比較検討し、その発現の意義を詳細に検討している。その結果、iNOS は胃癌細胞において高率に発現し、VEGF 発現を介して腫瘍内微小血管密度を高め、さらに樹状細胞浸潤を抑制することにより腫瘍増殖に有利な環境を形成することを明らかにした。これにより、iNOS 発現は胃癌患者の独立した予後因子であることを示した。

かかる知見はヒト胃癌における iNOS 発現の臨床病理学的意義を解明し、さらに胃癌における新たな分子標的治療の可能性を示唆したものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認められる。