

主論文の要旨

**Epithelial to Mesenchymal Transition Correlates With
Tumor Budding and Predicts Prognosis in Esophageal
Squamous Cell Carcinoma**

〔 Tumor budding と相関する上皮間葉転換は食道扁平上皮癌の
予後を予測する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 消化器外科学分野

(指導：小寺 泰弘 教授)

丹羽 由紀子

【はじめに】

食道癌の罹患率は世界第8位，死亡率は世界第6位の疾患であり，いまだ満足のできる治療成績は得られてはいない．組織型を見てみると，欧米では腺癌が多い一方，アジアでは扁平上皮癌がほとんどである．

近年，上皮間葉転換(Epithelial to Mesenchymal Transition; EMT)という概念が，各種癌種における浸潤や転移のメカニズムに関与していることが報告され，積極的に研究がなされている．特に，浸潤や転移をきたし易い特質を有する食道癌においては，その詳細なメカニズムの解明，新規治療への応用が不可欠である．

一方，新たな腫瘍病理学的指標として，腫瘍先進部において癌細胞が個々に，あるいは，小胞巣を形成しつつ散在性に間質内に浸潤する浸潤形態 (Tumor budding) という概念が注目されており，予後との相関が報告されている．われわれもまた，食道癌におけるTumor buddingに関して詳細に解析し，報告してきた．しかしながら，EMTとTumor buddingとの相関に関しては，大腸癌や膀胱癌などでの報告は散見されるものの，食道扁平上皮癌におけるEMTとTumor buddingとの相関に関する報告は認めない．

【目的】

食道扁平上皮癌におけるEMTとTumor buddingとの相関，臨床学的な意義に関して検討する．

【対象と方法】

ヒト食道扁平上皮癌細胞株9種と，2001年から2013年までに当教室において食道扁平上皮癌の診断にて根治術を施行した，術前治療未施行である78例の切除検体を対象とした．細胞株と切除検体凍結切片からRNAを抽出し，E-cadherinとVimentinの発現を定量PCR法によって測定した．細胞株においてはWestern blottingを施行し，E-cadherinとVimentinの蛋白発現に関して測定した．切除検体においては，腫瘍部のVimentin/E-cadherin比をEMT statusと定義し，中央値により高値群をMesenchymal type，低値群をEpithelial typeとした．Tumor buddingの評価に関しては，HE標本にて浸潤先進部の簇出が3個以上(high-grade budding群)と3個未満(low-grade budding群)の2群に分け，解析を行った．さらに，免疫組織化学染色を行い，切除検体組織の癌部におけるE-cadherinとVimentinの蛋白発現に対しても観察した．

【結果】

ヒト食道扁平上皮癌細胞株9種において，mRNAレベルでのE-cadherinとVimentinの発現を確認したところ，E-cadherinが高発現しているEpithelial typeは5種であり，Vimentinが高発現しているMesenchymal typeは4種であった(Fig. 1A)．また，Western blottingを行って細胞株における蛋白発現を確認したところ，前述と同様の結果が得られた(Fig. 1B)．

次に、食道扁平上皮癌の切除検体による検討を行った。患者背景をTable Iに示す。Mesenchymal type(n = 39)の5年生存率は31.5%であるものの、Epithelial type(n = 39)の5年生存率は62.0%であり、Mesenchymal typeでは有意に予後不良であった($P=0.021$, hazardratio[HR] = 2.01; 95%confidenceinterval[CI], 1.11–4.04)(Fig. 1C)。また、high-grade budding群(n = 48)の5年生存率は25.9%、low-grade budding群(n = 30)では75.1%であり、high-grade budding群では有意に予後不良であった($P < 0.001$, HR = 5.33; 95%CI, 2.55–12.5)(Fig. 1D)。以上の結果より、食道扁平上皮癌において、EMTとTumor buddingがともに予後因子であることを確認した。

臨床病理学的因子との相関を解析すると、EMT statusと有意に相関していた臨床病理学的因子は年齢のみであった($P=0.022$)(Table II)。EMT statusはTumor budding($P=0.009$)と有意に相関しており、その他、組織学的ステージ($P=0.021$)、リンパ管侵襲($P=0.028$)、および、病理学的T因子($P=0.048$)と有意に相関していた(Table III)。食道扁平上皮癌における予後因子について多変量解析を施行すると、Tumor budding($P=0.003$)のみが有意な予後因子であった(Table IV)。

切除検体において免疫染色を施行すると、Tumor buddingがhigh-gradeである癌組織ではVimentinが高発現しており、E-cadherinが低発現であった。一方、Tumor buddingがlow-gradeである癌組織では、Vimentinが低発現であり、E-cadherinが高発現していることを確認した(Fig. 2)。

【考察】

EMTは上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走能、浸潤能を得ることにより、間葉系様の細胞へと変化するプロセスである。これまでに、EMTと癌の転移や予後との相関については、他癌種における報告を認めているが、今回、食道扁平上皮癌においても同様の結果が得られた。

Tumor buddingについての報告は、大腸癌において最も多く、2009年には本邦の大腸癌治療ガイドラインにおいて、内視鏡的に摘除された大腸癌の追加治療の適応基準としてTumor buddingが採用されている。食道癌についても、未治療切除検体におけるTumor buddingが予後と相関することが報告されており、これについても同様の結果が得られた。

EMTとTumor buddingとの相関については、様々なシグナル伝達経路が関与しているものと推察されているが、その詳細なメカニズムは明らかではない。上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走、浸潤能を得ることで間葉系様の細胞へと変化するEMTと、腫瘍先進部において癌胞巣が簇出するTumor buddingが相関していることは、EMTの分子生物学的プロセスをTumor buddingが形態学的に反映していることを示唆すると考えられた。本研究は、食道扁平上皮癌における癌の浸潤や転移メカニズムについて、分子生物学的な側面をEMT statusから、形態学的な側面をTumor buddingからとらえたものであると考えているが、その背景メカニズムに関しては、さらなる研究が必要であると思われる。

【結語】

食道扁平上皮癌において、EMT statusとTumor buddingは有意な予後因子であり、また、両者における相関を認めた。