

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 25 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462061

研究課題名(和文)胆管癌における神経周囲浸潤と関連分子の発現モデル研究

研究課題名(英文)Nerve growth factor expression and perineural invasion in bile carcinoma

研究代表者

上村 健一郎(Uemura, Kenichiro)

広島大学・医歯薬保健学研究院(医)・講師

研究者番号：60379873

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：胆管癌の神経周囲浸潤は予後不良因子の一つであり、その関連分子を解明することを目的として、浸潤様式・胆管癌における神経周囲浸潤と関連分子の発現モデル解析を行った。1. ヒトの胆管癌切除標本パラフィンブロックを用いて免疫組織学的に各Neurotrophin familyタンパク発現解析ではNerve Growth Factor 発現が胆管癌神経周囲浸潤とは関連しないことが判明した。これまでに浸潤性膵管癌、前立腺癌、頭頸部癌等で報告されていた関連因子とは異なる機序の存在が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the impact of intratumoral nerve growth factor expression in resected extrahepatic cholangiocarcinoma on survival. Intratumoral nerve growth factor expression was investigated immunohistochemically in 112 patients with resected extrahepatic cholangiocarcinoma. High and low nerve growth factor expression was observed in 62 (55%) and 50 (45%) patients, respectively. For all 112 patients, no significant correlation was found between nerve growth factor expression and presence of perineural invasion ($P = 0.942$). Moreover, nerve growth factor expression was not associated with recurrence-free survival ($P = 0.861$) and overall survival ($P = 0.973$).

Intratumoral nerve growth factor expression is not associated with perineural invasion or recurrence-free and overall survival in patients with resected extrahepatic cholangiocarcinoma.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：胆管癌 神経周囲浸潤 Nerve Growth Factor

1. 研究開始当初の背景

胆管癌は胆管上皮細胞を起源とした悪性腫瘍である。胆管癌は診断が困難であり、かつ致死率が高く、現代においても肝切除や膵切除を伴った胆管切除など侵襲性の高い外科的手術が唯一の根本的治療法となっている。さらに、手術後の再発率は非常に高く、5年生存率は high volume center での成績で約 12-42%とされており、ここ 30 年来改善されていない。近年では、世界的に罹患率・致死率が急速に上昇していることが問題視されている。浸潤の潜伏期、早期診断マーカーが不十分であること、標準的放射線治療や化学療法に低感度であること、これらが胆管癌患者において予後不良を生じる原因となっている。

癌の進展形式にはリンパ行性転移、血行性転移、播種性転移の他に、神経周囲浸潤による進展様式が報告されており、予後不良因子の一つと考えられている。

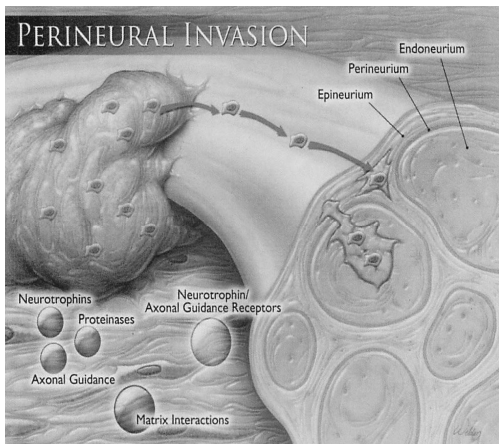


Fig.1 神経周囲浸潤のシエーマ

しかし、癌腫の神経周囲浸潤は組織切片上の顕微鏡的所見で定義されているだけで、実際どのような分子メカニズムで発生し、進展していくかについていまだ不明な点が多く存在することが問題である。また、固形癌の一種としての肝外胆管癌においては神経周囲浸潤の存在やあるいは重症度を反映するバイオマーカーはいまだ不明である。

Nerve Growth Factor (NGF) は当初原始的な神経好因子として発見され、Trk-A 受容体に結合することでチロシキナーゼ受容体のリン酸化を発動し、神経発育や機能、生存などを調整し、発生段階での中枢神経系や末梢神経系における軸索成長を調整する。膵癌、前立腺癌、頭頸部扁平上皮癌などでは NGF 発現の程度は有意に神経周囲浸潤に相関すると報告されている。

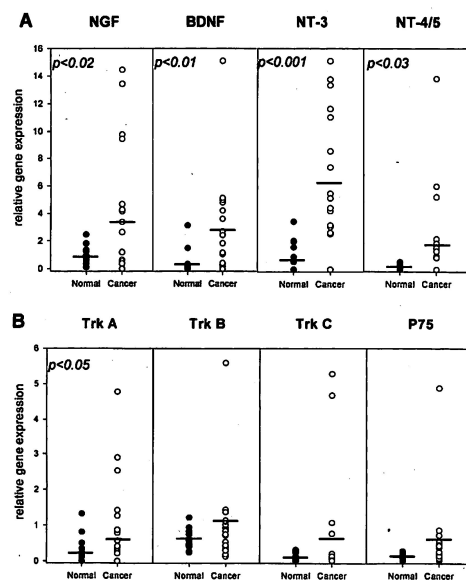


Fig.2 膵癌と各種 Neurotrophic factor 関連

しかし、胆管癌における神経周囲浸潤と NGF の関連性については、これまでの研究は十分とは言えない背景が存在する。

我々は胆管癌に対する外科的切除に積極的に取り組んでおり、その病理検体を用いて過去に他癌腫で神経周囲浸潤の予測因子の候補として報告がある、Nerve Growth Factor (NGF) に着目し、胆管癌神経周囲浸潤のバイオマーカーとしての関連性の検討を行うこととした。

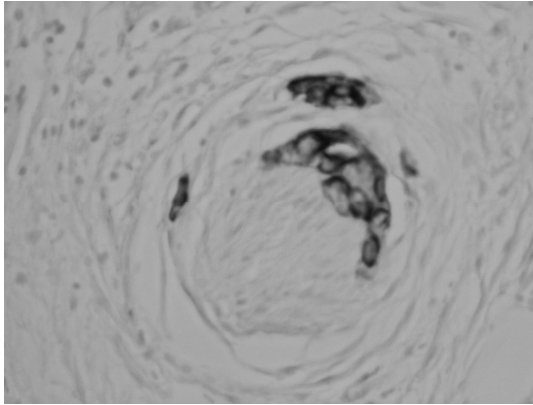


Fig.3 胆管癌神経周囲浸潤の組織像

2. 研究の目的

Nerve Growth Factor (NGF)に着目し、胆管癌神経周囲浸潤のバイオマーカーとしての関連性の検討を行うこと。

3. 研究の方法

対象は1999年9月から2014年4月までに筆者の教室で肝外胆管癌に対しR0あるいはR1切除手術を施行しえた112例を対象とし、後方視的に評価した。腫瘍最大断面を含むパラフィンブロックで5 μ m切片を作成し、抗NGF抗体(abcam社, ab52918)を用いて免疫組織学的染色を施行した。染色結果を、NGF発現なしをGrade0, positive controlより弱発現をGrade1, positive controlと同程度をGrade2, positive controlより強発現をGrade3と分類し、腫瘍の30%以上Grade2,3発現を認めたものをhigh NGF発現群、それ以外をlow NGF発現群と分類した。

統計学的に臨床病理学的因子(年齢, 性別, 腫瘍位置, 残存腫瘍R因子, 組織学的分化度, 神経周囲浸潤の有無, リンパ節転移の有無, UICC T分類, UICC stage)との関連性について解析した。その後、無再発生存率や全生存率との関連性について検討を行った。さらに、サブグループ解析として、遠位胆管癌と肝門部領域胆管癌に分けて予後との関連について詳細に検討を行った。

4. 研究成果

Low NGF群は50例(45%), High NGF群は62例(55%)に認めた。NGFの発現程度と神経周囲浸潤の有無とは関連性を認めず($P = 0.942$), 年齢・性別・腫瘍位置・遺残腫瘍・組織学的分化度・リンパ節転移の有無・UICC pT因子・UICC stageといった臨床病理学的因子とも関連性は認めなかった。予後との検討においては、NGFの発現は無再発生存期間($P=0.861$)あるいは生命予後($P=0.973$)とも関連性を認めなかった。臨床病理学的因子について、無再発生存率との相関を検討した所、リンパ節転移の存在が唯一有意な相関を認めた($P=0.004$, hazard ratio[HR]2.19; 95% confidence interval[CI] 1.28-3.80)。全生存率の相関性の検討では、多変量解析では、神経周囲浸潤の存在($P=0.002$, HR3.53; 95%CI 1.52-10.3)及びリンパ節転移の存在($P < 0.001$, HR2.77; 95%CI 1.56-5.08)が独立した予後不良因子であった。腫瘍部位によるサブグループ解析の多変量解析においては、遠位胆管癌ではリンパ節転移の存在が無再発生存期間(HR2.94; 95%CI1.29-7.29; $P=0.010$), 全生存期間(HR4.26; 95%CI1.65-13.1; $P=0.002$)とも有意な相関を示し、肝門部領域胆管癌では神経周囲浸潤の存在(HR6.12; 95%CI 1.21-111; $P=0.024$)が全生存期間と有意な相関を示したが、NGF発現は遠位胆管癌(無再発生存期間: $P=0.639$, 全生存期間 $P=0.827$), 肝門部領域胆管癌(無再発生存期間 $P = 0.911$, 全生存期間 $P=0.762$)両腫瘍位置においては有意な相関を示さなかった。

肝外胆管癌におけるNGF発現と神経周囲浸潤の関連性は過去Xuらにより示されていたが、我々の結果はXuらの報告を支持しない。この理由として、我々の対象患者は100例を超える単位に対しXuらは30例に満たないという症例数の問題、対象症例に含まれる人種的な違いの問題などを考えた。結論として本

研究の結果からは、肝外胆管癌における NGF 発現は神経周囲浸潤や無再発生存期間、全生存期間との関連性を認めないものと考えられた。

以上の結果から、本研究はこれまで各種癌腫で相関関係が示されていた NGF が肝外胆管癌の神経周囲浸潤との関連性を認めないことを報告した点で今後の神経周囲浸潤研究において有意義なものと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

・Urabe Kazuhide, Murakami Yoshiaki, Kondo Naru, Uemura Kenichiro, Hashimoto Yasushi, Nakagawa Naoya, Sasaki Hayato, Hiyama Eiso, Takahashi Shinya, Sueda Taijiro : Nerve Growth Factor Expression Is Not Associated with Perineural Invasion in Extrahepatic Cholangiocarcinoma. Dig Dis Sci. 査読 2016 Mar; 61(3): 774-84. doi: 10.1007/s10620-015-3953-9.

[学会発表](計 5 件)

1. 浦部和秀、村上義昭、上村健一郎、橋本泰司、他：切除可能肝外胆管癌における Nerve Growth Factor 発現と神経周囲浸潤との関連性の検討。第 70 回日本消化器外科学会総会 2015 年 7/15-7/17 浜松

2. 浦部和秀、村上義昭、上村健一郎、橋本泰司、他：切除可能肝外胆管癌における神経周囲浸潤の程度評価と予後への影響。第 27 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 2015 年 6/11-6/13 東京

3. Urabe Kazuhide, Murakami Yoshiaki, Uemura Kenichiro, Hashimoto Yasushi, et al: Impact of intratumoral nerve growth factor expression on perineural invasion and prognosis in resectable extrahepatic cholangiocarcinoma. Poster presentation

during the 56th Annual Meeting in conjunction with DDW at the Walter E. Washington Convention Center, May 16-19, 2015. Washington, DC, USA.

4. Urabe Kazuhide, Murakami Yoshiaki, Uemura Kenichiro, Hashimoto Yasushi, et al: IMPACT OF INTRATUMORAL NERVE GROWTH FACTOR EXPRESSION ON PERINEURAL INVASION AND PROGNOSIS IN RESECTABLE EXTRAHEPATIC CHOLANGIOCARCINOMA. POSTER PRESENTATION at the 49th Annual Pancreas Club meeting. The meeting is scheduled for May 15-16, 2015 at the Washington Court Hotel in Washington, DC. USA.

5. 浦部和秀、村上義昭、上村健一郎、橋本泰司、他：胆管癌における Nerve Growth Factor 発現と神経周囲浸潤との関連性についての検討。第 115 回日本外科学会定期学術集会 2015 年 4/16-4/18 名古屋

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上村 健一郎 (UEMURA KENICHIRO)
広島大学 医歯薬保健学研究院(医) 講師
研究者番号：60379873

(2) 研究分担者

村上 義昭 (MURAKAMI YOSHIAKI)
広島大学 医歯薬保健学研究院(医) 准教授
研究者番号：10263683

橋本 泰司 (HASHIMOTO YASUSHI)
広島大学病院(医) 助教
研究者番号：50423380
(平成 26 年～平成 27 年 9 月 30 日)

(3) 連携研究者

檜山 英三 (HIYAMA EISO)
広島大学 自然科学研究支援開発センター
教授
研究者番号：00218744

以上