

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 趙 斌

本研究は Vater 乳頭部癌の発生と進展における分子生物学的機構を解明するため、Vater 乳頭部癌の外科的手術切除症例を用いて癌遺伝子 *K-ras* の突然変異と癌抑制遺伝子 *p53* 及び *p21/Waf1* の発現、腫瘍血管新生および血管新生促進因子の Thymidine Phosphorylase (TP) と Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) の発現を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. *K-ras* codon 12 突然変異は 37 例について検討したが、変異が PCR-RFLP 法で 51% (19/37)、Direct Sequencing 法で 38% (14/37) にみられた。Direct Sequencing 法で変異はすべてコドン 12 の第二位の塩基にあることが判明した。組織型では胆膵管型より腸型で高率に変異がみられた (67% vs. 30%;  $p < 0.05$ )。新たな組織分類の胆膵管型と腸型の乳頭部癌はそれぞれ異なるメカニズムで発癌し、*K-ras* 遺伝子が主に腸型に関与する事が示された。

2. *p53* と *p21* の発現については、*p53* は正常上皮が染まらないが、癌細胞の核が強く染まった。*p53* の overexpression は 44% (26/59) の症例でみられたが、何れの臨床病理学因子とも相関しなかった。一方、*p21/Waf1* は 58% (34/59) の症例で癌細胞が染色された。38% (22/59) に overexpression がみられた。*p21/Waf1* overexpression のある症例はない症例より有意に術後生存期間が短かった。この差は全症例で検討しても高度進行例 (stage III と IV) で検討してもいずれでも認められた。*p21/Waf1* の変異は腫瘍の進展よりむしろ腫瘍の発生に関わる。*p21/Waf1* 蛋白の過剰発現は機能異常の一種で独立予後因子であ

る事が示された。

3。 TP に関して、正常上皮はほとんど染まらないが、癌細胞は細胞質が強く染まっていた。63% (37/59)の症例では陽性であった。リンパ節転移のある腫瘍(p=0.006)やより進展した腫瘍(p=0.03)では TP が高率に発現されていた。TP 陰性の症例は陽性の症例に比して予後がより良好であった(p = 0.02)。VEGF については、正常上皮は染まらないが、腫瘍細胞は細胞質或いは細胞膜が染まっていた。73% (43/59)の症例で陽性であった。VEGF の染色は TP と相関したが、臨床病理学因子や予後と相関しなかった。Vater 乳頭部癌に於いては TP が血管新生を通じて腫瘍の浸潤を促進する。TP の発現はリンパ節転移と相関し独立しないことから TP のこの作用は微小リンパ管の新生を促進することにもよることが示された。

4。 TP 及び VEGF と Mirco vessel density (MVD) との関連について、TP 陽性群の平均 MVD は(27.6±10.1) 陰性群のそれ(20.4±10.0)より有意に高値であった(p = 0.01)。VEGF 陽性群の MVD(25.8±10.4) は VEGF 陰性群のそれ(22.8±11.2)より高値であったが、有為差がみられなかった。しかし TP と VEGF を併せて検索すると、TP と VEGF 両者が陽性の群の MVD は 27.7±9.6 で、両方が陰性の群の MVD (18.2±8.5)より有意に高値であった(p=0.01)。TP と VEGF と共に高度に発現する腫瘍で血管新生が高度にみられることは、腫瘍血管新生が多因子によって調節される事が示された。

以上、本論文は比較的多数の外科切除症例を用いて、Vater 乳頭部癌における分子生物的变化の検討から、この悪性腫瘍の発生と進展の分子レベルの機序の一部を解明した。特に、今まで明らかにされなかった p21/Waf1, TP 及び VEGF 等の因子のこの腫瘍の発生と進展における作用についての有意な研究と考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。