

# 論文要旨

## Clinical Implication of ZEB-1 and E-cadherin Expression in Hepatocellular carcinoma (HCC)

〔 肝細胞癌における ZEB-1 と E-cadherin 発現の臨床的意義 〕

橋口 真征

### 【序論および目的】

肝細胞癌は世界で5番目に多い悪性腫瘍であり、悪性腫瘍による死因の3番目である。手術や薬剤療法、分子標的療法の発展により原発性肝細胞癌（以下、HCC）患者の予後は改善傾向にある。しかし、有効な全身化学療法は確立されておらず、進行HCCの治療は未だ困難である。HCCにおける発癌、癌の伸展は慢性炎症との関連が報告されており、なかでも transforming growth factor- $\beta$ （以下、TGF- $\beta$ ）による発癌および上皮間質移行（以下、EMT）を介した癌の増殖進展が重要な役割を果たすとされている。他の癌腫において、TGF- $\beta$ シグナルの下流の転写因子として Zinc finger E-box-binding homeobox 1（以下、ZEB-1）が細胞接着因子である E-cadherin を抑制することによって EMT を促進することが知られている。申請者らは HCC における ZEB-1、E-cadherin の発現を免疫組織学的に評価し、その臨床病理学的意義を検討した。

### 【材料および方法】

1996年1月～2002年12月の間に鹿児島大学病院で手術を施行し、検体の使用について文章で同意を得られている108例の初発肝細胞癌（以下、HCC）を対象とした。男性が85例、女性が23例であり平均年齢は65.3歳であった。肝炎ウイルス検索では、18例がB型肝炎ウイルス抗原陽性、76例がC型肝炎ウイルス抗体陽性、1例が両方陽性、13例が両方陰性であった。腫瘍最大径の平均は44.3mm（10-150mm）であった。癌の病期分類は「原発性肝癌取扱規約」に則って行い、18例が高分化肝細胞癌、78例が中分化肝細胞癌、12例が低分化肝細胞癌であった。HCCのZEB-1、E-cadherinの発現は、切除されたホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて免疫組織学的に評価した。標本から得られた薄切切片に、それぞれの抗体を100倍に希釈して室温で1時間反応させ、ABC法で可視化した。それぞれ400倍の強拡大で10視野を観察して1000個の癌細胞について検討し、ZEB-1では1%以上のHCCの核に発現を認めるものをZEB-1陽性、それ以外をZEB-1陰性とした。E-cadherinは非癌部と比較して癌部の染色性が高いか同等のものをE-cadherin保存群、染色性が低いか全く見られないものをE-cadherin減弱群

とした。全生存率を含めた臨床病理学的因子と ZEB-1、E-cadherin の発現の関連性を検討した。臨床病理学的因子との相関は  $\chi^2$  テストで評価した。生存曲線は Kaplan-Meier 法で算出し、統計学的有意差は Log-rank 検定で評価した。生存のための独立した予後因子の多変量解析は一般化回帰モデルで行った。

### 【結果】

- 1) ZEB-1 発現は肝癌細胞の核にのみ認められ、正常管では認められなかった。E-cadherin 発現は肝細胞癌、正常肝細胞の細胞膜に認められた。
- 2) ZEB-1 の発現は 108 例中 23 例(21.3%)に認められた。ZEB-1 発現は脈管浸潤( $p=0.016$ )および腫瘍病期( $p=0.023$ )と有意な相関がみられた。
- 3) E-cadherin 発現の減弱は 108 例中 44 例(40.7%)に認められた。E-cadherin 減弱群は肝内転移( $p<0.001$ )および腫瘍病期( $p=0.05$ )と有意な相関がみられた。
- 4) ZEB-1 陽性と E-cadherin 減弱には有意な相関 ( $p=0.027$ ) がみられた。
- 5) ZEB-1 陽性群と陰性群では、それぞれ 5 年生存率 38.1 vs. 63.4%であり、陽性群では有意に予後が不良であった( $p=0.025$ )。E-cadherin 保存群と減弱群では、それぞれ 5 年生存率 66.0 vs. 44.5%であり、減弱群では有意に予後が不良であった( $p=0.048$ )。さらに、ZEB-1 陽性と E-cadherin 減弱を組み合わせた症例は、その他の症例より著明に予後が不良であった(5 年生存率 29.5 vs. 62.2 %,  $p=0.005$ )。ZEB-1 陽性群の中における、E-cadherin の発現度別では有意な差異はみられなかった。
- 5) 単変量解析では、ZEB-1 陽性、E-cadherin 減弱、脈管浸潤、肝内転移が予後不良因子とされたが、多変量解析では肝内転移( $p=0.0086$ )のみが独立した予後不良因子と選定された。

### 【考察】

ZEB-1 は TGF- $\beta$  の下流の転写因子であり、その主な役割は E-cadherin を抑制して EMT を誘導するとされている。ZEB-1 発現は大腸癌、前立腺癌、乳癌、膵癌などで、癌の分化の低下、転移などに関係し、予後不良因子となりうると報告されている。今回検討した HCC において、陽性例は 21.3%と少ないものの、その予後は有意に不良であった。また、E-cadherin 減弱も HCC における予後不良因子であったが、ZEB-1 陽性、E-cadherin 減弱の組み合わせの群ではさらに予後が不良であった。これは、ZEB-1 の発現により E-cadherin の減弱が起こり腫瘍の性質が悪化したためと推察される。TGF- $\beta$  の下流のシグナル経路には smad を介した経路と non-smad と呼ばれる他の転写因子 (ZEB-1、snail、slug etc.) を介した経路が存在し、我々は以前に HCC において smad4 の高発現が予後不良因子であることを報告している。今回の検討で、HCC においては smad 経路と ZEB-1 を介する non-smad 経路の療法が腫瘍の進展に寄与している可能性が示唆された。今後、ZEB-1 の分子機構、EMT 促進における役割等が解明され、HCC に対する新たな薬物治療戦略が構築されることが期待される。