

「食道表在癌発癌早期の血管新生に関する観察研究」に関する研究計画書

申請者（実施責任者）

所属 埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科

氏名 熊谷洋一

1. 背景, 意義, 目的

【背景】

現在食道癌の拡大内視鏡観察は正常重層扁平上皮で観察される終末毛細血管である上皮乳頭内ループ状毛細血管 (Intra-papillary capillary loop (IPCL)) に着目し、癌の深達度により特徴的に変化することを利用し深達度診断に利用されている。すなわち、M1, M2 癌の IPCL は健常部に比較して拡張と延長が観察され、M3 癌 (粘膜筋板浸潤) では、腫瘍表層に IPCL と比べ明らかに拡張し、不規則に錯綜する新生血管が観察されるようになる。SM 癌 (粘膜下層浸潤) では、深達度 M3 で出現してきた腫瘍表層を錯綜する新生血管で完全に置換される。この拡大内視鏡観察による血管形態の変化は現在食道癌深達度診断の重要なツールであり、消化器内視鏡学会をはじめ様々な学会で上級演題として取り上げられており非常に注目されている。我々は 1996 年よりこの食道拡大内視鏡の研究を始めた最初の研究グループであり、MICROFIL を食道癌切除標本に注入し微細血管形態を実体顕微鏡観察することで表層の血管形態と組織学的深達度がよく相関することを証明した (図 1)。

この血管形態の変化はまさに食道癌の発癌初期の血管新生そのものを観察するものである。食道は正常から粘膜下層癌までの変化の過程を生体内でリアルタイムに観察できる唯一の臓器であるといえる。我々はこの点に注目し、組織像と血管新生因子との相関を文献的に考察し報告してきた (Kumagai Yet al. *Dynamism of tumour vasculature in the early phase of cancer progression: outcomes from oesophageal cancer research. Lancet Oncol 2002; 3: 604-10.*)。すなわち、TP, Cox-2, p53 などは前癌病変より強発現し IPCL の拡張と延長、また IPCL 様の異常血管が誘導される。よって angiogenic switch は発癌の初期に存在すると考えられるが、VEGF, MMP, bFGF, IL-8, TGF, TSP-1 などは SM 癌で深で強発現すると報告されており、この時点から癌特有の新生血管が表層に観察されるようになる。よって、食道癌では第 2 の angiogenic switch が M3 以深に存在するものと考えられる。しかし、前癌病変、炎症、また癌においても表在癌深達度亜分類別に血管形態と血管新生因子の相関を網羅的にプロファイリングした論文は存在しない。この現象をより深く理解することは chemoprevention や分子標的治療のヒントになるものと考えられる。2012 年より本研究を開始し、発癌初期の血管新生因子の関与を明らかにしてきた。その過程で血管誘導に炎症細胞が深く関与していることが明らかになった (Kumagai Y et al. *Angiogenesis in superficial esophageal squamous cell carcinoma: assessment of*

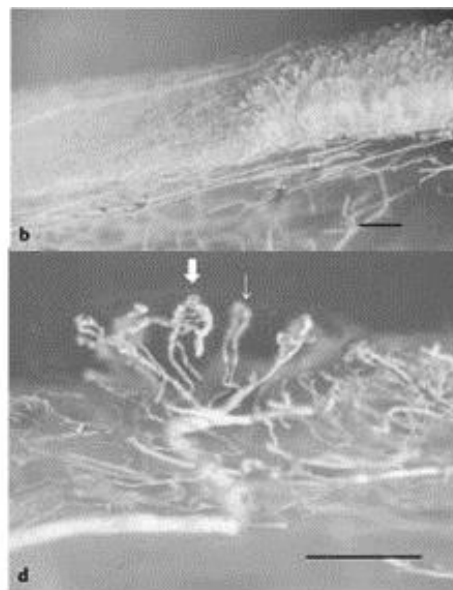


図1: MICROFIL注入後の食道癌の血管像
上: M2癌(断面像)
下: M3癌(断面像)太い矢印が新生血管

microvessel density based on immunostaining for CD34 and CD105. Jpn J clin Oncol 2014; 44: 526-533). さらに症例を増やすことで発癌初期における炎症細胞の役割を明らかにしたいと考えている。本研究は科研費基盤 C を用いた研究の一環である (26461047)。

2. 方法

2.1 対象

当センター消化管・一般外科にて切除された食道癌症例の切除標本。

当センター消化管・一般外科、消化器肝臓内科にて上部消化管内視鏡を受け生検を採取された症例の生検検体。

いずれも当院病理部にてブロックを保管されている。

2.2 方法

当院にて保管されている切除標本、生検標本の残余検体を使用する。正常（切除標本の正常部分を使用）、食道炎、Low grade intraepithelial neoplasia (LGIN)、High grade intraepithelial neoplasia (HGIN)、M1・M2 食道癌、M3・SM1 食道癌、SM2・SM3 食道癌を選択し、病理学教室で保管されているブロックより切り出しを行い免疫染色し各組織学的な状態で血管新生因子の発現状況を検討する。

2.3 検討項目

CD34, CD105, Cox2, iNOS, TGF β , VEGF, TP, HIF1 α などを免疫染色しCD34, CD105に関しては Microvessel densityを計測し、Cox2, iNOS, TGF β , VEGF, TP, HIF1 α などは発現状況を検討する。また、血管新生における炎症細胞浸潤の役割（マクロファージ、Th17 cellなど）を検討する。

3. 研究期間

研究期間：倫理委員会承認後～2015年10月31日まで

対象症例の期間：2005年1月～2014年6月までの症例

4. 予定症例数

正常（切除標本の正常部分を使用）、食道炎、Low grade intraepithelial neoplasia (LGIN)、High grade intraepithelial neoplasia (HGIN)、M1・M2食道癌、M3・SM1食道癌、SM2・SM3食道癌を各20例ずつとする。

5. 研究実施場所

総合医療センター病理部

6. 患者選択基準・除外基準

選択基準

総合医療センター病理部の病理レポートより上記病変を選択する。

除外基準

特になし

7. 被験者に理解を求め同意を得る方法

本研究は“調査・観察研究”にあたり、文部科学省、厚生労働省によって作成された「臨床研究の倫理指針」（平成20年7月31日全部改正）に従って実施されるものである。すでに診断のために採取された残余検体を用いる「観察研究」であるため、「文書による説明及び文書による同意に代えて、説明の内容及び被験者から受けた同意に関する記録を作成することができる」とされている。本研究は、すでに採取された検体を使用するものであり、残余検体の使用にあたる。そのため検体採取のために新たな同意を得ることはない。

また、研究内容については、倫理委員会承認後をすみやかに消化管・一般外科ホームページ上で公開し、また同意撤回可能である旨を周知する(資料1)。また該当患者からの問い合わせがあった場合、文書で説明する。

研究対象者の脱落または中止について

下記の理由などにより、本研究の継続が困難となった場合は、研究対象者を本研究から脱落または中止させることとする。

- 研究対象者、あるいは家族が自由意思により中止を申し出た場合
- その他、担当医師により中止が必要と判断された場合

8. 当該臨床研究に参加することにより期待される利益及び起こり得る危険並びに必然的に伴う心身に対する不快な状態

該当しない

9. 健康被害や有害事象への対応

該当しない

10. 費用について

本研究に関する費用（免疫染色にかかるすべての費用、データ解析、文献収集など）は科研費基盤研究C（26461047）によって行われる。また、本研究に関する患者の費用負担はいっさい生じない。

11. 人権への配慮と個人情報保護

「ヘルシンキ宣言」、「臨床研究に関する倫理指針」に従って人権擁護の配慮に努める。研究に必要なデータベースの連結可能匿名化は本研究に参加しない准教授（石橋敬一郎）の監督のもとで、データマネージャーの資格を有する医局秘書（小山覚巳）が行なう（対応表はインターネットと接続されていないコンピューター内で厳重に管理する）。研究で得られたデータは、当院の個人情報保護責任者である 病理部 田丸 淳一教授のもとで厳重に管理される。患者の QOL 評価に用いた調査表は匿名化番号を付した後、消化管・一般外科研究室の鍵のかかるボックス内に厳重に保管し、解析時に主研究のデータベースに連結する。

12. 利益相反

本研究においては、利害関係が想定される企業・団体からの経済的な利益やその他の関連する利害などは無い。当該研究経過を定期的に埼玉医科大学利益相反マネジメント委員会へ報告等を行う事により、本研究の利害関係について公正性を保つ。

13. 医学上の貢献の予測

本研究はすでに先行している食道癌の拡大内視鏡観察所見を血管新生の観点から解析するものであり、この現象をより深く理解することは chemoprevention や分子標的治療のヒントになるものと考ええる。

14. 知的財産権

本研究における知的財産権は研究施設（総合医療センター消化管・一般外科および病理部）の研究実施者に帰属する。

15. 研究代表者，当センター研究責任者・実施者

研究代表者・当センター研究責任者：

埼玉医科大学総合医療センター 消化管一般外科 准教授 熊谷洋一

実施者：

埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	教授	石田秀行
埼玉医科大学総合医療センター	消化器・肝臓内科	教授	屋嘉比康治
埼玉医科大学総合医療センター	病理部	教授	田丸淳一
埼玉医科大学総合医療センター	病理部	講師	東 守洋
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	傍島 潤
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	石畝 亨

参考文献

Kumagai Y et al. Angiogenesis in superficial esophageal squamous cell carcinoma: assessment of microvessel density based on immunostaining for CD34 and CD105. Jpn J clin Oncol 2014; 44: 526-533