

膵管状腺癌における p53蛋白発現と腫瘍血管新生に 関する臨床病理学的検討

東京慈恵会医科大学外科

藤岡 秀一 吉田 和彦 柳澤 暁 畠村 泰樹
小林 進 三澤 健之 青木 照明 山崎 洋次

膵管状腺癌97例に対して、p53および腫瘍血管新生の評価としてCD34の免疫染色を行い、p53 labeling index と intratumoral microvessel density (IMD) を求め、予後および臨床病理学的因子との関連について検討した。単変量解析では腫瘍部位、ts、v、ne、pw、stage、p53蛋白発現、IMDの8因子が有意で、多変量解析ではpwとIMDの2因子が独立した予後因子であった($p < 0.05$)。肝再発および臨床病理学的因子との関連ではp53蛋白発現とIMDのいずれも術後肝転移率およびv因子と有意に相関した($p < 0.05$)。またp53蛋白発現とIMDの間にも有意な相関を認めた($p = 0.0004$)。以上より膵管状腺癌ではp53の異常が腫瘍血管新生と静脈浸潤を促進し、術後肝転移に影響している可能性が示唆された。

はじめに

癌細胞の基本的特徴はその浸潤能と転移能である。特に、膵癌は周囲組織への浸潤傾向が強く、高率に肝転移を認めるため、根治的治療が困難で、現在最も予後が不良な癌の一つである¹⁾。血管新生は既存の血管から新しい毛細血管網が形成される組織反応で、本来生理的な現象であるが、固形腫瘍の増殖や転移においても重要な役割を担っている²⁾。Intratumoral microvessel density (IMD) は血管新生の評価法として1991年にWeidnerら³⁾によって報告されて以来、さまざまな固形腫瘍において肝転移や予後との関連が報告され⁴⁾⁻⁸⁾、現在最も有用な血管新生評価法であると考えられている⁹⁾。一方、膵癌では高率に*Ki-ras*癌遺伝子¹⁰⁾や*p53*癌抑制遺伝子¹¹⁾の異常および複数の増殖因子の¹²⁾発現が報告され、これらが膵癌の進展に寄与していると考えられている。この中で*p53*癌抑制遺伝子はvascular endothelial growth factor (VEGF)、basic fibroblast growth factor (bFGF) およびThrombospondin 1 (TSP 1)などの血管新生因子や血管新生抑制因子を介して血管新生を制御していることが報告されている¹³⁾⁻¹⁵⁾。本研究では膵管状腺癌切除例からIMDおよびp53蛋白発現を免疫組織学的に評価し、再発、予後

および臨床病理学的因子との関連について臨床的検討を行った。

対象と方法

1991年4月から1997年8月までに当科において切除された膵管状腺癌97例を対象とした。性別は男性69例、女性28例で年齢は43~80歳、平均61歳であった。腫瘍主占居部位はPh:76例、Rb:14例、Pt:7例で、術式は膵頭十二指腸切除術:54例、幽門輪温存膵頭十二指腸切除術:24例、膵体尾部切除術:18例、膵全摘術:1例で、リンパ節転移の程度によりD1までのリンパ節郭清が行われた。切除標本の分化度は高分化45例、中分化45例、低分化7例で組織学的進行度はstage IIが8例、stage IIIが21例、stage IVaが52例、stage IVbが16例であった。臨床病理学的因子および進行度の判定には膵癌取扱い規約¹⁶⁾を用いた。また、経過観察中に再発が確認された例、および1年以上の無再発生存例を対象に再発形式の検討を行った。再発形式の判定には主にcomputed tomography (CT)を用い、Ultrasonography (US)、および腫瘍マーカー(CEA:carcinoembryo antigen, CA19-9:carbohydrate antigen)を補助的に用いた。免疫組織染色はホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いたLeballed Streptavidin Biotin (SAB)法にて行った。1次抗体には抗CD34マウスモノクローナル抗体MY10(1:50, Becton Dickinson, San Jose, CA)、抗p53マウスモノクロー

Fig. 1 CD34 immunostaining in pancreatic cancer ($\times 200$). The highest density of vascular staining was usually observed in interstitial stroma at the invasive edge of cancer tissue (arrows)

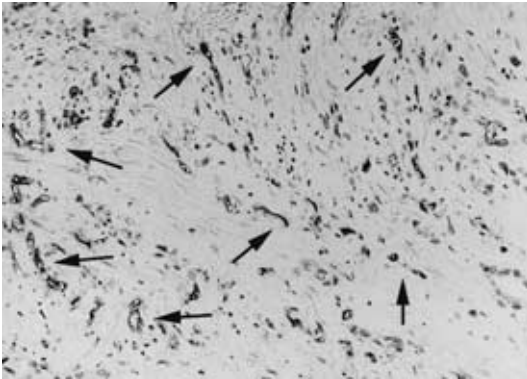
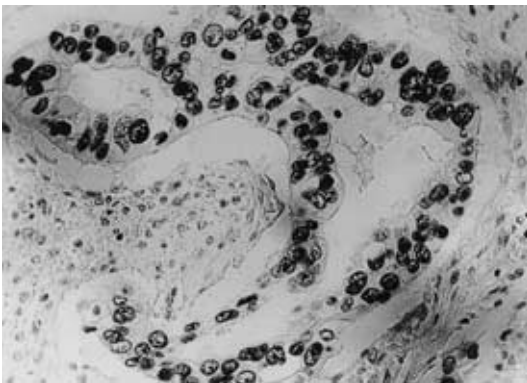


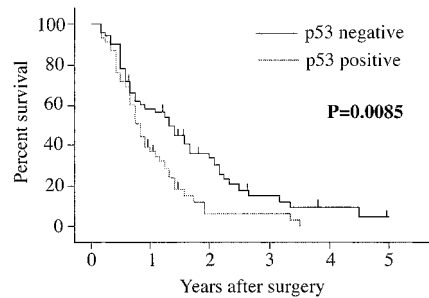
Fig. 2 p53 immunostaining in pancreatic cancer ($\times 400$). P53 staining was confined to the nuclei of tumor cells.



ナル抗体 DO 7 (1:50, Novocastra Laboratories, Newcastle, United Kingdom)を用いた。CD34染色では腫瘍先進部において血管密度の高い部位を5視野検索した後、200倍視野下に新生血管数を計数し、その平均値を intratumoral microvessel density (IMD) として血管新生の指標とした。IMDの計数方法は Weidner³⁾の原法に基づき、染色された細胞は内腔の有無を問わず、すべて新生血管として個々に計数した。p53染色の判定では腫瘍先進部における腫瘍細胞を1,000個計数し、染色された核のパーセンテージを p53 labelling index (p53 LI) として求め、p53 LI が20%以上の場合を p53染色陽性とした。

生存曲線の作成には Kaplan-Meier 法を、有意差検

Fig. 3 Survival rates by p53 protein expression



定には Log-rank test を用いた。多変量解析には Cox の比例ハザードモデルを用いた。2群の連続変数の検定には Mann-Whitney U 検定を、3群の連続変数の検定には Kruskal-Wallis の検定を用いた。また、カテゴリ変数の検定には χ^2 検定を用い、危険率5%未満で統計学的に有意差ありとした。

結果

1) IMD と p53陽性率

CD34染色では腫瘍の間質組織に新生血管の染色を認め (Fig. 1), IMD は1~171counts/0.74mm²で平均値と標準偏差は47.8 \pm 36.2(中央値45)であった。以後の検定のため、IMD を中央値で low-IMD 群 (n=49; IMD \geq 45) と high-IMD 群 (n=46; IMD < 45) の2群に分類した。p53染色は腫瘍細胞の核にびまん性もしくは顆粒状に認められ (Fig. 2), p53 LI の平均値と標準偏差は20.7 \pm 28.0で染色陽性率は47%(46/97)であった。いずれの染色でも染色性の heterogeneity が認められ、腫瘍先進部において強く染色される傾向が認められた。

2) 生存分析

p53染色陰性群の生存期間中央値および1, 3, 5年生存率はそれぞれ16か月, 58%, 16%, 5%で p53染色陽性群の10か月, 37%, 6%, 0%に比べ有意に良好であった (Fig. 3)。一方 low-IMD 群の生存期間中央値, および1, 3, 5年生存率はそれぞれ17か月, 63%, 18%, 4%で high-IMD 群の8か月, 34%, 4%, 0%に比べ有意に良好であった (Fig. 4)。生存期間に対する単変量解析の結果、有意であったのは腫瘍部位, 腫瘍径 (ts), 静脈浸潤 (v), 膵内神経浸潤 (ne), 膵切除断端 (pw), Stage, p53蛋白発現, IMD の8因子であった (Table 1)。これらの因子間で多変量解析を行ったところ, pw, IMD の2因子が独立した予後因子 (p=0.003, 0.017; hazard ratio=2.72, 1.89; Table 2) で

あった。

3) 再発に関する検討

再発形式として肝転移再発と局所再発に注目し、単変量解析で有意であった前述の8因子との関連について検討した。今回検討した97例の観察期間内における再発状況としては、1年以上の無再発生存例が8例、1年未満の無再発生存例が1例、再発による死亡例が83例、再発が確認されたものの生存中のものが5例であった。したがって再発形式の検討は1年未満無再発生存例の1例を除く96名で行った。このうち肝転移再

発が41例(43%)に、局所再発が62例(65%)に認められた。肝転移再発はIMD($p < 0.001$)、p53蛋白発現($p = 0.017$)、v因子($p = 0.014$)と有意な相関を認めた。一方、p53蛋白発現、IMDおよび臨床病理学的因子と局所再発の間には有意な関連を認めなかった(Table 3)。

4) 臨床病理学的因子との関連

臨床病理学的因子との検討ではp53蛋白発現およびIMDはv因子と有意な相関を認めた($p = 0.011$, 0.007)。また、IMDは後腹膜浸潤(rpe)とも有意に相関していた($p = 0.048$; Table 4)。以上の結果から、IMDおよびp53蛋白発現の静脈浸潤との関連を検討した。v0群($n = 27$)、v1群($n = 37$)およびv2 or v3群($n = 33$)のIMD平均値±標準偏差はそれぞれ 29.7 ± 29.2 , 51.6 ± 37.0 , 58.4 ± 35.9 でIMDとv因子との間に有意に相関を認めた($p = 0.003$; Fig. 5)。また、v因子とp53 LIとの検討では、v0群、v1群およびv2 or v3群のp53 LI平均値±標準偏差はそれぞれ 12.0 ± 23.0 , 17.1 ± 27.8 , 32.0 ± 29.1 で有意に相関を認めた($p = 0.011$; Fig. 6)。

5) IMDとp53蛋白発現

p53染色陽性群のIMD平均値±標準偏差は $61.0 \pm$

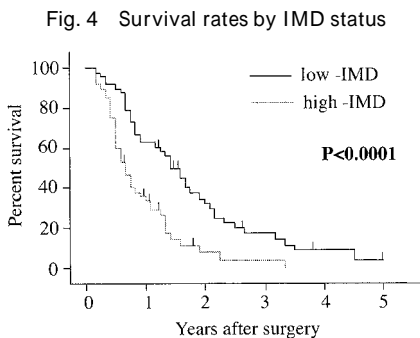


Table 1 Univariate analysis for clinico-pathological variables, p53 protein expression and IMD

Variables	Code(cases)	Median survival (Months)	P-value
Age	6Q(46)vs. > 6Q(51)	13vs.11	0.8286
Gender	Female(28)vs. Male(69)	15vs.10	0.4931
Tumor location	Pa(76)vs. Pb, Pc(21)	15vs.9	0.0309
Tumor size	ts 1, 2(73)vs. ts 3, 4(24)	16vs.8	0.0031
Histological grade	we(45)vs. mod, po(52)	13vs.10	0.9828
Infiltrating pattern	INF α , β (44)vs. γ (53)	14vs.9	0.2043
Lymphatic system	ly0,1(40)vs. ly2, 3(57)	11vs.10	0.3831
Venous system	v0(27)vs. 1(37)vs. v2, 3(33)	17vs.16vs.9	0.0041
Intrapancreatic nerve	ne0(14)vs. ne1(27)vs. ne2, 3(56)	19vs.10vs.10	0.0099
Anterior pancreatic capsule	s0, 1(45)vs. s2(38)vs. s3(14)	13vs.13vs.8	0.4591
Retroperitoneal tissue	rp0(35)vs. rp1(18)vs. rp2, 3(44)	16vs.19vs.9	0.1654
Extrapancreatic nerve plexuses	pl - (52)vs. pl + (45)	13vs.11	0.6554
Pancreas cut end	pw - (97)vs. pw + (18)	15vs.6	< 0.0001
Dissected pancreatic tissue	ew - (55)vs. ew + (42)	13vs.11	0.1079
Lymph node metastasis	Negative(35)vs. positive(62)	16vs.9	0.1678
t Category	t1(7)vs. t2(24)vs. t3(66)	15vs.17vs.9	0.1309
Stage	II, III(29)vs. IVa(52)vs. IVb(16)	16vs.11vs.6	0.0009
p53	Negative(51)vs. positive(46)	16vs.10	0.0085
IMD	low(49)vs. high(48)	17vs.8	< 0.0001

IMD ; intratumoral microvessel density calculated by CD34 staining

Table 2 Multivariate analysis using the Cox's proportional hazard model among the variables that were significant in univariate analysis

Variables	Cases	Multivariate analysis		
		Hazard Ratio	95% CI	P
Tumor location				
Ph	76			
Pb, Pt	21	1.39	0.70 - 2.76	0.349
Tumor size				
ts 1, 2	73			
ts 3, 4	24	1.08	0.58 - 2.00	0.814
Venous system				
v 0	27			
v 1	37			
v 2, 3	33	1.28	1.73 - 8.75	0.191
Intrapancreatic nerve				
ne 0	14			
ne 1	27			
ne 2, 3	56	1.02	0.72 - 1.46	0.894
Pancreas cut end				
pw(-)	79			
pw(+)	18	2.72	1.41 - 5.23	0.003
Stage				
II III	29			
IVa	52			
IVb	16	1.34	0.90 - 1.99	0.146
p53				
negative	51			
positive	46	1.20	0.72 - 1.99	0.484
IMD				
low	49			
high	48	1.89	1.12 - 3.18	0.017

IMD ; intratumoral microvessel density obtained by CD34 staining, CI ; confidence interval

37.1で p53染色陰性群の35.8 ± 31.1に比較して有意に高かった (p=0.0004 ; Fig. 7)。

考 察

多くの悪性腫瘍において,IMD と臨床的悪性度との間に相関関係があることが報告され,血管密度の高い腫瘍は予後不良であると考えられている³⁾⁻⁹⁾。膵癌でも high-IMD 群は low-IMD 群に比較して有意に予後が不良であり,多変量解析でも独立した予後因子であると報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。本研究でも high-IMD 群は low-IMD 群に比較し有意に予後が不良で,多変量解析でも独立した予後因子であった。その原因として IMD と術後肝転移率との強い関連が考えられた。low-IMD 群の術後肝転移率は10% (5/49)であったのに対して

Fig. 5 Comparison of IMD among various degree of venous invasion

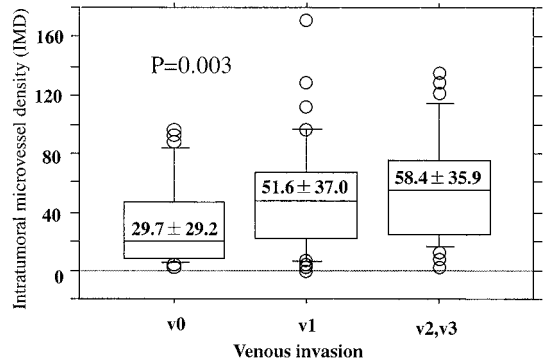


Fig. 6 Comparison of p53 LI among various degree of venous invasion

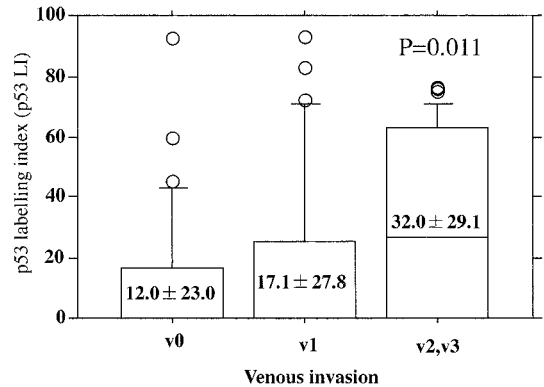
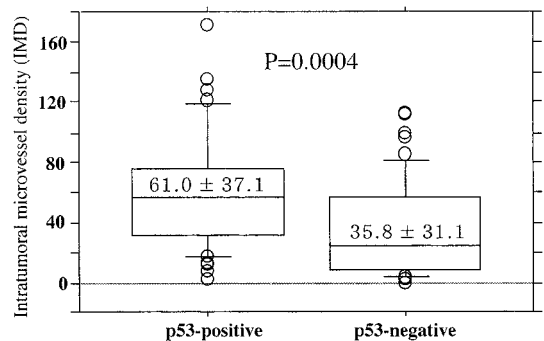


Fig. 7 Comparison of IMD between p53-positive and negative tumors



high-IMD 群の術後肝転移率は77% (36/47)と有意に高かった。また,臨床病理学的因子との検討において IMD は静脈浸潤と有意に相関していた。以上から,膵管状腺癌では腫瘍血管新生が腫瘍細胞の血流への流入

Table 3 Relationship between the variables that were significant in univariate analysis and recurrent form

Variables	Cases	Hepatic metastasis			Local recurrence		
		Yes	No	<i>P</i> ^a	Yes	No	<i>P</i>
Tumor location							
Ph	75	33	42		50	25	
Pb, Pt	21	8	13	0.748	12	9	0.578
Tumor size							
ts 1, 2	72	31	41		45	27	
ts 3, 4	24	10	14	0.905	17	7	0.460
Venous system							
v 0	27	7	20		18	9	
v 1	37	14	23		22	15	
v 2, 3	32	20	12	0.014	22	10	0.698
Intrapancreatic nerve							
ne 0	14	3	11		6	8	
ne 1	27	12	15		19	8	
ne 2, 3	55	26	29	0.213	37	18	0.177
Pancreas cut end							
pw(-)	78	32	46		49	29	
pw(+)	18	9	9	0.488	13	5	0.452
Stage							
II III	28	10	18		17	11	
IVa	52	22	30		34	18	
IVb	16	9	7	0.414	11	5	0.852
p53							
negative	51	16	35		33	18	
positive	45	25	20	0.017	29	16	0.979
IMD							
low	49	5	44		36	13	
high	47	36	11	<0.001	26	21	0.063

IMD ; intratumoral microvessel density obtained by CD34 staining. CI ; confidence interval

を容易にし、肝転移を促進した結果、予後を不良にしている可能性が示唆された。しかし、多変量解析における high-IMD 群の死亡に対するリスク比は1.89で、pw 陽性群のリスク比2.72よりも小さく、IMD の予後因子としての意義は治癒的因子を上回るものではないと推測された。

腫瘍血管新生発現は活性化された血管内皮細胞からのプロテアーゼによる基底膜と細胞外マトリックスの消化、血管内皮細胞の遊走と増殖および管腔形成の段階を経て進行することがよく知られており、この過程が腫瘍細胞の3次元の浸潤を容易にしていると考えられている²⁾。本研究ではIMDは臨床病理学的因子のうち後腹膜浸潤と有意な相関を認めた。また、IMDと局所再発率との関係では統計学的有意差は認めなかったものの($p=0.063$)、high-IMD群の局所再発率は

73% (36/49)とlow-IMD群の55% (26/47)の比較して高い傾向が認められた。これらの結果から膵管状腺癌において腫瘍血管新生が局所の進展にも関与していることが示唆された。

p53癌抑制遺伝子はヒト癌腫においてもっとも高率に変異が認められており¹⁹⁾、ヒト悪性腫瘍の38%に²⁰⁾、ヒト膵臓癌の約60%に変異が報告されている²¹⁾。p53蛋白発現の予後因子としての意義は乳癌²²⁾、肺癌²³⁾、などの各種固形癌において報告されているが、膵臓癌ではp53蛋白の過剰発現が予後と関連しないという報告²⁴⁾²⁵⁾と予後不良因子であるという報告²⁶⁾、とがあり、一定の見解が得られていない。本研究では、p53陽性群の生存期間中央値は10か月でp53陰性群の16か月に比較して有意に予後が不良であった。しかし、多変量解析ではp53蛋白発現は独立した予後因

Table 4 Relationship between either IMD or p53 protein expression and clinicopathological variable

Variables	Cases	IMD			p53		
		High	Low	<i>P</i>	+	-	<i>P</i>
Tumor location							
Ph	76	35	41		38	38	
Pb, Pt	20	12	8	0.267	7	13	0.232
Tumor size							
ts 1, 2	73	33	40		32	41	
ts 3, 4	24	15	9	0.142	14	10	0.217
Histological grade							
well	45	22	23		20	25	
mod, por	52	26	26	0.913	26	26	0.585
Venous system							
v 0	27	7	20		9	18	
v 1	37	20	17		14	23	
v 2, 3	33	21	12	0.011	23	10	0.007
Lymphatic system							
ly 0, 1	40	21	19		21	19	
ly 2, 3	57	27	30	0.619	25	32	0.402
Retroperitoneal tissue							
rpe 0	35	16	19		17	18	
rpe 1	18	5	13		10	8	
rpe 2, 3	44	27	17	0.048	19	25	0.666
Anterior capsule							
s 0, 1	45	20	25		22	23	
s 2	38	20	18		17	21	
s 3	14	8	6	0.626	7	7	0.911
Intrapancreatic nerve							
ne 0	14	5	9		4	10	
ne 1	27	15	12		16	11	
ne 2, 3	56	28	28	0.481	26	30	0.171
Extrapancreatic nerve							
p(-)	52	24	28		22	30	
p(+)	45	24	21	0.481	24	21	0.278
Pancreas cut end							
pw(-)	79	37	42		35	44	
pw(+)	18	11	7	0.274	11	7	0.198
Dissected margin							
ew(-)	55	26	29		26	29	
ew(+)	42	22	20	0.618	20	22	0.973
t Category							
t1	7	3	4		3	4	
t2	24	9	15		14	10	
t3	66	36	30	0.337	29	37	0.466
Stage							
II III	29	11	18		16	13	
IVa	52	27	25		21	31	
IVb	16	10	6	0.252	9	7	0.328

IMD ; intratumoral microvessel density obtained by CD34 staining, CI ; confidence interval

子ではなく、予後因子としてはそれほど重要ではないと考えられた。

これまでに *in vitro* において野生型 p53 が強力な血管新生抑制因子である TSP 1 の産生を促進し、血管新生因子である VEGF や bFGF の遺伝子発現を抑制する事が報告されており、野生型 p53 は血管新生抑制に働くと考えられている¹³⁾⁻¹⁵⁾。本研究において p53 蛋白発現は術後肝転移率と有意に相関し、臨床病理学的因子との検討では静脈浸潤と有意に相関した。また、IMD との検討では p53 陽性群では陰性群に比較して、有意に IMD が高かった。本研究において p53 の染色に使用した DO 7 は野生型および変異型 p53 蛋白に対する抗体であるが²⁷⁾、野生型 p53 蛋白は半減期が約 20 分と短いため、免疫組織染色では検出されない²⁸⁾。したがって、DO 7 に染色される細胞には変異 p53 蛋白が発現していると考えられる。以上より、膵管状腺癌では変異 p53 が血管新生を促進し、術後肝転移や予後に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

Pisters ら²⁹⁾ は術前 chemoradiation と術中 radiation の組み合わせにより、膵癌術後の局所再発率は 10% に改善されたが、遠隔転移が 60% の症例に生じ、将来的には術後肝転移をターゲットとした全身化学療法が必要になると主張している。この観点から、今後 IMD と p53 染色を肝転移危険群のスクリーニングに用いることによって、膵癌術後の補助療法の選択に有用になるかもしれない。

文 献

- 1) Gudjonsson B : Cancer of the pancreas : 50 years of surgery. *Cancer* 60 : 2284-2303, 1987
- 2) Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG : Cancer metastasis and angiogenesis : An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 64 : 327-336, 1991
- 3) Weidner N, Semple JP, Welch WR et al : Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 324 : 1-8, 1991
- 4) Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ et al : Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 340 : 145-146, 1992
- 5) Gasperini G, Bonoldi E, Viale G et al : Prognostic and predictive value of tumor angiogenesis in ovarian carcinomas. *Int J Cancer* 69 : 205-211, 1996
- 6) Gasperini G, Weidner N, Maluta S et al : Intratumoral microvessel density and p53 protein : cor-

relation with metastasis in head-and-neck squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer* 55 : 739-744, 1993

- 7) Tanigawa N, Amaya H, Matsumura H et al : Extent of tumour vascularization correlates with prognosis and hematogenous metastasis in gastric carcinomas. *Cancer Res* 56 : 2671-2676, 1996
- 8) Frank RE, Saclarides TJ, Leurgans S et al : Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence and survival in patient with node-negative colon cancer. *Ann Surg* 222 : 695-699, 1995
- 9) Gasparini G, Harris AL : Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma : much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol* 13 : 765-782, 1995
- 10) Bos JL : Ras oncogenes in human cancer : a review. *Cancer Res* 49 : 4682-4689, 1989
- 11) Barton CM, Staddon SL, Hughes CM et al : Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 64 : 1076-1082, 1991
- 12) 江川新一, 二見仁康, 山口 建 : 膵癌における血管新生とその阻害 . 胆と膵 16 : 435-441, 1995
- 13) Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Sukhatme VP : Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression. *Cancer Res* 55 : 6161-6165, 1995
- 14) Ueda T, Nosaka T, Takahashi JA et al : Transcriptional regulation of basic fibroblast growth factor gene by p53 in human glioblastoma and hepatocellular carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 9009-9013, 1994
- 15) Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA et al : Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin 1. *Science* 265 : 1582-1585, 1994
- 16) 日本膵臓学会編 : 膵癌取扱い規約, 改訂第 4 版 . 金原出版, 東京, 1993
- 17) Ellis LM, Takahashi Y, Fenoglio CJ et al : Vessel counts and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 34 : 337-340, 1998
- 18) Ikeda N, Adachi M, Taki T et al : Prognostic significance of angiogenesis in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 79 : 1553-1563, 1999
- 19) Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC et al : Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 342 : 705-708, 1989
- 20) Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M et al : Mutations in the p53 tumor suppressor gene : Clues to cancer etiology and molecular patho-

- genesis. *Cancer Res* 54 : 4855-4878, 1994
- 21) Barton CM, Staddon SL, Hughes CM et al : Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 64 : 1076-1082, 1991
- 22) Isola J, Visakorpi T, Holli K et al : Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 84 : 1109-1114, 1992
- 23) Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL et al : Accumulation of p53 protein correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 52 : 4828-4831, 1992
- 24) DiGiuseppe JA, Hruban RH, Goodman SH et al : Overexpression of p53 protein in adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Clin Pathol* 101 : 684-688, 1994
- 25) Zhang SY, Ruggeri B, Agarwal P et al : Immunohistochemical analysis of p53 expression in human pancreatic carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 118 : 150-154, 1994
- 26) Yokoyama M, Yamanaka Y, Friess H et al : p53 expression in human pancreatic cancer correlates with enhanced biological aggressiveness. *Anticancer Res* 14 : 2477-2483, 1994
- 27) Linder S, Parrado C, Falkmer UG : Prognostic significance of Ki 67 antigen and p53 protein expression in pancreatic duct carcinoma : a study of the monoclonal antibodies MIB 1 and DO 7 in formalin-fixed paraffin-embedded tumour material. *Br J Cancer* 76 : 54-59, 1997
- 28) Porter PL, Gown AM, Kramp SG et al : Widespread p53 overexpression in human malignant tumors : an immunohistochemical study using methacarn-fixed, embedded tissue. *Am J Pathol* 140 : 145-153, 1992
- 29) Pisters PWT, Abbruzzese JL, Janjan NA et al : Rapid-fractionation preoperative chemoradiation, pancreaticoduodenectomy, and intraoperative radiation therapy for resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 16 : 1-9, 1998

Clinicopathological Investigation of Tumor Angiogenesis and p53 Protein Expression in Tubular Adenocarcinoma of the Pancreas

Shuichi Fujioka, Kazuhiko Yoshida, Satoru Yanagisawa, Yasuki Unemura, Susumu Kobayashi, Takeyuki Misawa, Teruaki Aoki and Yoji Yamazaki
Department of Surgery, The Jikei University School of Medicine

Expression of p53 (to calculate the p53 labelling index : p53 LI) and CD34 (to calculate intratumoral microvessel density ; IMD) was immunohistochemically investigated in 97 specimens of surgically resected tubular adenocarcinoma of the pancreas. And these parameters were analyzed together with patient outcome and the clinicopathological findings. Univariate analysis revealed eight significant factors : tumor site, tumor size(ts) , venous invasion(v) , intrapancreatic neural invasion(ne) , pancreatic cut-end(pw) , stage, p53 protein expression, and IMD, and a multivariate analysis yielded two independent prognostic indicators : pw and IMD($p < 0.05$) . Comparison of hepatic recurrence and clinicopathological factors revealed that both IMD and p53 protein expression were significantly correlated with the frequency of hepatic recurrence and venous invasion ($p < 0.05$) . The data also showed a good correlation between p53 protein expression and IMD ($p = 0.0004$) . Thus, the probability was suggested that p53 abnormalities are likely to influence postoperative hepatic metastasis by facilitating tumor angiogenesis and venous invasion.

Key words : pancreatic cancer, prognostic factor, hepatic metastasis, intratumoral microvessel density, p53

[*Jpn J Gastroenterol Surg* 34 : 83-90, 2001]

Reprint requests : Shuichi Fujioka Department of Surgery 1, Jikei University School of Medicine
3-5-8 Nishi-shinbashi, Minato-ku, Tokyo, 105-8461 JAPAN