



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

胃癌原発巣における腫瘍浸潤リンパ球と腫瘍細胞の
アポトーシス発現程度および予後との関連について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安江, 紀裕 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/14956

氏名(本籍)	安江紀裕(岐阜県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位授与番号	乙第 1315 号		
学位授与日付	平成 14 年 11 月 20 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
学位論文題目	胃癌原発巣における腫瘍浸潤リンパ球と腫瘍細胞のアポトーシス発現程度 および予後との関連について		
審査委員	(主査) 教授 佐治重豊		
	(副査) 教授 高見剛 教授 森脇久隆		

論文内容の要旨

腫瘍局所での好中球やリンパ球の浸潤程度と予後が相関するとの考えで、腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocytes, 以下TIL)の存在が注目され、その検索意義が評価されてきた。すなわち、TILによる免疫学的抗腫瘍作用による癌細胞の破壊であるが、その後の検討で、TILの浸潤程度と予後との関連を否定する報告が散見されるようになった。理由としてTILの中には、細胞傷害性Tリンパ球と腫瘍増殖性Tリンパ球が存在するため、TILの浸潤程度のみでは予後評価に直結しないとの考えである。ところで、TILによる腫瘍細胞の破壊は壊死(ネクロシス)よりも枯死(アポトーシス)による可能性が高いことから、腫瘍細胞のアポトーシス発現程度が注目され、これが予後と相関することで、再び注目を集めている。しかし、癌微小環境では遺伝子の多段階変異の蓄積によりアポトーシスから解除された癌細胞が無限の増殖を開始しているが、一部の腫瘍細胞はTILの攻撃を受けてアポトーシスに陥る。一方、TILもアポトーシスを繰り返しながら、腫瘍・宿主環境を構築するわけで、予後の予測には腫瘍細胞とTILの双方でアポトーシス発現程度を検索し、互いに比較検討することが重要と推察される。そこで、今回癌局所環境における生体反応と予後との関連を、癌細胞とTILの両面からアポトーシス発現程度を評価し、その臨床的意義を検討した。

研究対象と研究方法

対象は、1992年から5年間に教室で経験した切除可能胃癌症例で、術後5年以上を経過し予後が判明している症例の中から、病期進行程度の分布頻度が全国集計と近似する症例群で、予後の予測が容易なstage I a早期癌とstage IV進行癌の根治度C症例を除外した49例である。方法は、手術時採取した胃癌原発巣をホルマリン固定後パラフィン包埋し、3 μ mの薄層連続切片を作製し、通常のHematoxylin Eosine(H.E.)染色、および一次抗体として抗Tリンパ球抗体、UCHL-1を用いたLabelled Streptavidin Biotin法(LSAB2キット/HRP)による免疫染色で癌細胞とTILを同定後、その浸潤程度を観察した。次いで、これと連続する対側切片を用いてterminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nickend labeling(TUNEL)法にて免疫染色し、アポトーシスの有無を検索した。判定は400倍視野にてTUNEL陽性細胞を検出し、対側のH.E.染色所見で核クロマチンの凝縮程度からDNAの断片化が形態学的に確認できた細胞をアポトーシス陽性細胞として判定した。また、アポトーシスの発現頻度は、apoptotic index(以下、AI)値として表示し、癌組織の辺縁部(以下、辺縁部)と内部(以下、中心部)で、単位面積(0.96mm²)当たりの陽性細胞数を算定し、各3か所の平均値を%で示し、腫瘍細胞およびTIL別にAI値を算定した。

研究結果

TILの浸潤程度を観察した上で、腫瘍細胞とTILのAI値を算定し、臨床病理学的因子や生存率から予後との関連を比較検討した。その結果、①TILの平均値は、腫瘍中心部が202 \pm 82(個)、辺縁部が228 \pm 89で、辺縁部に多

くなる傾向($p=0.07$)がみられた。これを中心部のROC曲線より求めた単位面積当たり180個で比較すると、TILの浸潤程度が高いほど深達度が有意($p=0.024$)に浅く、また、辺縁部のROC曲線より求めた単位面積当たり200個で比較すると同様の傾向($p=0.079$)が観察された。②TILの浸潤程度と予後との関連では、中心部及び辺縁部ともTILが多いほど予後は有意($p<0.002$ と $p<0.004$)に良好であった。③TILのAI値は中心部($0.964\pm 0.707\%$)と辺縁部($0.846\pm 0.489\%$)の間に差はみられなかったが、臨床病理学的因子との関連でTILのAI値のcut off値を1.0とすると、中心部では以上群の頻度は深達度が有意($p=0.024$)に深く、辺縁部でも同様の傾向が観察された。しかし、病期進行程度およびリンパ節転移度との間に有意の関連はみられなかった。④腫瘍細胞のAI値と予後との検討では、中心部でcut off値を0.7とすると高値群が有意($p<0.002$)に良好で、辺縁部でもAI値のcut off値を0.8とすると、予後は高値群が低値群に比べ有意($p<0.005$)に良好であった。⑤TILのAI値は中心部(cut off値1.0)および 辺縁部(cut off値0.7)とも、高値群が低値群に比べ予後は有意($p<0.03$ および $p<0.001$)に不良であった。

考察と結語

腫瘍浸潤リンパ球(TIL)は、癌微小環境における免疫応答で重要な役割を担っていることから、TILの細胞膜表面分化抗原や細胞傷害活性の検索、あるいはTILを用いた活性化リンパ球の誘導などが試みられている。一方、TILの中で好酸球や樹状細胞の浸潤程度が注目され、教室でも胃・大腸癌症例を対象に検討し、樹状細胞の浸潤程度と予後との間に有意の相関を認めた。しかし、樹状細胞の同定は必ずしも容易ではなく、通常の予後予測にはTILの同定の方が簡便である。さらに癌細胞周辺でのTIL浸潤程度と予後が必ずしも相関しない理由として、腫瘍に対し傷害性に作用するTIL(Th1系)と増殖促進性に作用するTIL(Th2系)の存在が考えられている。しかし、TILも腫瘍細胞から産生されたさまざまなサイトカインや腫瘍破壊後にアポトーシスに陥るわけで、この繰り返しにより腫瘍・宿主環境が構築されるものと推察される。そこで、予後予測にはTILの浸潤程度と腫瘍細胞のアポトーシス発現程度の検索に加え、TILのアポトーシス発現程度の検索が必要と考え、上記検討を行ったわけである。その結果、胃癌症例で手術時採取した摘出標本の癌部周辺でリンパ球浸潤が強く、腫瘍細胞のアポトーシス発現が高く、TILのアポトーシス発現が低い症例の予後は有意に良好であった。今後リンパ球や腫瘍細胞で各種メディエーターやサイトカイン産生能などの検索が必要であるが、術後の予後予測や補助療法の選択の上で、有用な情報を提供可能と推察している。

論文審査の結果の要旨

申請者 安江紀裕は、術後5年以上を経過し、予後が判明している胃癌切除標本を用い、癌部の辺縁部と中心部で腫瘍細胞と腫瘍浸潤リンパ球(TIL)のアポトーシス発現程度と予後との関連を比較検討し、TILの浸潤が強く、腫瘍細胞のアポトーシスが高く、TILのアポトーシスが低い症例の予後が有意に良好となることを明らかにした。本研究の成果は、胃癌術後患者の予後予測として新しい知見をもたらすもので、腫瘍外科学の発展に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

胃癌原発巣における腫瘍浸潤リンパ球と腫瘍細胞のアポトーシス発現程度および予後との関連について

日本消化器外科学会雑誌 35:1359-1368, 2002