

氏 名（本籍）	すぎ 杉	た 田	じゅん 純	いち 一
学位の種類	博 士（医 学）			
学位記番号	医 博 第 1 7 7 1 号			
学位授与年月日	平 成 13 年 3 月 26 日			
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当			
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻			
学位論文題目	ヒト大腸癌における宿主免疫反応としての Fas ligand 発現：その臨床病理学的意義解明			

（主 査）

論文審査委員	教授 松 野 正 紀	教授 名 倉 宏
	教授 里 見 進	教授 佐々木 毅

論文内容要旨

研究目的

大腸癌の先進部には各々の症例により様々な程度で炎症性細胞が浸潤しているが、その細胞の多寡が腫瘍の進展、予後に関連していることが報告されている。我々のグループは先進部に集簇する炎症性細胞は、腫瘍の進展に対し抑制的であることを報告してきた。Fas ligand (FasL) は細胞膜表面の Fas に結合することにより標的細胞に apoptosis を惹起させるが、活性化 T リンパ球の他にマクロファージにも FasL が発現していることが知られている。本研究は大腸癌における各種宿主反応としての FasL の解明を進め、apoptosis が癌の進展に対しどのように影響を与えているか検討した。

研究方法

ヒト大腸癌切除標本を材料とし、免疫組織化学(二重染色, 免疫電顕を含む), FasL mRNA probe を用いた in situ hybridization (ISH), TUNEL 法を施行し臨床病理学的に検討した。免疫組織化学染色には, NOK2 (FasL), DX2 (Fas), CD68 (マクロファージ), CD86 (B7.2), CD4, CD8, neutrophil elastase (好中球), M30cytoDEATH (M30: 上皮系細胞の apoptosis マーカー) に対する抗体を使用した。凍結標本 58 例について染色結果を(半)定量し各群間の相関係数を解析した。またパラフィン包埋標本 123 例について異時性肝転移群と非転移群における先進部単離 M30 陽性像の群間比較を行った。

研究結果

免疫染色, ISH の結果より, 大腸癌先進部マクロファージに FasL 発現を認めた。しかしリンパ球にはほとんど発現を認めなかった。癌細胞は FasL mRNA 陽性であるが, FasL タンパクは膜, 胞体ともに陰性であった。M30cytoDEATH 陽性の先進部に単離した癌細胞像は 58 例中 22 例に認められ, これは FasL 陽性マクロファージ数と正の相関があり, FasL 陽性マクロファージによる癌細胞に対する細胞傷害能が示唆された。しかし Fas 陽性癌細胞と apoptosis 間には相関がなく, Fas/FasL 系以外の経路も考えられた。すなわち先進部には活性化されたマクロファージが多く, しかもこの部位における散在性に分布している M30 陽性像は, 異時性血行性転移群で無再発転移群より有意に少なかったことから, 先進部マクロファージの FasL, またはそれ以外の機能分子による抗腫瘍効果を示唆すると判断された。M30 陽性像は, マクロファージの細胞質内に存在することが確認された。

結 論

大腸癌腫瘍先進部において癌の apoptosis が多い症例は腫瘍進展に対し抑制的であった。Fas/FasL系を考慮し、癌における apoptosis を検討すると、FasL発現の主体細胞であるマクロファージは、腫瘍細胞に対し FasL を介した細胞傷害作用を有することが明らかになったが、それ以外の経路を介した腫瘍細胞傷害作用も示唆された。またこれらマクロファージの多くは補助刺激分子 B7-2 が陽性であり、今回 apoptosis におちいった癌細胞を貪食している像を確認した。このことは、これらマクロファージは癌由来の抗原をリンパ球に提示し、抗腫瘍免疫系に関与する可能性を示唆している。さらに炎症性細胞浸潤の多い例では、炎症性細胞自体の apoptosis も多く、こういった症例が腫瘍に対し抑制的であることを考えあわせれば、活性化マクロファージは炎症性細胞に対し negative selection により宿主反応の調節を行っている可能性も推測された。

研究の意義・独創的な点

1. 大腸癌組織において、FasL 発現細胞が宿主反応性細胞（主にマクロファージ）であることの同定。
2. ヒト大腸癌組織先進部における癌細胞の apoptosis と FasL 陽性マクロファージが共存していることの証明。
3. 癌先進部での癌細胞の apoptosis が多いことは、癌の進展に抑制的であることの臨床病理学的証明。
4. 大腸癌先進部のマクロファージの腫瘍免疫系への関与の推定。

審査結果の要旨

大腸癌の先進部には炎症性細胞が浸潤し、腫瘍の進展に対し抑制的であることが知られている。また Fas ligand (FasL) は細胞膜表面の Fas に結合することにより標的細胞に apoptosis を惹起させ、活性化 T リンパ球の他にマクロファージ (Mφ) にも発現している。本研究は大腸癌における各種宿主反応としての FasL の解明を進め、apoptosis が癌の進展に対しどのように影響を与えているか検討した。

ヒト大腸癌切除標本を用い、免疫組織化学, in situ hybridization (ISH), TUNEL 法を施行し臨床病理学的に検討した。免疫組織化学染色は、NOK2 (FasL), DX2 (Fas), CD68 (Mφ), CD86 (B7.2), CD4, CD8, neutrophil elastase, M30cytoDEATH (M30: 上皮系細胞の apoptosis マーカー) に対する抗体を使用した。凍結標本58例について、染色結果を(半)定量し各群間の相関係数を解析した。またパラフィン包埋標本123例について、異時性肝転移群と非転移群における先進部に散在する M30 陽性像の群間比較を行った。

大腸癌先進部 Mφ に FasL 発現を認めたが、リンパ球にはほとんど発現を認めなかった。癌細胞は FasL mRNA 陽性であったが、FasL タンパクは膜、胞体ともに陰性であった。先進部に M30 陽性の散在する癌細胞像は FasL 陽性 Mφ 数と正の相関があったが、Fas 陽性癌細胞と apoptosis 間には相関がなかった。活性化 Mφ が多い先進部に散在する M30 陽性像は、異時性血行性転移群で非転移群より有意に少なかった。M30 陽性像は、Mφ の細胞質内に存在することが確認された。

大腸癌先進部において、癌の apoptosis が多い症例は腫瘍進展に対し抑制的であった。Fas/FasL 系を考慮し、癌における apoptosis を検討すると、FasL 発現の主体細胞である Mφ は、癌細胞に対し FasL を介した細胞傷害作用を有することが明らかになったが、それ以外の経路の存在も示唆された。またこれら Mφ の多くは補助刺激分子 B7-2 が陽性であり、今回 apoptosis におちいった癌細胞を貪食している像を確認した。このことは、これら Mφ は癌由来の抗原をリンパ球に提示し、抗腫瘍免疫系に関与する可能性を示唆している。さらに炎症性細胞浸潤の多い例では、炎症性細胞自体の apoptosis も多く、こういった症例が腫瘍に対し抑制的であることを考えあわせれば、活性化 Mφ は炎症性細胞に対し negative selection により宿主反応の調節を行っている可能性も推測された。

以上の通り、本研究は、大腸癌先進部の Mφ の腫瘍免疫系への関与の推定をした。学位論文として十分に値するものであると考える。