

氏 名（本籍）	きの 木	うち 内	まこと 誠
学位の種類	博 士（医 学）		
学位記番号	医 博 第 1 8 8 9 号		
学位授与年月日	平 成 1 4 年 3 月 2 5 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	ヒト大腸癌組織におけるCD14陽性細胞の形質発 現解析		

（主 査）

論文審査委員	教授 佐々木	巖	教授 名 倉	宏
	教授 大 内	憲	明	

論文内容要旨

研究目的

大腸癌局所における免疫系細胞の果たす役割を解明するために、特にこれまでほとんど検討されていない CD14 陽性細胞を中心に、単核細胞 (MNC) の分離と flow cytometry による解析を行った。

研究方法

直腸・結腸癌手術症例 40 例より腫瘍組織および非腫瘍部正常粘膜を採取し、これから酵素処理および比重遠心処理法により単核細胞を分離した。得られた単核細胞を各種蛍光標識抗体で染色し表面抗原を flow cytometry で解析した。また flow cytometry の解析を行った症例中 5 例において免疫組織化学染色を施行した。

研究結果

得られた単核細胞の表面抗原を蛍光染色し flow cytometry により、CD14+細胞、CD14-CD83+細胞、CD14-CD1a+細胞の 10^4 個あたりの数を比較した。得られた MNC 中の CD14+細胞の率は非腫瘍部正常粘膜 (中央値 1.9%) よりも腫瘍組織 (中央値 3.0%) において有意に高い率を占めた。また腫瘍組織から分離した MNC の中で樹状細胞に属すると思われる CD14-CD1a+細胞数および CD14-CD83+細胞数は 0.31%、0.13%でその細胞数は腫瘍組織と非腫瘍部正常粘膜間で有意差を認めなかった。

同時に 5 例において腫瘍組織と非腫瘍部正常粘膜の CD14、CD68、CD1a、CD83 による免疫組織化学染色を行った。腫瘍組織、非腫瘍部正常粘膜ともに CD14 陽性細胞は CD68 陽性細胞とほぼ同様の分布様式を示した。また、CD1a、CD83 陽性細胞は腫瘍の先進部に多く認められる傾向にあったが、CD14 陽性細胞よりは少数で散在性であった。染色を行った 5 例で同様の結果が得られ、flow cytometry の解析結果と矛盾しなかった。

CD14 と CD68、および CD14 と EMA (epithelial membrane antigen) の二重蛍光染色をおこない flow cytometry で解析したところ、腫瘍部、非腫瘍部正常粘膜ともに CD68-CD14+細胞や CD68+CD14-細胞よりも CD68+CD14+細胞の数が優位であり、また EMA と CD14 の二重陽性細胞はきわめて少数であった。

また腫瘍組織の CD14+細胞の表面抗原解析の結果、B7.2 (CD80)、HLA-DR がそれぞれ中央値で 88.1%、94.3%と高率で陽性、B7.1 (CD80)、CD40 もそれぞれ中央値で 47.9%、23.6%

と一部陽性であった。一方、非腫瘍部大腸粘膜での CD 14 細胞の陽性率は B 7.1 (CD 80), B 7.2 (CD 80), HLA-DR がそれぞれ中央値で 65.9%, 94.0%, 91.5%と腫瘍組織における陽性率と有意差が無く、CD 40 についてはむしろ腫瘍組織よりも高い発現 (47.7%) を認めた。腫瘍組織から分離した CD 14+細胞数およびその細胞群の B 7.1, B 7.2, CD 40, HLA-DR の発現と臨床病理学的因子との相関を検討したが有意な相関は認めなかった。

結 論

以上より、大腸組織において CD 14 は CD 68 陽性細胞とは一部異なった細胞群を含む単球・マクロファージ系細胞のマーカーであり、大腸癌では CD 14 陽性マクロファージが特に腫瘍先進部を中心に多く集簇していることが明らかとなった。これらの細胞は B 7.2, HLA-DR が高率で陽性で、また B 7.1 や CD 40 も 20~50%程度陽性であり、何らかの免疫学的活性化を受けた細胞群であることが示唆された。

審査結果の要旨

大腸癌局所における免疫系細胞の果たす役割を解明するために、特にこれまでほとんど検討されていない CD14 陽性細胞を中心に、単核細胞（以下 MNC）の分離と flow cytometry（以下 FCM）による解析を行った。

得られた MNC 中の CD14+細胞の率は非腫瘍部正常粘膜よりも腫瘍組織において有意に高い率を占めた。また腫瘍組織から分離した MNC の中で樹状細胞に属すると思われる CD14-CD1a+細胞数および CD14-CD83+細胞数は腫瘍組織と非腫瘍部正常粘膜間で有意差を認めなかった。

同時に 5 例において腫瘍組織と非腫瘍部正常粘膜の CD14, CD68, CD1a, CD83 による免疫組織化学染色を行ったところ、腫瘍組織、非腫瘍部正常粘膜ともに CD14 陽性細胞は CD68 陽性細胞とほぼ同様の分布様式を示した。また、CD1a, CD83 陽性細胞は腫瘍の先進部に多く認められる傾向にあったが、CD14 陽性細胞よりは少数で散在性であった。

CD14 と CD68 の二重蛍光染色をおこない FCM で解析したところ、腫瘍部、非腫瘍部正常粘膜ともに CD68-CD14+細胞や CD68+CD14-細胞よりも CD68+CD14+細胞の数が優位であった。

また腫瘍組織の CD14+細胞の表面抗原解析の結果、B7.2 (CD80), HLA-DR が高率で陽性、B7.1 (CD80), CD40 も一部陽性であった。一方、非腫瘍部大腸粘膜での CD14+細胞の陽性率は B7.1 (CD80), B7.2 (CD80), HLA-DR が腫瘍組織における陽性率と有意差が無く、CD40 についてはむしろ腫瘍組織よりも高い発現を認めた。

以上より、大腸組織において CD14 は CD68 陽性細胞とは一部異なった細胞群を含む単球・マクロファージ系細胞のマーカーであり、大腸癌では CD14 陽性マクロファージが特に腫瘍先進部を中心に多く集簇していることが明らかとなった。これらの細胞は B7.2, HLA-DR が高率で陽性で、また B7.1 や CD40 も 20~50%程度陽性であり、何らかの免疫学的活性化を受けた細胞群であることが示唆された。

これまで大腸癌組織におけるマクロファージや樹状細胞の形態学的研究としては、CD68 や CD83 をマーカーにしたものはこれまでに報告があった。しかし CD14 陽性細胞について検討した報告はこれまでになく、その形態学的特徴には不明な点が多い。本研究は CD14 陽性細胞の形態学的特徴をその表面表面抗原を中心に明らかにしており、学位論文として十分に値するものであると考える。