

以上より、胆膵管結紮がセルレインによる過剰分泌刺激に先行した場合に、浮腫性膵炎が出血性膵炎へと重篤化することが明らかとなった。本研究成果は、従来不明であった胆石性膵炎の重症化機構解明の端緒となるのみならず、胆石性膵炎の初期治療における胆膵管ドレナージの重要性を支持する理論的根拠となり、臨床的意義も高い。さらに、生理的な膵炎重症化モデルを新規に作成した意義も併せ持っており、本研究は、胆石性膵炎に関する重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。よって、本研究者は、医学博士の学位を得る資格があると認める。

氏名	まつ ぎき とも ひに 松 崎 智 彦
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医 第 8 7 7 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	大腸癌患者における末梢血単珠グルタチオン含量 と腫瘍局所免疫機構との関連

論文審査委員 (主査)	教授	塩 崎	均
(副主査)	教授	植 村	天 受
(副主査)	教授	宮 澤	正 顯

論文内容の要旨

【目的】

癌免疫治療の奏功には、腫瘍周辺間質(ストローマ)の発達と癌局所リンパ球浸潤の予測が重要である。我々は癌局所レドックス状態を相推し得る末梢血単球(Mo)グルタチオン(GSH)含量に着目、同含量からストローマの発達、癌局所リンパ球浸潤および予後の予測が可能か否かについて検討した。

【方法】

未治療初発大腸癌患者 28 例に術前採血し、Mo を分離、蛍光染色を行い、MoGSH スコアを算定した。また術後、摘出病理標本より腫瘍最深部付近ストローマの表面積(%)を測定、ストローマスコアを算定した。さらに免疫染色を行い、癌局所リンパ球浸潤を評価した。

【成績】

MoGSH スコアとストローマスコアには有意な相関が認められた(P<0.05)。さらにロジスティック回帰分析を行ったところ、MoGSH スコアが腫瘍局所リンパ球浸潤に関連する有意な因子であることが明らかとなった(P<0.05)。さらに、外科的治療切除(根治度 A)の手術が施行された 24 例をリンパ球浸潤の有無で 2 群に分け、再発の有無を検討したところ、再発例はリンパ球浸潤ありで 16 例中 0 例に対し、浸潤なしで 8 例中 2 例であったが、統計学的な有意差には至らなかった(P=0.101)。

【考察】

腫瘍周辺の間質反応を論じる場合には腫瘍原発巣の組織や間質への浸潤細胞の内容が重要である。大腸癌は分化型腺癌(高分化、中分化)が多く、リンパ球浸潤による間質反応が高度で、その予後も他の消化管系腫瘍と比較して良好であることが知られている。本研究でも低分化型腺癌は 28 例中 1 例であった。また本研究で我々は、GSH レベルの高い Mo の存在する患者において、癌局所でストローマの発達が良好で、かつ癌細胞巣内へのリンパ球浸潤が著しいこと、さらに癌細胞巣内へのリンパ球浸潤の有無が再発を示唆するとの結果を得た。それはすなわち、GSH レベルの高い Mo の存在する患者において、より高い頻度で抗腫瘍免疫応答が惹起される可能性を示唆するものであり、癌細胞巣内へのリンパ球浸潤に関してストローマスコアよりも MoGSH スコアが有意の因子であったことも考え合わせると、腫瘍局所のレドックス状態が還元型 Mo 優位、Th1 優位であれば、ストローマの発達および癌細胞巣内へのリンパ球浸潤の抗腫瘍免疫応答能が惹起され易いことが推察された。もちろん、本研究では追跡期間が平均 20.4 か月と短く、また症例数も 24 例と少ないため、再発に関しては統計学的有意差を認めるには至っていない(p=0.101)が、今後さらに追跡を行うとともに、症例の集積を重ねていきたい。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成 17 年 12 月 日 公表予定	出版物名 近畿大学医学雑誌 第 30 巻 第 3 号
	公 表 内 容	平成 17 年 12 月 日 発行予定
	全 文	

論文審査結果の要旨

固形癌に対する免疫療法は術後の再発防止では一定の効果が得られているが、大きな腫瘍塊を形成した進行癌では限界がある。固形癌の縮小条件として、①腫瘍を認識した T 細胞の存在②T 細胞からの interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生③腫瘍を認識した T 細胞の腫瘍増生部位への浸潤、が必要であるとの報告がある。また、活性化された T 細胞が腫瘍塊に最初に浸潤する時、腫瘍塊に均等に浸潤するのではなく、特定の部位(腫瘍辺縁間質: ストローマ)に集中的に浸潤することも報告されている。ストローマとは正常宿主組織と腫瘍組織との間に発生してくる結合組織で、線維芽細胞、マクロファージ(M $\phi$ )、樹状細胞(DC)、好中球、血小板、血管内皮細胞などによって構成されている。ストローマは腫瘍が一定のサイズの塊を形成した後、さらに増殖する時に、必ず必要となる組織である。そして、大腸癌において、ストローマの発達が良く、癌局所へのリンパ球浸潤が著しい場合は予後が良いことが報告されている。しかしながら現時点で、事前にストローマの発達程度および癌局所へのリンパ球浸潤の程度を予測する方法は確立されていない。以上の事柄を背景とし、申請者は末梢血単球(Mo)グルタチオン(GSH)含量に着目、同含量からストローマの発達、癌局所リンパ球浸潤および予後の予測が可能か否かについて検討した。

ストローマ形成という宿主間質反応と抗腫瘍免疫応答については、スキルス胃癌などでは相関を否定する報告もあるが、本研究は未治療初発の結腸癌 10 例、直腸癌 18 例、計 28 例の大腸癌担癌患者を対象としたため、分化型腺癌(中分化型腺癌および高分化型腺癌)が大半を占める結果となり、ストローマ形成量が宿主の抗腫瘍免疫応答を反映するとの仮説が成立するものと考えられた。次に実験方法であるが、MoGSH 含量の測定は Monochlorobimane を用いた蛍光染色法を選択した。この方法は Mo を Monochlorobimane で蛍光染色後、蛍光顕微鏡で観察、CCD カメラにて撮影し、Photoshop を用いて、画像をグレースケールに変換後、さらに白黒反転し、画像中の Mo の濃淡を測定。256 階調の色調に応じて、測定値 20 未満を強陽性、20 以上 50 未満を中陽性、50 以上を弱陽性と分類し、さらに、各細胞数を数え、強陽

性 Mo%X5+中陽性 Mo%X3+弱陽性 Mo%X1=MoGSH スコアとして算定するものである。この MoGSH スコア算定法は生化学的に細胞内 GSH 含量を測定した値に近似するように共同研究者の宇野らが用いた方法に準じている。蛍光染色による GSH 含量の測定は 3-4ml の血液で測定が可能であり、従来の生化学的 GSH 含量の測定に 30-40ml 以上の血液が必要であることを考えあわせると、患者への負担も少ないという利点がある。それゆえ、従来よりも頻回の検査が可能となり、臨床的に有用な可能性があると考える。ストローマ形成の評価と癌巣内へのリンパ球浸潤の評価はともに腫瘍最深部付近で 3 視野を任意に選択し、それぞれ占有面積と浸潤リンパ球の個数を検鏡、測定した。測定エリアを腫瘍最深部に局限し、3 視野で測定とすることでバラツキは軽減したものと考えた。再発の有無は全症例を 2005 年 7 月 31 日まで追跡(5ヶ月~33ヶ月:平均 20.4ヶ月)し、再発の有無を確認した。また、統計処理は MoGSH スコアとストローマスコアなどの相関は Pearson の相関係数を用いて検定、リンパ球浸潤の有無による 2 群間の各スコアの比較は一元配置分散分析法を用いた。癌巣内へのリンパ球浸潤の因子解析はロジスティック解析、癌巣内リンパ球浸潤と再発の相関検定は Fisher の正確確率計算法を用い、すべて  $p < 0.05$  を有意差ありとした。以上は統計学的に妥当であると判断した。研究成績に関しては、MoGSH スコア、ストローマスコアともに stage との間に有意な相関は認められなかったが、MoGSH スコアとストローマスコアの相関について、症例ごとに両スコアの相関を検討したところ、有意な相関関係が認められた。癌巣内へのリンパ球浸潤については、全 28 例のうち癌巣内へのリンパ球浸潤が全く認められなかったものが 8 例あり、20 例にはリンパ球浸潤が認められた。リンパ球浸潤が認められた 20 例の内訳は浸潤が軽度なものが 18 例、中等度なものが 1 例、高度なもの 1 例であった。この結果より、リンパ球浸潤の程度を解析の対象とするのは困難と考え、浸潤の有無を解析の対象とした。癌巣内へのリンパ球浸潤について、発生要因を検討するために、MoGSH スコア、Stage、年齢、ストローマスコアの 4 つと癌

癌巣内へのリンパ球浸潤の有無についてロジスティック回帰分析を行った。その結果、MoGSH スコアのみが癌巣内へのリンパ球浸潤の発生に有意の影響を与える因子であった。癌巣内へのリンパ球浸潤と再発については、外科的治癒(根治度 A)の手術が施行された 24 例を癌巣内への(リンパ球)浸潤の有無で 2 群に分け、両群間の MoGSH スコア、ストローマスコアおよび再発の有無について検討した。24 例の追跡期間は平均: 18.1±9.9 で、両群間に有意差はない。ストローマスコアおよび MoGSH スコアを比較した結果は、両スコアとも癌巣内へのリンパ球浸潤ありのグループで有意に高かった。再発を認めた 2 例はいずれも癌巣内へのリンパ球浸潤なしのグループであった。リンパ球浸潤を認めたグループ、16 例には再発例は認めなかった。さらに、再発の有無とリンパ球浸潤の有無について検討したところ、両者には再発の頻度に有意差は認められなかった。因子解析において本研究では 4 つの因子についてのみ解析を行っているが、さらに幾つかの因子を加えて多変量解析を行うことが望ましいと考える。また、申請者も認めるところであるが、本研究では症例数が少なく、追跡期間も短い。さらなる症例の集積および追跡期間の延長が望まれる。

本研究では大腸癌患者の末梢血 MoGSH を測定することで原発巣のリンパ球浸潤程度を類推でき、癌患者の免疫応答能が推定できることが示された。本法は今後の免疫療法の指標に応用できる可能性があり、臨床的にも意義の高い論文である。