

## 【7】

氏 名	きく ち まいこ 菊 池 真維子
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第723号
学位授与の日付	平成31年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (腫瘍外科学)
学位論文題目	Significance of expression of complement C4d in esophageal squamous cell carcinoma (食道扁平上皮癌における補体C4dの発現の意義)
論文審査委員	(主査) 教授 矢 澤 卓 也 (副査) 教授 窪 田 敬 一 教授 入 澤 篤 志

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背 景】

癌の分化と進展における免疫系の働きには、以下の2つの理論が考えられている。1つ目は、長期の炎症が癌化を促し、さらに癌化を進展させるという古典的理論、2つ目は、免疫は癌細胞を排除するだけでなく、同時に免疫原性の低い癌細胞を増殖させるというcancer immunoediting論である。

補体は血清中に存在し、免疫反応や炎症反応に関与するタンパク質の総称であり、自己防衛のための異物除去反応を担い、食作用や溶菌などにより病原菌除去の働きを行う。また、補体は古典的経路、マンノース結合レクチン経路、第2経路の3つの経路により活性化され、膜侵襲複合体を形成して病原菌を溶菌する。

近年様々な癌種において、補体による古典的経路の活性化が癌化に関わることが報告されている。補体活性化の分解産物であるC4dは、補体古典的経路の活性化に伴い組織への沈着が認められる。C4dは周囲組織とチオエステル結合を形成するため、他の補体および補体分解産物に比べて組織中に長く定着し、補体活性が残存しやすい。そのため、補体活性および免疫複合体の免疫学的証拠として有用であるとされ、腎移植での抗体関連拒絶反応の診断基準にも用いられ、免疫反応の検討に使用されている。

C4dは、肺癌において予後と関連し、早期診断のマーカーとして有用であることが示唆されている。さらに肺扁平上皮癌と頭頸部扁平上皮癌は遺伝子異常の観点から類似点があることが分かり、増殖や免疫関連経路の活性化の類似点が示されていることから、肺癌でのC4dの有用性の報告を受け、

頭頸部癌においても解析が行われ、腫瘍の進行度と臨床病理学的因子との関連が報告されている。

## 【目 的】

食道扁平上皮癌におけるC4dの検討に関する報告はこれまでに認められていない。本研究では補体古典的系路の活性化に伴うC4dの発現が、食道扁平上皮癌における発癌および進展、予後と関連を示すか否かを検討することを目的とした。

## 【対象と方法】

2009年5月から2015年3月までに当科において手術を施行した食道癌患者中、術前に化学療法または化学放射線療法を施行していない扁平上皮癌114例を対象とした。研究を行うにあたり、手術施行前に全例から包括的同意を得た。

食道癌組織中におけるC4dの発現を免疫組織染色により検討し、臨床病理学的因子及び予後等との相関を検討した。免疫組織染色において、最深部の癌細胞巢の染色強度が同一切片内の基底細胞巢の染色強度と同等以上のものを染色陽性、それ以外のものを染色陰性として染色強度の評価を行った。統計学的検討は $\chi^2$ 検定またはt-testを用いて行った。生存曲線はKaplan-Meier法を用い、生存曲線の比較にはlog-rank検定を用いて評価を行った。すべての解析において $p < 0.05$ の場合を統計学的有意とした。

## 【結 果】

食道扁平上皮癌において、C4dの発現減弱と深達度、リンパ節転移、リンパ管侵襲、進行度に統計学的有意差を認めた。C4dの発現が減弱すると予後が悪くなる傾向を認めたが、統計学的有意差は認められなかった。

## 【考 察】

前述のように、C4dは腎移植での抗体関連拒絶反応の診断基準にも用いられており、その発現は非自己を排除しようとする免疫系の働きを示すものであると考えられた。咽頭癌や肺癌においては、癌の進行に伴い免疫組織染色によるC4dの発現は高くなり、さらに予後が不良となる報告が認められているが、これは補体経路の活性化の結果として炎症が遷延して癌化を生じると考え、古典的理論ととらえることが出来る。

一方で、本研究ではC4dの発現の減弱が癌の進行と関連するという結果であった。これは上記の癌種と相反する結果であるが、正常な免疫応答が機能していない、つまりは免疫寛容が働き免疫系が不活性化されている状態であり、膜侵襲複合体による正常な細胞アポトーシスが誘導されないことで、癌細胞が成長していくためではないかと考えられ、cancer immunoediting論が成り立つものと思われる。

以上から、癌種により補体の発現や補体による癌化のプロセスが異なることが考えられた。本研究では、免疫組織染色のみでの検討を行っており、今後の展望としてC4dを初めとした補体タンパク質や補体経路と癌化との関連、さらに細胞死抵抗性と補体の関連についての検討を行いたい。そして、細胞アポトーシスと予後予測因子についての検討も行いたいと思う。

## 【結 論】

本研究では、食道扁平上皮癌における補体C4dの発現が免疫機能を反映し、臨床病理学的因子と関連することが示唆された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

### 【論文概要】

近年様々な癌種において、補体による古典的経路の活性化が癌化に関わることが報告されている。補体活性化の分解産物であるC4dは、補体古典的経路の活性化に伴い組織への沈着が認められる。C4dは周囲組織とチオエステル結合を形成し、他の補体および補体分解産物に比べて組織中に長く定着して補体活性が残存しやすいとされ、肺癌および頭頸部癌において、その発現と腫瘍の進行度および臨床病理学的因子との関連の報告がされている。申請論文では、食道扁平上皮癌におけるC4dの発現が、食道扁平上皮癌における発現および進展、予後と関連を示すか否かを検討することを目的とし、術前に化学療法または化学放射線療法を施行していない114例の摘出標本を用いて免疫組織染色を行い、C4dの発現と臨床病理学的因子と予後の検討を行っている。

結果は、食道扁平上皮癌においてC4dの発現の減弱と壁深達度、リンパ節転移、リンパ管侵襲、進行度に統計学的有意差を認め、C4dの発現が減弱すると予後が悪くなる傾向を認めたが、統計学的有意差は認められなかった。癌腫により補体の発現や癌化のプロセスが異なることが考えられ、食道扁平上皮癌における補体C4dの発現は免疫機能を反映し、臨床病理学的因子と関連することが示唆されたと結論づけている。

### 【研究方法の妥当性】

申請論文では、単一施設の食道扁平上皮癌切除標本を用いて、標準的な実験方法である免疫組織染色法により補体C4dの発現の評価を行っている。研究対象の臨床病理学的因子や予後を解析している統計学的手法も適切であり、本研究は妥当と判断される。

### 【研究結果の新奇性・独創性】

補体C4dの発現に関する報告は、肺癌や頭頸部癌では認められているが、食道扁平上皮癌ではこれまでに認められておらず、申請論文が初めての報告である。食道癌と免疫系の検討を行い、癌の進展と補体免疫による発癌の検討を行い、この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

### 【結論の妥当性】

申請論文は、多数の食道扁平上皮癌症例を適切な対象設定に基づき、確立された実験手法と統計解析を用いて、補体C4dの発現と臨床病理学的因子との検討を行っている。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、腫瘍学、病理学、免疫学などの関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

### 【当該分野における位置付け】

申請論文は、食道扁平上皮癌における補体C4dの発現と臨床病理学的因子および予後との検討を行

い、補体C4dの発現の減弱が癌の進行と相関することを示している。食道扁平上皮癌と免疫系には未だ検討すべき点が多々あるが、この研究結果は食道扁平上皮癌のみならず、他の癌腫の研究の一助にもなる大変意義深い研究と評価ができる。

**【申請者の研究能力】**

申請者は、臨床腫瘍外科学や免疫学を学び実践した上で仮説を立て、実験計画を立案した後に、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌に掲載されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

**【学位授与の可否】**

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

**(主論文公表誌)**

Anticancer Research

(36 : 4553-4557, 2016)