

学位論文題名

胃癌における RCAS1 および FasL の発現と
腫瘍内浸潤リンパ球との関連に関する研究

学位論文内容の要旨

【背景と目的】新規癌関連抗原である、receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells (RCAS1) は、ヒト子宮腺癌細胞株 (SiSo) を免疫原として作成されたマウスモノクローナル抗体 (22-1-1 抗体) により認識される膜抗原分子である。RCAS1 は子宮癌、卵巣癌、肺癌、大腸癌等のヒト癌組織に高頻度に発現し、活性化 T 細胞、B 細胞、NK 細胞といった各種免疫細胞にアポトーシスを誘導することから、癌細胞を免疫監視機構から回避させる役割を担っている可能性が示唆されている。また、胃癌組織における RCAS1 の発現に関しては、細胞質内の分布様式の差異が腫瘍の進展に関連しているとの報告があるが、腫瘍内浸潤リンパ球 (TILs) のアポトーシスとの関連性についての詳細な報告はない。

一方、Fas リガンド (FasL) は細胞表面レセプターである Apo-1/CD95 を発現しているリンパ系細胞に対しアポトーシスによる細胞死を惹起する。FasL により誘導されるアポトーシスが免疫寛容の獲得、T 細胞の活性化、および免疫反応の完了などの役割を通して免疫機構の制御に貢献しているとされている。各種のヒト腫瘍組織において *in vivo* における FasL の発現が報告されており、食道癌および胃癌では FasL の発現が TILs のアポトーシスと関連していることが示されてきた。

本研究では胃癌および前癌病変における RCAS1 および FasL の発現を検討し癌の進展や臨床病理学的因子との関連性について検討した。更に胃癌における RCAS1 発現と TILs のアポトーシスの関連性についても併せて評価した。

【対象と方法】胃癌 54 例、胃腺腫 5 例、腸上皮化生 10 例、正常胃粘膜 5 例を含む組織標本を対象とした。胃癌および胃腺腫の組織標本は 1997 年から 2000 年の間に北海道大学医学部附属病院にて施行された外科的または内視鏡的切除術により、また正常胃粘膜および腸上皮化生の標本は同期間に内視鏡的生検により得たものを使用した。RCAS1、FasL の発現および腫瘍内浸潤リンパ球の程度について、それぞれ 22-1-1 抗体、抗 FasL 抗体および抗 CD45 抗体を用いて免疫組織学的に検討し、またアポトーシスの検出には TUNEL 法を用いた。RCAS1 および FasL の陽性細胞率は、各切片の腫瘍細胞 1000 個中の陽性反応を示

した腫瘍細胞の割合と定義し、発現率のヒストグラムより反応細胞率 5%および 20%を各々のカットオフ値として陽性群と陰性群に分類し、RCAS1 および FasL の発現と臨床病理学的因子との関連を検討した。また胃癌組織の RCAS1 陽性部と陰性部周囲における TILs の浸潤およびそのアポトーシスの定量化に、各々有核細胞数 2000 個中の CD45 陽性細胞数の割合および CD45 陽性細胞 500 個中の CD45/TUNEL 二重陽性細胞の割合を用いた。

【結果】胃癌 54 例中 52 例 (96%) において RCAS1 の発現を、47 例 (87%) において FasL の発現を認めた。RCAS1 および FasL 陽性例と陰性例との間に臨床病理学的因子の有意な差異を認めなかった。胃癌における RCAS1 の発現パターンは 2 通りに分けられ、細胞質内の腺腔側に極性を持って顆粒状に染色されるものを P パターン、細胞質内および細胞膜上にびまん性かつ顆粒状に染色されるものを D パターンとした。分化型胃癌の 39 例中 19 例 (49%) が P パターンを示し、未分化型胃癌の 13 例中全例が D パターンを示した。RCAS1 陽性の胃腺腫および腸上皮化生粘膜は全例 P パターンであった。D パターンを示す胃癌症例は P パターンを示す胃癌症例と比較し病変が大きく ($p<0.01$)、粘膜下層以深への浸潤が多く ($p<0.01$)、またリンパ節転移を多く認めた ($p<0.05$)。Cox 比例ハザード解析ではこれらの臨床因子のうち組織型が最も重要な因子であった。同一切片内で RCAS1 陽性部と陰性部に明確に分離可能であった胃癌 10 症例の解析では、RCAS1 陽性部において TILs の数は減少し ($p<0.01$)、そのアポトーシスの割合は増加していた ($p<0.01$)。一方、FasL の発現と TILs との関連性については、今回検討した胃癌 54 症例全てにおいて癌巣内で FasL 陽性細胞と陰性細胞が混在しており RCAS1 と同様の検討は不可能であった。

【考察】本研究では RCAS1 の発現が胃癌および前癌病変において高頻度にみられることを示した。胃癌における染色パターンは P パターンと D パターンに分けられ、染色パターンの差異は組織型と最も関連していた。RCAS1 は分化型胃癌と未分化型胃癌との間の生物学的あるいは病理発生学的特性の差異に関係している可能性が示唆され、RCAS1 の分布の差異が腫瘍の悪性化、進行あるいは免疫細胞の攻撃などの機能の差異に関連しているものと考えられた。また本研究では TILs の浸潤に対する RCAS1 発現の影響を解析し、RCAS1 の発現が TILs の浸潤の減少および TILs のアポトーシスの増加と有意に相関することを示した。腫瘍細胞における RCAS1 の発現は、TILs のアポトーシスを誘導することによって腫瘍の宿主免疫監視機構からの回避に寄与している可能性が示唆された。

【結語】胃癌において RCAS1 の発現が腫瘍の宿主免疫監視機構からの回避に寄与していることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 正 治
副 査 教 授 長 嶋 和 郎
副 査 教 授 浅 香 正 博
副 査 教 授 秋 田 弘 俊

学位論文題名

胃癌における RCAS1 および FasL の発現と 腫瘍内浸潤リンパ球との関連に関する研究

新規癌関連抗原である RCAS1 は子宮癌、卵巣癌、肺癌、大腸癌等のヒト癌組織に高頻度に発現し、各種免疫細胞にアポトーシスを誘導することから癌細胞を免疫監視機構から回避させる役割を担っている可能性が示唆されている。また、胃癌組織における RCAS1 の発現に関しては、細胞質内の分布様式の差異が腫瘍の進展に関連しているとの報告があるが、腫瘍内浸潤リンパ球 (TILs) のアポトーシスとの関連性についての詳細な報告はない。一方、Fas リガンド (FasL) は細胞表面レセプターである Apo-1/CD95 を発現しているリンパ球系細胞に対しアポトーシスによる細胞死を惹起し、食道癌および胃癌では FasL の発現が TILs のアポトーシスと関連していることが示されている。そこで胃癌および前癌病変における RCAS1 および FasL の発現を解析し、癌の進展や臨床病理学的因子との関連性について検討した。さらに胃癌における RCAS1 発現と TILs のアポトーシスとの関連性についても併せて評価した。胃癌 54 例中 52 例 (96%) において RCAS1 の発現を、47 例 (87%) において FasL の発現を認めた。RCAS1 および FasL 陽性例と陰性例との間に臨床病理学的因子の有意な差異を認めなかった。胃癌における RCAS1 の発現パターンは二通りに分けられ、細胞質内の腺腔側に極性を持って顆粒状に染色されるものを P パターン、細胞質内および細胞膜上にびまん性かつ顆粒状に染色されるものを D パターンとした。分化型胃癌の 39 例中 19 例 (49%) が P パターンを示し、未分化型胃癌の 13 例全例が D パターンを示した。RCAS1 陽性の胃腺腫および腸上皮化生粘膜は全例 P パターンであった。D パターンを示す胃癌症例は P パターンを示す胃癌症例に比し病変が大きく ($p<0.01$)、粘膜下層以深への浸潤が多く ($p<0.01$)、またリンパ節転移を多く認めた ($p<0.05$)。Cox 比例ハザード解析ではこれらの臨床因子のうち組織型が最も重要な因子であった。同一切片内で RCAS1 陽性部と陰性部に明確に分離可能であった胃癌 10 症例の解析では、RCAS1 陽性部にお

いて TILs の数は減少し ($p < 0.01$)、そのアポトーシスの割合は増加していた ($p < 0.01$)。一方、FasL の発現と TILs との関連性については、今回検討した胃癌 54 症例全てにおいて癌巣内で FasL 陽性細胞と陰性細胞が混在しており RCAS1 と同様の検討は不可能であった。以上より RCAS1 が分化型胃癌と未分化型胃癌との間の生物学的あるいは病理発生的特性の差異に関係している可能性が示唆され、RCAS1 の分布の差異が腫瘍の悪性化、進展あるいは免疫担当細胞への攻撃などの機能の差異に関連しているものと考えられた。また RCAS1 の発現は TILs の浸潤の減少および TILs のアポトーシスの増加と有意に相関しており、腫瘍細胞における RCAS1 の発現は TILs のアポトーシスを誘導することにより宿主免疫監視機構からの回避に一部寄与することが示された。よって RCAS1 から TILs を防御することが将来有用な治療戦略となり得るものと考えられた。

審査にあたり、副査長嶋教授から 1) 正常胃粘膜における RCAS1 の役割について、2) 生検組織での胃癌における RCAS1 染色の実用性について、3) RCAS1 により誘導されるリンパ球のアポトーシスの経路について、副査浅香教授から 1) RCAS1 の正常胃粘膜と胃癌組織での染色性について、2) 他の正常組織における RCAS1 の染色性について、3) 胃癌における RCAS1 の染色パターンと組織型および深達度との関連についての質問があった。次いで主査西村教授から 1) 癌関連抗原以外の RCAS1 の機能について、2) RCAS1 および FasL の陽性率のカットオフ値について、3) リンパ球とそのアポトーシスの評価方法についての質問があった。また副査秋田教授から文書にて 1) 正常胃粘膜に発現する RCAS1 のリンパ球に対するアポトーシスの誘導、2) RCAS1 受容体またはそれをコードする遺伝子および下流の情報伝達シグナル、3) RCAS1 研究の今後の展望および将来の応用についての質問があった。申請者はこれらの質問に対して自験データと文献を引用して概ね適切に解答した。

この論文は、RCAS1 の胃癌における悪性化および進展の有用なマーカーとしての可能性を示した点、また RCAS1 の胃癌における宿主免疫監視機構からの回避への関与を証明した点で高く評価され、今後広く臨床応用されることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。