

氏 名 生田 大二

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲博士第 839 号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項

学 位 授 与 年 月 日 平成 3 1 年 3 月 8 日

学 位 論 文 題 目 Fibrosis in metastatic lymph nodes is clinically correlated to poor prognosis in colorectal cancer

(転移リンパ節の線維化は大腸癌における予後不良因子である)

審 査 委 員 主査 教授 田中 俊宏

副査 教授 野崎 和彦

副査 教授 久津見 弘

論文内容要旨

※整理番号	846	(ふりがな) 氏 名	いくた だいじ 生田 大二
学位論文題目	Fibrosis in metastatic lymph nodes is clinically correlated to poor prognosis in colorectal cancer (転移リンパ節の線維化は大腸癌における予後不良因子である)		
<p>【目的】</p> <p>線維化を含む癌微小環境は、癌の浸潤および遠隔転移において中心的な役割を果たす。臨床的には癌間質の線維化は発癌の危険因子でとして知られているが、癌の初期には線維化がバリア的な働きで浸潤を抑制するという報告がある一方で、増殖したCAFが癌増殖因子を産生し、抗癌剤抵抗性を誘導するなどの報告があり、癌間質の線維化が生体に及ぼす影響についてはまだ一定の見解が得られていない。さらには、転移リンパ節における間質の線維化については、その分子機構や臨床的意義については未だ不明な点が多い。</p> <p>今回我々は、大腸癌原発腫瘍と転移リンパ節における間質線維化と臨床病理学的因子や生存率について検討し、転移リンパ節における間質細胞の分子機構を解明することを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>当院で2010年から2013年に腺癌以外の組織型、同時多発癌、術前化学療法例を除外した病理学的リンパ節転移を伴う大腸癌切除術症例94症例を後方視的に検討した。原発腫瘍および転移リンパ節の線維化を、α-smooth muscle actin(α-SMA)およびcollagenの発現によって評価した。線維化の分析は、サンプルを200倍視野で5か所ランダムに採取し、腫瘍細胞を除いた間質細胞の染色率をImageJで測定し、平均値を算出した。検討に使用した転移リンパ節に関しては、複数個存在した場合はその中で最大径のものを検討に用いた。</p> <p>【結果】</p> <p>年齢中央値は66歳、男性が59人(62.8%)であった。TNM分類でStageIIIが66例(70.2%)、IVが28例(29.8%)であった。非転移リンパ節と比較して転移リンパ節ではα-SMA、Collagenともに高発現であり(α-SMA, 非転移リンパ節 $1.7 \pm 1.9\%$, 転移リンパ節 $29.5 \pm 8.6\%$, $p < 0.001$; Collagen, 非転移リンパ節 $2.1 \pm 1.7\%$, 転移リンパ</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

節 28.5±15.0%, $p<0.001$)、転移リンパ節における α -SMA と Collagen の発現は相関していた(Pearson 相関係数 0.603)。

転移リンパ節における α -SMA 発現は低発現群が 54 例(57%)、高発現群が 40 例(43%)であった。転移リンパ節における α -SMA 高発現群は、無再発生存率(RFS)および全生存率(OS)の有意な低下を認め(RFS, Log-rank $p<0.001$; OS, Log-rank $p=0.001$)、Cox 回帰分析における OS に対する独立した予後予測因子であった(HR, 1.53; $p=0.034$)。

一方、原発腫瘍における α -SMA および collagen の高発現は、OS の低下と関連していたが、Cox 回帰分析では有意な因子ではなかった。

転移リンパ節の間質では、蛍光免疫二重染色で Podoplanin と α -SMA が共発現している細胞が確認された。また免疫染色では、Vimentin、CD73、PDGFRA の発現が陽性であり、CD31 の発現は陰性であった。

【考察】

これまでの研究において大腸癌の予後は、TNM 分類で示されている腫瘍深達度、リンパ節転移個数、遠隔転移、さらには腫瘍の血管・神経・リンパ管浸潤、術前血清 CEA 値などで予測されていた。今回の我々の研究は、上記に一致する因子に加えて、大腸癌における転移リンパ節の間質線維化が、再発および生存率の予測因子となる可能性を示唆した。

リンパ節の間質に存在し、その骨格を形成する細胞は Fibroblastic reticular cell(FRC)であることが知られている。FRC はリンパ節の傍皮質領域でコラーゲンを産生し、Podoplanin を発現している間葉起源の筋線維芽細胞である。また FRC は Podoplanin、PDGFRA、 α -SMA、CD73、Vimentin などを発現し、さらに CD31 や CD45 の発現の欠如により、その他のリンパ節の間質細胞と区別される。具体的な FRC の生体での役割としては、前述のリンパ節間質における骨格形成の他に、細菌およびウイルス感染時に防御的に作用することが報告されているが、未だ不明な点が多い細胞である。今回我々は、 α -SMA と Podoplanin の 2 重免疫染色によって、大腸癌転移リンパ節の間質線維化を担う細胞の一部が FRC であることを初めて証明した。しかしながら、FRC 増生のメカニズムについては十分には解明できておらず、今後の課題である。

【結論】

大腸癌転移リンパ節の間質における高い α -SMA および collagen の発現で表現される線維化は、予後不良予測因子であった。また、転移リンパ節における主要な間質細胞が FRC であることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	846	氏 名	生田大二
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) ※明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと</p> <p>本論文では、大腸癌原発腫瘍と転移リンパ節の間質繊維化と生存率の関係を検討した。同時に転移リンパ節の繊維化を担う間質細胞の分子機構を検討した。リンパ節転移を伴う大腸癌切除例 94 例を後方視的に、繊維化を α-smooth muscle actin(α-SMA)および collagen の発現によって評価し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 転移リンパ節における α-SMA 発現は低発現群が 54 例 (57%)、高発現群が 40 例 (43%) であった。 2) 転移リンパ節における α-SMA 高発現群は、無再発生存率および全生存率 (OS) の有意な低下を認め、Cox 回帰分析では OS に対する独立した予後予測因子であった。 3) 一方、原発腫瘍における α-SMA および collagen の高発現は、OS の低下と関連していたが、Cox 回帰分析では有意な因子ではなかった。 4) 転移リンパ節で繊維化を担う細胞は、α-SMA と Podoplanin を共発現しており、Fibroblastic reticular cell がその一部であることを明らかとした。 <p>本論文は、大腸癌転移リンパ節の線維化は予後不良予測因子であることについて新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判定されたので博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 569 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 31 年 1 月 29 日)</p>			