

氏 名 村井 亮介

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲博士第 842 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 Prediction of intravesical recurrence of non-muscle-invasive bladder cancer by evaluation of intratumoral Foxp3⁺ T cells in the primary transurethral resection of bladder tumor specimens

(筋層非浸潤性膀胱癌における経尿道的膀胱腫瘍切除組織内 Foxp3⁺ T 細胞の評価による再発予知)

審 査 委 員 主査 教授 杉原 洋行

副査 教授 扇田 久和

副査 教授 依馬 正次

論 文 内 容 要 旨

| | | | |
|--|--|---------------|----------------------|
| ※整理番号 | 849 | (ふりがな) 氏 名 | (むらい りょうすけ) 村井 亮介 |
| 学位論文題目 | Prediction of intravesical recurrence of non-muscle-invasive bladder cancer by evaluation of intratumoral Foxp3 ⁺ T cells in the primary transurethral resection of bladder tumor specimens (筋層非浸潤性膀胱癌における経尿道的膀胱腫瘍切除組織内 Foxp3 ⁺ T 細胞の評価による再発予知) | | |
| <p>【目的】</p> <p>制御性 T 細胞 (Treg) は抗腫瘍免疫応答を抑制する T 細胞で、核内の Foxp3 タンパク発現が一つの特徴とされる。膀胱癌において Treg は進行癌における予後因子としての報告があるが非進行癌での役割は明らかでなかった。筋層非浸潤性膀胱癌の患者の生命予後は良好であるが再発の頻度が高いことが問題となる。そこで、本研究では初発筋層非浸潤膀胱癌において Treg の浸潤が膀胱内再発の因子となるかについて検討した。</p> <p>【対象と方法】</p> <p>滋賀医科大学附属病院において 2001 年 1 月から 2009 年 6 月の間に初発膀胱癌に対して経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TURBt) を施行し、術後 3 か月以上の定期的な経過観察が可能であった 115 例を対象とした。初回 TURBt 時に採取されたホルマリン固定パラフィン包埋組織からスライドを作成し、抗 CD3 抗体・抗 Foxp3 抗体を用いて二重免疫染色を行い蛍光標識した。共焦点顕微鏡を用い、対物レンズ 40 倍で腫瘍周囲間質を 5 か所ずつ観察し、CD3 陽性細胞を T リンパ球、CD3 および Foxp3 共陽性細胞を Treg と定義して T リンパ球における Treg の割合を算出した。Treg の割合と臨床・病理学的因子との関連性を検討し、予後との相関については recurrence free survival を Kaplan-Meier 法で検討した。正常コントロールとして、非癌患者の剖検例で保管されている膀胱組織 14 例を使用した。研究にあたり、滋賀医科大学倫理審査委員会の承認を得た (承認番号 27-117)。</p> <p>【結果】</p> <p>115 例における Treg 割合の中央値は 17.1%、正常膀胱粘膜 14 例では 2.6%であり、Treg 割合は有意に癌組織周囲が多かった。対象の 115 例をアメリカ泌尿器科学会の筋層非浸潤膀胱癌診療ガイドラインに沿って低リスク群・中リスク群・高リスク群に分類し Treg 割合を比較すると、低リスク群 (32 例) の Treg 割合の中央値は 11.4%、中リスク群 (45 例) では 16.8%、高リスク群 (38 例) では 22.0%であり、リスクが高いほど Treg 割合は高値であった (p=0.01, Kruskal-Wallis test)。Treg 割合と再発の関連性を検討するため、ROC 曲線から算出した Treg=17.98%を境界として Treg</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。

low・Treg highの2群に分け、Cox 比例ハザードモデルによる解析を行なった。単変量解析では、Treg 割合は再発と有意に相関した (Hazard ratio:2.03, 95%CI: 1.21~3.43, $p=0.008$)。筋層非浸潤膀胱癌の再発に影響する因子として病理学的悪性度、浸潤度、術後膀胱注入治療施行の有無、喫煙があげられるため、これらにTreg 割合を加えて多変量解析を施行すると、術後補助膀胱注療法の有無とTreg 割合が独立した予後因子であった。Treg low・Treg highの2群間でKaplan-Meier 法を用いて再発率を比較すると、全体ではTreg high 群で有意に再発率が高かった ($p=0.006$)。リスク分類ごとで術後膀胱注入治療の選択が異なる（低リスク群は無施行、中リスクは無施行もしくはピラルビシン膀胱注入、高リスクはBCG 膀胱注入が多く選択されている）ため、リスク分類ごとでサブ解析を行い同様に検討すると、いずれもTreg high 群で再発率が高い傾向であったが統計学的な有意差は認められなかった。ただ、その中で高リスク群に対しBCG 膀胱注入治療を行なった患者群の検討では、Treg high の患者では13 例中4 例に再発が認められたのに対し、Treg low 群では10 例中に再発は認められなかった ($p=0.070$)。BCG 膀胱注入治療は患者自身の免疫を介した治療法であるため、膀胱癌のBCG 抵抗性にTreg が関与している可能性が考えられた。その機序の一端を探求するため、BCG 膀胱注入治療前後の膀胱組織を入手できた10 例でBCG 治療前後のTreg の浸潤量の変化について検討した。結果、BCG 膀胱注入治療後は膀胱粘膜内のCD3 陽性細胞数は増加しTreg 数は変化しない傾向であった。

【考察】

筋層非浸潤膀胱癌では、再発リスクの高い症例群でTreg 割合が高く、いわゆる悪性度が高いほどTreg の腫瘍周囲への浸潤量が多い傾向が示唆された。また、術後膀胱注入治療の治療修飾が加わっても、Treg 割合が高いほど再発率が高く、初発時の膀胱腫瘍周囲組織へのTreg 浸潤は膀胱内再発における予後予測因子となると考えられた。膀胱内注入療法の一つであるBCG 膀胱注入治療は免疫を介した治療であり、本研究の結果からもTreg がBCG 抵抗性の要因となっている可能性が考えられたが、その機序などについては今後の研究の進展が望まれる。

【結論】

筋層非浸潤膀胱癌で、腫瘍周囲組織へのTreg 浸潤は経尿道的膀胱腫瘍切除術後の膀胱内再発に関与している可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

| | | | |
|---|-------|-----|-------|
| 整理番号 | 8 4 9 | 氏 名 | 村井 亮介 |
| 論文審査委員 | | | |
| <p>本論文では、初発筋層非浸潤膀胱癌 115 例を用いて、制御性 T 細胞（Treg）の腫瘍内浸潤が膀胱内再発のリスク因子となるか、等について検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) Foxp3+ Treg の CD3+ T 細胞に対する割合（Treg 割合）は正常組織より癌で高く、また低リスク群から高リスク群へと、癌の悪性度が高くなるほど高値となった。2) Treg 割合と再発の関係を、Cox 比例ハザードモデルにより解析すると、術後膀胱注入療法施行の有無と Treg 割合が再発と有意に相関し、また独立した予後因子となった。3) Treg 割合の高い群と低い群との間で Kaplan-Meier 法で再発率を比較すると、全体では Treg 割合の高い群で有意に再発率が高かった。4) リスク分類ごとのサブ解析では、統計的な有意差は認められなかったが、高リスク群への膀胱内 BCG 注入で再発を認めたのは Treg 高値の症例のみで、Treg 低値の症例には再発がなかったことから、膀胱癌の BCG 抵抗性に Treg が関与している可能性が考えられた。 <p>本論文は、筋層非浸潤性膀胱癌の再発予知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断されたので、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 5 5 1 字）</p> <p style="text-align: right;">（平成 3 1 年 1 月 3 1 日）</p> | | | |