

論文の内容の要旨

論文題目 進行下部直腸癌に対する術前化学放射線療法（CRT:chemoradiotherapy）の
治療効果に関する免疫学的検討

氏名 多田訓子

背景

進行下部直腸癌に対して、術前の腫瘍縮小効果を目的として、術前化学放射線療法（CRT : chemoradiotherapy）が行われているが、その効果は患者毎に異なり、十分な効果が得られない場合もある。よって CRT 効果を事前に予測することができれば、効果が期待されない患者に対して、CRT の施行を省くことで、CRT に関連する副作用を回避し、CRT に費やす治療費や時間を免れることが可能となる。

腫瘍内に浸潤しているリンパ球（TIL : tumor infiltrating lymphocytes）の割合、および末梢血中のリンパ球の割合が、CRT の効果と有意に相関することを当教室から報告しており、宿主の免疫能、特に抗腫瘍免疫が CRT の腫瘍縮小効果に重要な役割を果たすと考えられる。抗腫瘍免疫において腫瘍組織内及び末梢血中のリンパ球が重要な役割を果たすことから、CRT の抗腫瘍効果においても特にリンパ球が重要と考えられる。また、腫瘍免疫機構はサイトカインやケモカイン（以下、サイトカイン）により調節されることが知られているが、CRT に伴って産生されるサイトカインおよびサイトカインと免疫細胞の相互作用についての詳細に関する報告は存在しない。

そこで、本研究では、下部直腸癌の CRT 効果を予測するための因子を探索することを目的とし、特に末梢血のリンパ球 subsets に注目して検討を行った。また、CRT 効果と血中サイトカインの関係およびサイトカインと免疫細胞の関係について検討を加えた。

対象および方法

2010年1月から2012年6月に、東京大学医学部附属病院大腸肛門外科にて原発性進行下部直腸癌（臨床病期:T3-4, M0）と診断され、術前化学放射線療法（Chemo-radiotherapy, CRT）の後、手術を施行した45症例を対象とした。（うち、サイトカイン測定の対象患者はCRT前後に採取できた35症例とした。）全症例にCRTを施行し、その6-8週間経過の後、手術的摘出を行った。本研究を遂行するに当たり、東京大学医学部研究倫理委員会の承認を得た後に、研究に関する十分なインフォームドコンセントを行い、全例より同意書を得ている。

末梢血検体は、術前に合計2回、すなわちCRT前に1回目、CRT施行4-6週間後に2回目の検体を採取した。末梢血リンパ球分画(subsets)は、フローサイトメリーにて分析した。末梢血サイトカイン濃度はLuminex法にて測定し、データを分析した。

CRTに対する効果判定は大腸癌取扱い規約の組織学的効果判定基準に基づき、残存する腫瘍細胞の程度に応じて効果が高いHigh-R群と低いLow-R群の2群に分類した。

結果

CRT効果と末梢血中リンパ球の関係：High-R群は、Low-R群に比較し、CRT前のリンパ球数(P=0.019)、特にT(CD3+)リンパ球数(P=0.049)、Th(CD4+)リンパ球数(P=0.042)が高値であった。また、注腸による腫瘍縮小率は、CRT前のT(CD3+)リンパ球数とTh(CD4+)リンパ球数と相関関係を示した。(T(CD3+)リンパ球 P=0.049、Th(CD4+)リンパ球 P=0.042、t検定)

次にCRT前リンパ球数が、病理組織学的CRT効果の予測因子になり得るかについて、ROC曲線を用いて評価した。CRT前のAUC、cut-off値、感度、特異度はそれぞれT(CD3+) :0.733、1,196/ μ l、76%、68%、Th(CD4+) : 0.718、667/ μ l、76%、73%、Tc(CD8+) : 0.671、362/ μ l、88%、54%であった。各々のcut off値を求めて多変量ロジスティック回帰分析のモデルにおいて、CRT前のTh(CD4+)リンパ球数が683cells/ μ l以上をカテゴリーとした場合、オッズ比は5.60（95%信頼区間：2.24-39.72）でCRTの治療効果と優位な関連が認められた。

CRT効果と末梢血中サイトカイン濃度との関係：Low-R群では、CRT後のIL-6(P=0.028)、およ

び TNF- α (P=0.005)濃度が、High-R 群に比較すると、有意に高値であった。CRT 前後のサイトカイン濃度変化とCRT 効果を検討すると、High-R 群では、CRT 前に比較し、CRT 後の sCD40L および CCL5 濃度が減少し、一方、Low-R 群では、CRT 後の IL-6 濃度が有意に増加していた。

sCD40L、および CCL-5 は血小板から主に産生されることが知られており、CRT 前後の血小板数とこれらのサイトカイン濃度の関係について評価・分析した結果、High-R 群において、CRT 前の血小板数と sCD40L 濃度の間に正の相関関係を認めたが、CCL-5 との間には相関を認めなかった。

考察

本検討により、CRT 効果が高い症例 (High-R 群) では、CRT 前の末梢血中 T(CD3+) リンパ球数、Th (CD4+) リンパ球数が有意に高値を示し、腫瘍縮小率と正の相関関係が認められた。また、CRT 前の T (CD3+) リンパ球および Th (CD4+) リンパ球の AUC は高値であり、さらに多変量ロジスティック回帰分析の結果においてもオッズ比は高く、CRT 効果を事前に予測するためのスクリーニング因子になりうることが示唆された。末梢血中のリンパ球 (PBL) と腫瘍組織内のリンパ球 (TIL) の関係についてはいまだ十分に解明されていないが、PBL、TIL 共に抗腫瘍免疫において重要な役割を果たすことが多くの論文で報告されており、本研究においても、T (CD3+) リンパ球、特に Th (CD4+) リンパ球が CRT 効果に関連する抗腫瘍免疫において中心的な役割を果たしていると考えられた。

次に、CRT 効果に関与する免疫機構とサイトカインの関係について検討したところ、CRT 前のサイトカインについては治療効果について明らかな関係は認められなかった。また、CRT 前に比較し、CRT 後に sCD40L が有意に減少し、IL-6 の増加傾向を確認した。CRT 効果別の検討では、High-R 群において、CRT 後の sCD40L、および CCL-5 が有意に減少し、一方、Low-R 群では CRT 後の IL-6 の有意な増加を認めた。IL-6 が大腸癌患者の予後不良に関与することは既に報告されており、本研究での結果は、CRT に伴う組織傷害・炎症を反映し、炎症が抗腫瘍免疫に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。したがって、CRT 後の IL-6 上昇は、CRT 効果不良の指標になる可能性がある。しかし、上記の High-R 群における CRT 後の sCD40L の有意な減少と同

様、CRT 後に確認される変化であることから、事前に CRT 効果を予測するために用いることは困難である。

近年、血小板数と CRT 効果、局所再発、無病率の関係に関する報告がなされており、CRT 前に血小板数増多症を示す症例では CRT 効果が不良であると報告されている。今回の検討では、血小板増多症の症例が少なかったことから、十分な解析が不可能であった。しかし、CRT 施行により High-R 群でのみ有意な sCD40L の減少を認め、血小板と sCD40L、および CCL-5 の濃度変化と併せて考えると、血小板および血小板産生のサイトカインが抗腫瘍免疫を含めた免疫機構に複雑に関与し、CRT 効果に影響を及ぼしている可能性が高いと考えられた。

結語

本研究では、末梢血 T (CD3+)リンパ球数、特に Th (CD4+)リンパ球数が免疫機構を介した CRT 効果に重要な役割を果たしており、CRT 効果の予測因子になり得ると考えた。また、血小板または血小板が産生するサイトカインが抗腫瘍免疫の調節に重要であることが示唆され、今後の更なる研究・発見の累積により血小板、免疫細胞およびサイトカインの複雑な相互作用を明らかにし、CRT 効果の機序が解き明かされ、治療の予想だけでなく治療効果を補助する役割ももつようになることが期待される。