

論文内容要旨

論文題目：甲状腺乳頭癌のリンパ管侵襲におけるマクロファージの役割について

責任講座： 病理診断学講座
氏 名： 権澤 崇允

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景と目的】 甲状腺乳頭癌と濾胞癌はいずれも甲状腺濾胞上皮細胞由来の悪性腫瘍でありながら、その主たる転移様式はそれぞれリンパ行性と血行性転移で対照的であり、その転移様式の相違の理由は解明されていない。一般的に癌細胞がリンパ管侵襲を来すには複数のステップがあるが、そのうちリンパ管新生が大きな役割を担っているとされている。甲状腺癌でもマクロファージの腫瘍免疫への関与が報告されているが、マクロファージと甲状腺癌のリンパ管侵襲の関係性に関する先行論文は 2 編のみであり、マクロファージが分泌する CXCL-8 が癌細胞のリンパ管侵襲を来しやすくする、decoy receptor-3 を発現する乳頭癌の癌細胞が、腫瘍関連マクロファージの M2 への分化を促進するというものである。MMP-2 は基底膜を構成する IV 型コラーゲンなどを分解する酵素であるが、マクロファージや癌細胞に発現して癌の浸潤に関与している。我々は、濾胞癌に比べて乳頭癌で高頻度に見られるリンパ管侵襲にマクロファージが関与するという仮説を立て、その組織切片での証明を試みた。

【材料及び方法】 外科的手術で摘出されたヒト甲状腺乳頭癌と濾胞癌の 10%緩衝ホルマリン固定・パラフィン包埋切片を使用し、甲状腺癌細胞 (TTF-1)、マクロファージ (CD68、CD163、CD206、HO-1)、M2 で発現が亢進する転写因子 (c-Maf) およびリンパ管内皮細胞 (D2-40) に対する免疫染色を施行した。まず、リンパ管の分布を乳頭癌と濾胞癌で比較した。次に、リンパ管侵襲を来す際は、腫瘍の先進部に生じると考え、腫瘍境界部のリンパ管とその周囲のマクロファージの数を乳頭癌と濾胞癌で比較した。さらに、乳頭癌のリンパ管侵襲病変の内外に存在するマクロファージを計測した。加えて、乳頭癌組織での MMP-2 の発現とその局在を RT-PCR、*in situ* RT-PCR および蛍光二重染色で検討した。2 群間の統計学的解析を Mann-Whitney U 検定で行い、2 群間の相関性の検討に Spearman の順位相関係数を用いた。

【結果】 乳頭癌と濾胞癌で腫瘍辺縁でのリンパ管数に有意差はなかった。また、腫瘍辺縁のリンパ管周囲のマクロファージは、いずれのマーカーでも、濾胞癌よりも乳頭癌で増加していた。リンパ管侵襲病変内には癌細胞とともにマクロファージが観察され、M2 マーカーに陽性の細胞数にはリンパ管内外で有意な相関性が見られた。MMP-2 mRNA は非腫瘍性間質細胞にも発現しており、蛍光二重染色で M2 への陽性像を確認した。

【考察】 乳頭癌が濾胞癌に比べてリンパ管侵襲を来しやすいのは、リンパ管新生によるものとは考えにくく、癌細胞のみならずその周囲のマクロファージがリンパ管壁の構造的変化をもたらしている可能性が示唆された。

【結論】 今回の研究により著者は、甲状腺乳頭癌の侵襲リンパ管内外にマクロファージが分布し、リンパ管侵襲と関連している可能性を初めて明らかにした。

平成 30年 1月 18日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：樺澤 崇允

論文題目：甲状腺乳頭癌のリンパ管侵襲におけるマクロファージの役割について

審査委員：主審査委員

石澤 賢一 (石澤)

副審査委員

浅尾 裕信 (浅尾)

副審査委員

欠畑 誠治 (欠畑)

審査終了日：平成 30年 1月 9日

【 論文 審査 結果 要 旨 】

甲状腺乳頭癌と濾胞癌の主たる転移様式は、それぞれリンパ行性と血行性転移と対照的であり、その転移様式の相違の機序は解明されていない。

本研究の申請者は、濾胞癌に比べて乳頭癌で高頻度に見られるリンパ管侵襲にマクロファージが関与するという仮説の元に、乳頭癌と濾胞癌の摘出標本でリンパ管の分布、腫瘍境界部のリンパ管とその周囲のマクロファージ数を比較し、乳頭癌のリンパ管侵襲病変の内外に存在するマクロファージ数を計測した。さらに乳頭癌組織でのMMP-2の発現とその局在をRT-PCR、*in situ* RT-PCR および蛍光二重染色で検討した。

その結果、乳頭癌と濾胞癌で腫瘍辺縁でのリンパ管数に有意差は認められなかった。また、腫瘍辺縁のリンパ管周囲のマクロファージは、濾胞癌よりも乳頭癌で増加していた。リンパ管侵襲病変内には癌細胞とともにマクロファージが観察され、M2 マーカーに陽性の細胞数にリンパ管内外で有意な相関性が見られた。MMP-2 mRNAは非腫瘍性間質細胞にも発現しており、蛍光二重染色でM2での陽性像が確認された。以上より、乳頭癌が濾胞癌に比べてリンパ管侵襲を来しやすいのは、癌細胞と周囲のマクロファージによるリンパ管壁の構造的変化によることが示唆されるとの結論を得た。

今回の研究は、甲状腺乳頭癌の侵襲リンパ管内外にマクロファージが分布し、リンパ管侵襲にマクロファージ、特にM2マクロファージが関連している可能性を初めて明らかにした点、意義が大きい。また同様の手法で、他の癌腫における転移様式とマクロファージとの関連の検討も可能であり、今後の発展が期待される。しかし検討症例の選択過程、使用抗体の対応抗原、*in situ* PCRの方法の記載が不十分である点、*in situ* PCRの陰性コントロールが未提示である点が指摘されたが、質疑応答の結果対応可能と考えられ、これらの点を修正するという条件付きで学位論文に値すると判断した。