

# 論文内容要旨

論文題目：

大腸癌の Tumor budding における Tumor-associated macrophages の役割の解析

責任講座： 外科学第一講座

氏名： 川村 一郎

## 【内容要旨】 (1,200 字以内)

〈背景〉 大腸癌における Tumor budding は、高いリンパ節転移、生存率の悪化などと関連し、予後不良因子として認識されている。一方で、腫瘍周囲に存在するマクロファージ (M $\phi$ ) は tumor-associated M $\phi$  (TAM) と呼ばれ、ヒトの悪性腫瘍の増殖に中心的な役割をしている。しかし、M $\phi$  の各々のサブタイプがどのように budding に関わり、さらに大腸癌の予後に影響を与えるのかは、まだ明らかになっていない。本研究では、大腸癌の腫瘍辺縁における budding の存在状況を正確に評価し、その周囲に現れる TAM のサブタイプを網羅的に調べることで、budding と関わりの深い TAM を同定し、大腸癌の予後との関連を検証した。

〈対象と方法〉 山形大学医学部附属病院で切除術を施行した大腸癌患者 102 例のホルマリン固定・パラフィン包埋組織 (formalin-fixed paraffin embedded; FFPE) を使用した。Budding と各種細胞マーカーを発現している M $\phi$  を検出・計測するため、免疫組織化学染色を実施した。

〈結果〉 Budding high 群 (>20 個/200 倍視野) は Budding low 群 ( $\leq$ 20 個/200 倍視野) と比較して、予後不良であった (全生存期間,  $P = 0.0035$ )。Budding low 群は Budding high 群と比較して、M2b(LIGHT<sup>+</sup>) TAM 数 ( $P = 0.0113$ )、Mox $\cdot$ Mhem(HO-1<sup>+</sup>) TAM 数 ( $P = 0.0119$ )、そして M2d(VEGF<sup>+</sup>) TAM 数 ( $P < 0.0001$ ) が有意に多かった。これらの TAM (M2b, M2d, Mox, Mhem) 数と budding 数は、負の相関関係にあった (M2b ;  $r_s = -0.2248$ ,  $P = 0.0238$ 、M2d ;  $r_s = -0.3780$ ,  $P < 0.0001$ 、Mox $\cdot$ Mhem ;  $r_s = -0.1745$ ,  $P = 0.0810$ )。M2b(LIGHT) low 群 ( $\leq 14.2$  個/200 倍視野) は M2b(LIGHT) high 群 (>14.2 個/200 倍視野) と比較して予後不良であった (全生存期間 ;  $P = 0.0479$ 、無再発生存期間 ;  $P = 0.0982$ )。また、Mox $\cdot$ Mhem(HO-1) low 群 ( $\leq 17.0$  個/200 倍視野) は Mox $\cdot$ Mhem(HO-1) high 群 (>17.0 個/200 倍視野) と比較して、予後不良な傾向にあった (全生存期間 ;  $P = 0.0616$ )。つまり、M2b (LIGHT<sup>+</sup>) TAM、Mox $\cdot$ Mhem (HO-1<sup>+</sup>) TAM の数が少ないほど、予後は不良な傾向にあった。全生存期間、無再発生存期間について、Cox 比例ハザード回帰分析を用いて多変量解析したところ、Stage III $\cdot$ IV のみが独立した予後不良因子であった。

〈考察〉 大腸癌において、budding は予後不良因子であった。そして、budding 数と TAM 数 (M2b, M2d, Mox, Mhem) が負の相関関係にあることを、はじめて明らかにした。また、M2b (LIGHT<sup>+</sup>) TAM、Mox $\cdot$ Mhem (HO-1<sup>+</sup>) TAM の数が少ないほど予後は不良な傾向にあることを、はじめて明らかにした。これらの TAM は budding に関わる重要な因子と考えられる。今後、これらの TAM の具体的なメカニズムについて、明らかにしていく必要がある。

令和3年 1月 12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：川村 一郎

論文題目：大腸癌の Tumor budding における Tumor-associated macrophages の役割の解析

審査委員：主審査委員 永瀬 智



副審査委員 浅尾 裕信



副審査委員 園田 順彦



審査終了日：令和3年 1月 8日

### 【 論文審査結果要旨 】

大腸癌における簇出 (budding) は、高いリンパ節転移や生存率の悪化などに関連し、予後増悪因子として認識されている。一方、腫瘍の浸潤部位におけるマクロファージは tumor-associated macrophages (TAM) と呼ばれ、ヒトの悪性腫瘍の増殖に深く関与している。マクロファージにはいくつかの亜型が存在するが、マクロファージの亜型がどのように budding に関与しているか、予後との関連があるかについては明らかになっていない。本研究では、大腸癌の腫瘍辺縁における budding を評価し、budding と関連の深い TAM 亜型を同定し大腸癌との予後との関連を検証した。

Budding の数と臨床病理学的因子との検討では、budding-Low 群では表在型 (Type0) が有意に少なく ( $p < 0.05$ )、budding-High 群ではリンパ管浸潤が有意に多かった ( $p < 0.05$ )。予後との比較では、単変量解析において budding-Low 群では budding-High 群と比較して、5年生存率と5年無増悪生存率の有意な改善が認められることを明らかにした。

Budding と TAM 亜型との関連では、budding-Low 群は budding-High 群と比較して、LIGHT<sup>+</sup>TAM 数 ( $p = 0.021$ )、VEGF<sup>+</sup>TAM 数 ( $p = 0.003$ )、HO-1<sup>+</sup>TAM 数 ( $p = 0.0095$ ) が有意に多いことを示し、LIGHT<sup>+</sup>TAM 数と VEGF<sup>+</sup>TAM 数は budding 数とは負の相関があることを初めて明らかにした。TAM 亜型と予後との解析については、ROC 曲線によりそれぞれの TAM 亜型のカットオフ値を設定し High 群と Low 群にわけて比較を行ったが、LIGHT-High 群、HO-1-High 群では、OS が延長する傾向がみられたが、有意差は認められなかった。

審査委員会では、1) TAM 亜型が予後因子として有効である可能性を示すためには、Stage II などに限定する、あるいは、完全切除症例に限定した症例で検討する必要がある、2) M2 マクロファージを認識するマーカーはどのように選択したかその根拠を記載する必要がある、3) 既報である肝細胞がんの結果との相違について考察を加える必要である、などの質問・指摘があった。指摘事項を反映した内容に論文を修正することになった。

本研究は、大腸癌における budding 数と TAM 亜型の発現頻度の相関を明らかにした点で新規性を有している。また、LIGHT<sup>+</sup>TAM 数のカットオフ値を設定し進行期や術後治療をそろえ、予後予測マーカーとしての有用性を検証できる発展性も有している。以上のことから、審査委員会では、本研究内容は学位に値するものであると判定した。