

学位論文審査結果の要旨

氏名	藤田 陽平
審査委員	主査 山下 政克 副査 北澤 莊平 副査 増本 純也 副査 疋田 温彦 副査 菊川 忠彦

論文名 口腔扁平上皮癌患者における予後予測因子としてのインターロイキン-8の有用性：インターロイキン-8によるCD163陽性M2マクロファージの誘導

審査結果の要旨

【背景】毎年約50万人の新規扁平上皮癌患者が世界で報告されており、そのうちの半数以上が口腔扁平上皮癌である。口腔扁平上皮癌患者の5年生存率は、早期癌で約90%、進行癌で約40%と、過去40年間で有意には上昇していない。新規治療法として、分子標的治療薬や免疫療法が期待されてはいるが、まだ発展途上の状態である。今回、申請者らは、口腔扁平癌の予後が免疫抑制状態と関連していると考え、免疫抑制状態を反映するバイオマーカーを探索するとともに、免疫抑制状態形成の機序の解明を目指し、研究をおこなった。

【方法】まず、口腔扁平上皮癌患者の術前血清を用いて、予後予測因子のスクリーニングをMultiplex Suspension Array System (IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α) 使用しておこなった。次に、3年以上経過観察可能な根治的切除療法をおこなった患者50例の手術時、または、生検時のパラフィンブロックを使用して、IL-8の発現、CD163陽性細胞の浸潤を免疫組織化学染色で評価した。*In vitro*におけるCD163陽性M2マクロファージの誘導は、健常人末梢血から比重分離法でPBMCを分離後、M-CSF (25 ng/ml) で5日間刺激後、IL-4 (20 ng/ml)/IL-13 (20 ng/ml)、もしくはIL-8 (10 ng/ml)で、さらに2日間刺激しておこなった。誘導状態は、培養終了後、FACS解析にて確認した。また、誘導したマクロファージからのIL-10産生は、ELISA法にて測定した。

【結果】Multiplex Suspension Array System 解析の結果、早期口腔扁平上皮癌患者において、

術前血清中の IL-6 および IL-8 低値患者が、高値患者に比べて優位に OS、DFS が延長していることが明らかとなった。IL-6 と IL-8 は、ともに他の癌種において予後との相関が報告されている炎症性サイトカインであるが、今回は IL-8 に焦点を絞って解析をおこなった。免疫組織化学染色により、腫瘍微小環境下における IL-8 の分泌と CD163 陽性 M2 マクロファージの腫瘍周囲への浸潤度には正の相関が認められ、また、それぞれが独立した予後不良因子となることが明らかとなった。術前 IL-8 値と微小環境下における IL-8 の分泌は、早期癌においては相関している傾向が認められたが、進行癌においては相関が認められなかった。

次に、IL-8 による CD163 陽性マクロファージへの分化誘導能について、健常人末梢血単核球を用いて検討した。その結果、IL-8 を添加して培養することにより、コントロール群に比べ優位に CD163 陽性マクロファージの細胞数が上昇した。さらに、IL-8 添加により分化した CD163 陽性マクロファージからの IL-10 産生が上昇したことから、活性化への関与も示唆された。

【結論】本研究により、腫瘍微小環境下の IL-8 の発現強度、CD163 陽性 M2 マクロファージの浸潤度が、口腔扁平上皮癌の予後予測バイオマーカーとして有用であることが示された。さらに、腫瘍から産生される IL-8 は、バイオマーカーとなりうるだけでなく、CD163 陽性 M2 マクロファージの分化・活性化を介して、腫瘍免疫の抑制に作用している可能性が示唆された。

本論文は、インターロイキン-8 (IL-8) が口腔扁平上皮癌患者における予後予測因子として有用であることを示すとともに、腫瘍部位から産生される IL-8 が、CD163 陽性 M2 マクロファージの分化誘導を介して予後不良の原因ともなりうることを明らかにした論文である。研究は、患者検体を用いた検討から、*in vitro*での CD163 陽性 M2 マクロファージの分化誘導における IL-8 の作用解析まで、幅広くおこなわれており、かつ、明瞭な結果と十分な考察が提示されている。本論文の公開審査会は、2014 年 1 月 21 日に開催された。申請者は、研究内容を明確に発表し、以下の内容ははじめとした多くの質疑に対する的確に応答した。

1) IL-8 産生の有無と口腔扁平上皮癌のタイプについて、2) サイトカインの免疫組織染色の方法論について、3) カットオフ値の設定の仕方を含めた統計学的解析方法について、4) 患者のバックグラウンド (他の疾患の有無など) について、5) 腫瘍局所と所属リンパ節での IL-8 産生と予後の相関の違いについて、6) 好中球や MDSC などの関与について、7) IL-8 の CD163 陽性マクロファージの誘導機構について。

審査委員は本研究を口腔扁平上皮癌の治療成績向上に結びつく成果であると高く評価し、全員一致して本論文が学位論文に値すると判定した。