

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域 消化器外科学教育研究分野 吉田 達哉
(論文題目) Toll-like receptor 3 as a recurrence risk factor and a potential molecular therapeutic target in colorectal cancer (大腸癌における再発リスク因子及び潜在的な分子治療標的としての Toll 様受容体 3)	
(内容の要旨) 【緒言】 大腸癌は、肺癌、乳癌に次いで世界で 3 番目に有病率が高く、そのほとんどは散発性大腸癌である。大腸癌は治癒切除後でも再発することが多く、再発率は II 期で 13.3%、III 期で 30.8% に達している。最近では、少ないリンパ節郭清個数、T4 症例、穿孔症例、低分化癌が再発の高リスク因子として同定されているが、これらの因子はいずれも治療標的となるものではない。したがって、直接的に治療標的となりうる再発リスク因子としての分子標的を同定することは喫緊の課題である。 Toll-like receptor (TLR) はパターン認識受容体であり、病原体由来の pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) だけでなく、内因性の damage-associated molecular patterns (DAMPs) を認識し炎症性サイトカインを誘発することがわかっている。その DAMPs は損傷を受けた細胞のみならず、腫瘍微小環境においても放出されているとされ、DAMPs によって活性化された TLR が悪性新生物に対しどのような作用を示すのかは現在様々な研究が進められている。大腸癌では、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR9 の発現が確認されるが、in vitro での研究がほとんどであり、臨床病理学的研究や予後との関連性についての研究は少ない。本研究では大腸癌における TLR3 の発現と	

臨床病理学的因子及び予後について検討した。

【対象と方法】

2010年1月から2011年12月の間に当院で手術が行われた大腸癌患者264名のうち、予後情報が追跡できたのは113例であり、その中から無作為に抽出した50例を対象とした。それらの手術標本に対しTLR3の免疫染色を行い、その発現の有無と臨床病理学的因子及び予後との相関関係について検討した。また、TLR3陽性ヒト大腸癌細胞株を用いて、TLR3アゴニスト(poly I:C)によって誘導されるケモカインについて real-time PCR 及び ELISA kit を用いて調べた。さらに、手術標本において誘導が確認されたケモカインの免疫染色を行い、TLR3発現とそれらのケモカイン発現との関連性について評価した。

【結果】

50例中、TLR3陰性は14例(28%)であった。TLR3陰性群とTLR3陽性群の臨床病理学的因子を比較すると、TLR3陰性群の方において有意にリンパ節転移陽性例が多いことがわかった。さらに、両群間において全生存率(Overall survival; OS)では差は見られなかったが、5年無再発生存率(Relapse-free survival; RFS)はTLR3陰性群がTLR3陽性群に比べて有意に低かった(46.2% vs 78.1%)。再発に関連すると考えられる因子(分化度、深達度、脈管侵襲、Budding grade、リンパ節転移)を用いて5年無再発生存期間を解析したところ、High-Budding gradeそしてTLR3陰性の2因子が独立した再発リスク因子として抽出された。

大腸癌細胞株における poly I:C を介した TLR3 活性化は、C-C motif chemokine ligand (CCL) 2、CCL5 及び Interleukin (IL) -8 の mRNA 発現及びタンパク発現を誘導した。さらに siRNA を用いて TLR3 のノックダウン細胞ではこれらの発現が抑制され、これらのケモカインは TLR3 に依存して発現することを確認した。

さらに TLR3 陽性の手術標本におけるケモカインの発現を免疫染色にて確認すると、

CCL2、CCL5 および IL-8 の発現が腫瘍細胞の細胞質において確認され、CCL5 および IL-8 は間質細胞でも発現を認めた。

【考察】

TLR3 陰性大腸癌では TLR3 陽性大腸癌に比べリンパ節転移陽性例が多く、5 年 RFS が有意に短い事がわかった。さらに大腸癌細胞における TLR3 の非発現は独立した再発リスク因子である事を明らかにした。また TLR3 陽性の大腸癌細胞株において CCL2、CCL5 そして IL-8 の TLR3 に依存した発現を確認した。これまでに TLR3 は様々な癌の増殖を抑制するという報告が見られているが、本研究は TLR3 と大腸癌の臨床病理学的な関連性や予後についての初めての報告となる。

CCL2 は腫瘍関連マクロファージを誘導するとされ、大腸癌標本における CCL2 の発現低下がリンパ節転移と予後に影響を与えるとする報告もある。また大腸癌において CCL5 によって誘導された CD8 陽性 T 細胞が良好な予後やリンパ節転移の抑制に関与しているという報告や、IL-8 は好中球を遊走し、直接的に腫瘍細胞を死滅させるという報告がある。これらの事から TLR3 はこれらのケモカインを介して大腸癌の増殖や転移を抑制する可能性が示唆され、また新たな治療標的として TLR3 が有用である可能性が考えられる。

【結語】

大腸癌における TLR3 陰性はリンパ節転移に関連し、独立した再発リスク因子であることを明らかにした。