

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域泌尿器腫瘍学教育研究分野 堀口 裕貴
(論文題目) Prognostic significance of the Ki67 index and programmed death-ligand 1 expression after radical cystectomy in patients with muscle-invasive bladder cancer (根治的膀胱全摘術後の筋層浸潤性膀胱癌患者における Ki67 指数と PD-L1 発現の意義)	
(内容の要旨) 【背景】 筋層浸潤性膀胱癌の標準治療は根治的膀胱全摘除術ならびに所属リンパ節郭清術であるが、その 5 年生存率は一般的に 50-60%とされ予後不良の疾患である。この成績は 20 年以上改善しておらず、予後因子の解明と治療成績の改善は大きな課題である。膀胱癌は免疫療法が有効な癌種であり、免疫逃避機構の一つである Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) の発現は悪性度や予後不良と関連しているとの報告がある。さらに細胞増殖のマーカーである Ki67 指数高値も予後不良因子とされているが、筋層浸潤性膀胱癌において、この 2 つの分子がどのように関連するかは不明である。以上の理由から本研究では、筋層浸潤性膀胱癌における Ki67 指数と PD-L1 発現の臨床的意義とその分子生物学的背景について検討した。	
【方法】 2004 年から 2020 年の間に弘前大学医学部附属病院、青森県立中央病院で膀胱全摘除術を受けた 262 名を後ろ向きに検討した。免疫組織化学染色で全摘標本の Ki67 指数、PD-L1 発現を評価し、予後との関連をカプランマイヤー法により比較した。また、多変量解析を用いて再発に対するリスクモデルを開発した。更に細胞増殖と PD-L1 発現の間に存在する分子機序解明のため、膀胱癌細胞株 (T24 細胞と 5637 細胞) を用いてインターロイキン 6 (IL-6) 刺激による細胞増殖能の検討、PD-L1 発現の検討、細胞増殖に関連する分子 (signal transducer and activator of transcription 3: STAT3) の検討、PD-L1 糖鎖安定化に関連する分子 (STT3 Oligosaccharyltransferase Complex Catalytic Subunit A: STT3A) の検討を行った。	
【結果】 本研究で検討した 262 例の年齢と観察期間の中央値はそれぞれ 69 歳と 52 か月だった。術前化学療法を受けた患者が 212 例、膀胱全摘除術単独が 50 例であった。Ki67 指数と PD-L1 発現は術前化学療法群で有意に低かった。Ki67 指数高値 (>17%) と PD-L1 発現は腫瘍再発と有意に関連しており、多変量解析では切除断端+, 非尿路上皮癌の存在, リンパ管浸潤陽性, リンパ節転移陽性, Ki67 指数高値が腫瘍再発に対する有意なリスク因子として選択された。各因子 1 点としてリスクスコアを作成すると、スコア 2 点以上では 1 点以下よりも有意に予後不良であった。IL-6 刺激により、細胞増殖能, PDL-1 糖鎖安定化分子の STT3A は有意な増加を認めたが、PD-L1 の発現は有意な増加を認めなかった。	

【考察】

本研究では筋層浸潤膀胱癌における細胞増殖（Ki67 指数）と免疫逃避機構（PD-L1 発現）の意義について検討し、両者の相互作用によって予後に影響している可能性が示唆された。更に我々が作成したリスクモデルの術後治療決定ツールとしての有用性が示唆される結果となった。

Ki67 指数も PD-L1 発現も筋層潤性膀胱癌の予後不良因子として報告があるが、本研究ではこれら分子が術前化学療法の治療効果を示している可能性を世界で初めて報告した。更に、術前化学療法前・後の組織を用いた検討を行えば、これら分子は術前化学療法の治療効果を反映するマーカーとして有用であるだけでなく術前化学療法の効果を予測するマーカーにもなり得る可能性があり、今後検討を計画している。

本研究では、細胞増殖と免疫逃避機構の関連性を検討したが、これら2つの分子間の根本的なメカニズムは明らかにできなかった。多変量解析において Ki67 指数高値は全生存の予後不良因子として同定されたが、PD-L1 発現は全生存に対する有意な因子とはならなかった。実際に PD-L1 の発現は有効性と関係ないとする臨床試験の結果も多数あり、PD-L1 発現だけでは免疫療法の効果を説明ができない分子機序が存在しているものと思われる。

我々は、IL-6 が Janus Kinase 経路を介して細胞増殖と PD-L1 発現を促進するという仮説を立てた。残念ながら IL-6 刺激による PD-L1 発現亢進効果は認められなかったが、IL-6 刺激による細胞増殖の亢進と IL-6 を介した PD-L1 糖鎖修飾の亢進を認めた。PD-L1 の糖鎖修飾は PD-L1 分子の安定化に重要な役割を果たしている。本研究で用いた膀胱癌細胞株が PD-L1 陽性であることを考慮すると、PD-L1 の発現亢進よりもその安定性や機能に注目する必要があると思われる。更に IFN- γ や PI3K/AKT 回路を介した PD-L1 発現経路もあり、他の補助因子も検討する必要がある。これらの点については今後の研究で詳細に検討する予定である。

本研究は、少数施設のサンプルを用いた後ろ向き研究であること、細胞株での解析で明確な分子機序を示すことができなかった事など多くの限界がある。しかし、本研究は細胞増殖と免疫逃避機能が関連していることを初めて報告した点でその意義は大きいと思われる。筋層浸潤性膀胱癌患者における PD-L1 発現および細胞増殖の正確なメカニズムを解明するために、さらなる研究が必要である。

【結論】

筋層浸潤性膀胱癌における Ki67 指数と PD-L1 発現は予後因子である可能性が示唆された。既存の病理学的因子に Ki67 指数を組み合わせたリスクモデルは、膀胱全摘術後に追加治療が必要な患者を選択するための有用なツールとなる可能性が示唆された。膀胱癌において細胞増殖と免疫逃避機能が相互に作用しながら果たす役割については更なる検討が必要である。