

論文内容要旨

Effect of bevacizumab plusXELOX (CapeOX) chemotherapy on the liver natural killer cell activity in colorectal cancer with resectable liver metastasis

(切除可能大腸癌肝転移に対するベバシツマブ併用XELOX (CapeOX) 療法が肝臓内ナチュラルキラー細胞活性に与える影響)

Annals of Gastroenterological Surgery, in press.

主指導教員：大段 秀樹教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：安井 弥教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

副指導教員：田中 友加准教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

平田 文宏

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

【背景】

近年、大腸癌肝転移(CRLM)に対する治療手段は、外科的切除が最も有効的な治療法のひとつとして確立されている。さらに、外科的切除後に化学療法を併用することで、CRLM 患者に対する治療効果が増強すると報告されている。一方で、切除可能 CRLM 患者に対する術前化学療法は、検出不能な微小転移を制御することにより、手術後の再発リスクを軽減する利点があると報告されている。現状では、切除可能 CRLM 患者に対する治療戦略における、外科的切除と化学療法の優先順位については明確な基準がない。

そこで、切除可能 CRLM 患者に対する外科的切除および化学療法が、宿主免疫に与える影響を検討することが重要と考えた。癌細胞に対する免疫機構は、癌細胞の増殖、浸潤および転移の制御に重要であることが知られている。これまでに、外科的侵襲が腫瘍免疫を低下させることは報告されているが、化学療法が腫瘍免疫に与える影響については明らかにされていない。我々は、初期免疫細胞として重要な役割を担うナチュラルキラー (NK) 細胞がヒト肝臓内に多く存在し、末梢血中の NK 細胞に比べて強力な細胞傷害活性を有することを証明してきた背景から、切除可能 CRLM 患者から採取した肝臓内 NK 細胞の機能評価を行うことで、術前化学療法が肝臓内 NK 細胞に与える影響を検討することとした。

【方法】

切除可能 CRLM 患者に対する術前化学療法(bevacizumab+CapeOX)後肝切除が、肝切除後化学療法に比べて無増悪生存期間、生存期間が優れているかを検討するための第 II/III 相臨床試験である HiSCO-01 試験の付随研究として、肝切除後化学療法群(A群)と術前化学療法後肝切除群(B群)における肝臓内免疫細胞、末梢血免疫細胞の機能解析などの比較検討を行った。各群 15 例として検討を行うことし、両群ともに肝切除時に末梢血単核球(PBMC)ならびに肝臓内単核球(LMNC)を採取した。症例毎に単核球を分離した後に、術前化学療法が免疫細胞へ与える影響を検討するために、免疫細胞分画の割合、NK 細胞表面に発現する機能分子についてフローサイトメトリーで解析した。同時に、IL-2 で活性化させた LMNC を用いて大腸癌細胞株に対する細胞傷害試験も行った。また、術前化学療法が腫瘍細胞へ与える影響を検討するために、切除肝組織から腫瘍組織を採取し、NKG2D リガンドである MICA、MICB、ULBP2 の発現を RT-PCR により解析した。更に、術前化学療法後の NK 細胞活性化と化学療法の奏功性 (RECIST) との関連ならびに病理学的化学療法奏功率 (Grade classification) との関連について検討した。

【結果】

A 群と B 群において、PBMC、LMNC ともに含有される単核球数、リンパ球数、単球数に有意差は認めなかった。リンパ球分画の検討では、B 群において肝臓内 NK 細胞の割合が低値であった以外は NKT 細胞、T 細胞、B 細胞の割合に両群間の違いは認めなかった。

NK 細胞表面に発現する機能分子についてフローサイトメトリーで解析したところ、末梢血 NK 細胞では、B 群において NKG2D (NK 細胞活性化受容体)、SIRPB (活性化シグナル伝達) の MFI が有意に高値を示し、NKG2D 陽性 NK 細胞の割合が有意に増加していた。肝臓内 NK 細胞でも、B 群において NKp46 (細胞傷害分子)、CD122 (IL-2 受容体) の MFI が有意に高値を示し、TRAIL (細胞傷害分子) 陽性 NK 細胞、NKp30 (細胞傷害分子) 陽性 NK 細胞、SIRPB 陽性 NK 細胞の割合が有意に増加していた。

NK 細胞の機能評価として、LMNC を IL-2 存在下に培養したところ、両群ともに肝臓内 NK 細胞の活性化が誘導され、両群間の機能分子の発現強度について有意差を認めなかった。同時に、大腸癌細胞株に対する両群の活性化 LMNC の細胞傷害活性を比較したところ有意差は認めなかった。

切除肝組織から採取した腫瘍細胞中の MICA、MICB、ULBP2 の発現を RT-PCR により解析したところ、発現量に有意差は認めなかった。

肝臓内 NK 細胞上の機能分子の発現量と臨床的な治療奏効率 (RECIST および Grade classification) の関連について検討したが、相関は認めなかった。

【考察】

化学療法に伴う骨髄抑制がしばしば問題になるが、本研究では両群における単核球数、リンパ球数、単球数に有意差を認めなかったことから、術前化学療法が免疫機構に与える悪影響は少ないと考察した。次に、NK 細胞表面上の機能分子解析では、B 群に有意な活性化マーカーの上昇を認めたことから、切除可能 CRLM 患者に対する術前化学療法が、末梢血および肝臓内 NK 細胞の活性化を誘導していることを証明した。化学療法によって癌細胞が破壊され、サイトカインが放出されることで免疫活性が生じたと考察するが、詳細は不明である。同時に、術前化学療法によって肝臓内 NK 細胞の細胞傷害活性が増強される可能性が示唆されたが、証明できなかった。

しかし、両群における IL-2 刺激活性化 LMNC の細胞傷害活性が同等であったことから、術前化学療法が細胞傷害活性に少なくとも悪影響を与えないと考えられた。NK 細胞活性化と臨床的治療奏効率については、短期成績では関連を認めなかったが、長期成績での関連については、HiSCO-01 試験の解析結果を待つ必要がある。