

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	平田 文宏
学位授与の条件	学位規則第4条第1、2項該当		
論文題目 Effect of bevacizumab plus XELOX (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)			
論文審査担当者			
主査	教授	一戸 辰夫	印
審査委員	教授	菅野 雅元	
審査委員	講師	相方 浩	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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。本研究において筆者等は、切除可能 CRLM 患者に対する化学療法が、宿主免疫に与える影響を検討した。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。著者等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した。</p> <p>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効率(Grade classification)との関連について検討した。</p> <p>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)、SIRPβ(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</p>			

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, SIRP8 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。また、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。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。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。

以上の結果から、本論文は術前化学療法が、末梢血および肝臓内 NK 細胞の活性化を誘導し、少なくとも抗腫瘍活性に悪影響を与えないことを証明し、大腸癌肝転移に対する治療戦略を構築する上で重要な情報を提供したことで高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が平田文宏に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	平田 文宏
学位授与の条件	学位規則第4条第①、2項該当		
論文題目			
Effect of bevacizumab plus XELOX (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)			
最終試験担当者			
主査	教授	一戸辰夫	印
審査委員	教授	菅野雅元	
審査委員	講師	相方浩	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年8月2日の第75回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年8月7日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 化学療法が腫瘍免疫に与える影響</li> <li>2 抗 VEGF 抗体を含む化学療法による NK 細胞活性化の機序</li> <li>3 化学療法による腫瘍細胞の標的分子発現への影響</li> <li>4 肝内在 NK 細胞の分化と維持機構</li> <li>5 正常および担癌状態における肝内在 T 細胞/NK 細胞連関</li> </ol> <p>これらに対して適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			