



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	CD40 Expression in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma Is Associated with Tumor Progression and Lymph Node Metastasis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	松村, 祥幸
Description	配架番号 : 2272
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12531号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65877
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yoshiyuki_Matsumura_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 松 村 祥 幸

審査担当者	主査	教授	秋 田 弘 俊
	副査	准教授	本 間 明 宏
	副査	教授	平 野 聡

学 位 論 文 題 名

CD40 Expression in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma Is Associated with Tumor Progression and Lymph Node Metastasis
(食道扁平上皮癌における CD40 の発現は腫瘍の進行とリンパ節転移に関係する)

CD40 は主に B 細胞や樹状細胞などの抗原提示細胞で発現していることで知られているが、さまざまなタイプの悪性腫瘍にも発現しており、その役割はいまだ明らかとはなっていない。今回の研究では食道扁平上皮癌患者における CD40 の発現と予後、臨床病理学的因子との関係を検討した。同時に食道扁平上皮癌細胞株を用いて *in vitro* で CD40 の機能を検討した。外科的切除を施行された 122 例の食道扁平上皮癌患者切除検体を用いて CD40 の免疫染色を施行した。また、食道扁平上皮癌細胞株における CD40 の発現を Western blotting、flow cytometry にてスクリーニングした。次に CD40 陽性株、陰性株を選択し Interferon- γ (IFN- γ)、可溶性リコンビナント(rhs)CD154 を投与した後、それぞれの増殖と培養上清中の IL-6 を Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA)法で検討した。患者検体の免疫染色では CD40 発現陽性症例は 122 例の検体のうち 45 例 (37%) であった。CD40 発現と、pStage ($p=0.0011$)、分化度 ($p=0.0143$)、pT 因子 ($p=0.0011$)、pN 因子 ($p=0.0007$) それぞれが有意な相関を認めた。生存分析では pStage III、IV の症例において CD40 陽性群は CD40 陰性群に比べ有意に予後不良であった (log-rank test, $p=0.0422$)。次に食道扁平上皮癌細胞株を用いた検討では、使用した 11 株中 3 株で CD40 が発現していた。rhsCD154 の投与では細胞増殖に影響を与えなかったが、培養上清中の IL-6 の増加は有意に誘導された。これらの結果は食道扁平上皮癌において腫瘍細胞上の CD40 の発現は腫瘍の進行とリンパ節転移において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

口頭発表に続き副査 本間准教授より、CD40 を研究対象とした理由についての質問があった。申請者は、同一母集団を用いた免疫染色の検討で、CD4、CD8 陽性 T リンパ球の両方が多く発現している群の予後が有意に良好であったことから、免疫の活性化に関与する分子に注目したこと、癌細胞で CD40 の発現が報告されているが、食道癌の報告がなかったことが理由であると回答した。次に、放射線や化学療法による CD40 の発現変化に関しての質問に対し、検討は行っていないが、抗がん剤投与後の培養上清中の IL-6 が上昇したとの報告が認められることから、CD40 の発現亢進に伴う可能性があるかと回答した。

次に、主査の秋田教授より、免疫染色でのカットオフ値の根拠についての質問があった。申請者は、陽性細胞個数で、陰性・弱陽性・強陽性の 3 群に分けた際に、陰性群と強陽性群との間には Stage III、IV 症例で予後に差が生じ、陰性群と弱陽性群、弱陽性群と強陽性群との間には予後に差がなくなったため、陽性細胞がある一定個数を超えた際に予後に差が生じ生物学的意義があると判断し、陽性・陰性の 2 群のカットオフ値を変設定したところ、生存曲線に差を認めたと回答した。次に、他の癌腫でのカットオフ値の違いに関しての質問に対し、過去の報告を引用し、膵癌では 1% 以上を陽性、肺癌では 5% 以上を陽性としていたと回答した。次に CD154 陽性 T 細胞と CD40 腫瘍細胞の interaction の組織切片上での同定の可否に関しての質問に対し、CD154 は一過性の発現であるため、免疫染色で同定

できない可能性が考えられると回答した。さらに、臨床応用の際の治療対象は CD40、IL-6 のどちらなのかとの質問に対し、サイトカイン濃度は腫瘍周囲環境で、血中の数十倍から数百倍高いとされており、CD40 を対象とする方が治療効果が高い可能性があるという回答した。

最後に副査の平野教授より、他癌での CD40 陽性率に関する質問があった。申請者は、膵癌細胞株では 10 株中 8 株、肺癌細胞株では 10 株中 5 株で CD40 の発現が認められていたと回答したが、その癌での発現特性を正確に反映しているかは不明であると回答した。次に CD40 の腫瘍内での heterogeneity に関する質問に対し、腫瘍先進部で発現が多く見られたと回答した。次に、腫瘍先進部での発現亢進と腫瘍増殖の関連に関する質問に対しては、腫瘍先進部では IL-6 による Matrix metalloproteinase の発現が亢進している報告があり、同部位で CD40 関連の IL-6 分泌が浸潤能を高めている可能性が考えられると回答した。最後に、CD40 の発現の術前診断に関する質問に対し、発現細胞率が低く heterogeneity が強い場合生検検体レベルで CD40 発現の判定は困難であり、術前診断を行うためには今後 mRNA レベルの検討も必要であると回答した。

申請者はいずれの質問に対してもほぼ的確に回答し、当該領域に関する深い見識と研究遂行能力を有することを示した。

審査員一同はこれらの結果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有すると判定した。