

氏名	まるやま りょう 丸山 亮
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第202号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Absence of Bcl-2 and Fas/CD95/APO-1 predicts the response to immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma (進行性腎細胞癌において Bcl-2 と Fas の発現の有無が免疫療法への反応を予測する)
論文審査委員	主査 教授 山本 格 副査 教授 高橋 公太 副査 教授 安保 徹

#### 博士論文の要旨

進行性腎細胞癌に対する治療は、インターフェロンや IL-2 といった免疫療法が唯一ある程度の効果を示すものの、その程度もせいぜい 20% 程度である。しかも免疫療法はしばしば重篤な合併症を引き起こすため、効果を示す患者の選択が望まれる。免疫療法に効果を示す因子は、臨床的にはいくつか分かっているものの、分子学的なマーカーは見つかっていない。

腎細胞癌の免疫療法への抵抗性のメカニズムはまだ明らかではないものの、いくつかの研究により Fas (CD95/Apo1) が腎細胞癌のアポトーシスを促進し、Bcl-2 が抑制していることが示されている。これらの研究より、Bcl-2 が腎細胞癌の免疫療法への抵抗性に関係があると考えた。

今回この研究では、進行性腎細胞癌における免疫療法への反応を含めた臨床データと、アポトーシス関連分子である Bcl-2、Fas の発現のほか、Ki-67 で細胞増殖活性を、TUNEL 法でアポトーシス活性を調べ、これらとの関連を調べた。

#### 方法

腎細胞癌の診断で腎摘出術を施行した時点で転移を認めた 40 人を研究の対象とした。(Table 1)

全ての症例で手術後に何らかの免疫療法を施行した。

28 症例は腫瘍部を、12 例は腫瘍と転移部の両方を使用し、免疫染色にて Bcl-2 と Fas の発現の有無を調べた。細胞増殖活性は全腫瘍細胞中の Ki-67 陽性細胞の割合を、アポトーシス活性は TUNEL 法にて陽性細胞数の割合を算出した。

## 結果

40人のうち免疫療法に効果を示したのは8例(CR:3例、PR:5例)であった。(Figure 1, Table 2)

癌特異的生存率はPD症例で有意に低かった( $P=0.006$ )が、CR+PR群とNC+PD群の間に差は認めなかった。 $(P=0.0657)$ (Figure 2E)

Bcl-2は40例中13例で発現を認め、12例の転移部のうち2例に発現を認めた。Bcl-2の発現は腫瘍のT stageや悪性度との関係はなかった。(Table 3)

NC+PD群32例中13例でBcl-2は発現を認めたのに対し、CR+PR群8例はいずれもBcl-2の発現を認めなかった。 $(P=0.0373)$ (Table 2, 3)

癌特異的生存率はBcl-2の発現の有無で違いは認めなかった。(Figure 2A)

Bcl-2陰性症例のうちCR+PR群はNC+PD群と比べ生存率が高い傾向を示した。 $(P=0.0575)$ (Figure 2B)

Bcl-2とFasの発現に関連は認めなかったが、Fasの発現はBcl-2陰性症例のNC+PD群で有意に高かった。 $(P=0.0433)$

Fasは40例中15例で発現を認め、12例の転移部のうち3例に発現を認めた。Fasの発現は腫瘍のT stageや悪性度との関係はなかった。(Table 3)

Fasの発現はCR+PR群とNC+PD群の間では差は認めなかったものの、CR+PR+NC群とPD群の間では有意にPD群で発現が高かった。 $(P=0.0484)$ (Table 3)

癌特異的生存率はFasの発現の有無で違いは認めなかった。(Figure 2C)

Bcl-2とFasのいずれも陰性であると有意に免疫療法に効果を示した(CR+PR)  $(P=0.0022)$ (Table 4)が、生存率に有意差は認めなかった。(Figure 2F)

細胞増殖活性はG3症例で有意に高く  $(P=0.0287)$ 、Bcl-2陰性症例でも陽性症例より高かった。 $(P=0.0390)$ (Table 5)

細胞増殖活性とCR+PR群の間に相関は認めなかったが、細胞増殖活性が高いと生存率が有意に低く  $(P=0.0189)$ 、PD群では有意に高かった。 $(P=0.0087)$

## 考察

今回の研究で、免疫療法に効果を示したすべての症例でBcl-2陰性であったことより、腎細胞癌において免疫療法で誘導されるアポトーシスは、Bcl-2が抑制している可能性が考えられた。しかし逆にBcl-2陰性症例のうち、免疫療法に効果を示したのは27例中8例とごく一部であった。この理由をBcl-2の発現と免疫療法への効果の有無により、①Bcl-2陰性で効果あり、②Bcl-2陰性で効果なし、③Bcl-2陽性の3グループに分けて考えてみた。③群は細胞増殖活性が有意に低く  $(P=0.039)$ (Table 5)、これは以前に言われているように、転移のない症例ではBcl-2が陽性だと生存率が高くなることを裏付ける。Bcl-2にはアポトーシスを抑制する以外に、細胞増殖を抑制する役割があることが分かっている。しかし今回の研究ではBcl-2の発現の有無と生存率に関する関係は認めなかった。これは今回の対象が手術時既に転移を有している重傷例に絞ったからと考えられた。

我々は Bcl-2 陰性で細胞増殖活性が高い症例では、免疫療法で誘導されるアポトーシスを上回って癌が増殖するのではないかと考えた。細胞増殖活性は Bcl-2 陰性群において CR+PR 群と NC+PD 群の間では差はなかったものの、CR+PR+NC 群と PD 群の間では PD 群で有意に高かった。(P=0.0087) このように細胞増殖活性が高いと免疫療法への効果は期待できないと考えられる。

Bcl-2 陰性症例においてアポトーシス抵抗性を示す他の因子として、Fas の状態が関係していると考えた。Fas は①群と②群の間では、②群で有意に発現が高く(P=0.0433)、さらに PD 群では有意に Fas の発現が高かった。これは Fas がアポトーシスを誘導するという一般的な考えに矛盾するものだが、Fas 刺激は様々なものにより中和される上、Fas には細胞の成長を促進する役割もあることが分かっている。

Bcl-2 と Fas は進行性腎細胞癌において免疫療法の効果を予測する有用なマーカーであり、細胞増殖活性もこれに付加的な役割を果たしている。

#### (論文審査の要旨)

進行性腎細胞癌は化学療法や放射線療法がほとんど効果なく、インターフェロンやインターロイキン2といった免疫療法が唯一ある程度の効果を示すのみである。しかし、免疫療法はその効果はせいぜい20%程の患者で見られるだけであり、しかもしばしば重篤な合併症を伴うため、患者を事前に選択する方法の確立が望まれている。腎細胞癌の免疫療法への抵抗性のメカニズムはまだ解明されていないが、近年 Fas や Bcl-2 といったアポトーシス関連分子の役割が明らかにされつつある。

本研究は進行性腎細胞癌組織におけるアポトーシス関連蛋白の発現の有無を免疫組織学的に調べ、免疫療法の効果との関連を検討したものである。その結果、免疫療法に効果を示した群は、全ての症例で Bcl-2 の発現を認めず、免疫療法に効果を示さなかった群では Fas の発現が有意に高いことが示された。また、Bcl-2 陰性症例のうち、免疫療法に効果を示さなかった群では Fas の発現が有意に高く、Bcl-2 と Fas のいずれの発現も陰性の症例では、有意に免疫療法の効果を認めた。

以上、進行性腎細胞癌において Bcl-2 と Fas は免疫療法の効果を予測する有用なマーカーであることを示した点に、学位論文としての価値を認める。