

東海大学大学院令和 4 年度博士論文

結腸癌における予後予測因子の検討

- I. 治癒切除された Stage II, III 結腸癌における従来の病理学的因子による予後予測の検討
- II. 治癒切除された結腸癌における Tissue Infiltrating Lymphocyte の予後予測因子としての意義 : a propensity score matched analysis

東海大学大学院医学研究科

陳 凌風

- この学位申請論文は, International Journal of Colorectal Disease に掲載された主要公刊論文を基に作成された.
- International Journal of Colorectal Disease に掲載された主要公刊論文の一部を学位申請論文に用いることに加えて, 学位申請論文を機関リポジトリ[電子書庫システム]で公開することの承諾を得ている.

〈総括〉

大腸癌では組織学的な Stage の進行にしたがって再発率は高くなるが, 患者個々人の正確な再発予測は困難である. 腫瘍側の評価因子として TNM 分類があり, これにより層別化した進行度 (Stage) で予後が予測され, 治療方針が決まり, 術後の補助療法の適応が決められている. しかし Stage II の一部である Stage IIB/IIC 症例は Stage III の一部である Stage IIIA 症例よりも予後は不良であることから, 従来用いられてきた組織学的な癌の深達後 (T stage), リンパ節転移の有無 (N stage) 以外の要因が個々の症例の予後を規定している可能性が示唆される. また癌患者において“宿主: Host”側の評価因子として, 免疫応答の一つとしての Tissue infiltrating lymphocytes (TIL) と予後との関連性は多く報告されているが, 治癒

切除結腸癌において TIL の予後予測因子としての意義は確立していない。そこでまず腫瘍側の評価因子の検討として、治癒切除された Stage II, III の結腸癌症例を対象にして、従来から報告されている臨床病理学的な予後予測因子の意義を検討した。次に“Host”側の評価因子として、免疫応答の一つとして TIL の意義を検討する目的で、従来から報告されている臨床病理学的な予後予測因子を用いて propensity score matching を行い、TIL と予後との関連性を検討した。治癒切除された Stage II, III 結腸癌において、単変量解析では 5 年 Disease-free survival(DFS)は男性 66%, 女性 74% ($p = 0.031$), 組織学的 T Stage では T1 92%, T2 83%, T3 74%, T4 56% ($p < 0.01$), 組織学的 N Stage では N0 73%, N1 74%, N2 42% ($p \leq 0.01$), リンパ管侵襲陽性例で 67%, 陰性例で 80% ($p = 0.025$), 静脈侵襲陽性例で 67%, 陰性例で 79% ($p = 0.02$), 回収リンパ節個数 12 個未満で 64%, 12 個以上で 74% ($p = 0.029$), 診断時消化管穿孔例で 55%, 非穿孔例で 71% ($p = 0.024$)であり、各々有意の差が認められた。

多変量解析では、性別は HR 0.62 [95%CI 0.41-0.90, $p = 0.014$], 組織学的 T Stage は T1 に対し T3 では HR 5.00 [95%CI 1.06-89.3, $p = 0.039$], T4 では HR 8.83 [95%CI 1.86-158, $p < 0.01$], 組織学的 N

Stage は N0 に対し N2 で HR 2.66 [95%CI 1.54-4.42, $p < 0.01$], 回収リンパ節個数は 12 個未満に対し 12 個以上で HR 0.58 [95%CI 0.40-0.85, $p < 0.01$]でありそれぞれ独立した予後予測因子であった. TIL の予後予測因子としての評価を行うために, 従来報告されている臨床病理学的な予後予測因子を用いて propensity score matching を行って再発群, 非再発群の 2 群を作成した.

原発組織の Hematoxylin-eosin (H-E)染色, CD3, CD4, CD8, Foxp-3 によるリンパ球の免疫染色を行い, 腫瘍全体, 腫瘍中心部, 腫瘍先進部の 3 領域にわけて評価した. 単変量解析では, H-E 染色評価の TIL は腫瘍全体と腫瘍先進部で($p = 0.016$, $p = 0.012$), CD8+ cell density は腫瘍中心部で ($p = 0.039$), いずれも陽性例は陰性例より DFS が有意に良好であった. 多変量解析では, 腫瘍先進部での H-E 評価の TIL (HR 1.81 95%CI 1.03-3.05, $p = 0.037$), 腫瘍中心部での CD8+ cell density (HR 1.76 95%CI 1.07-2.93, $p = 0.023$)は従来の病理組織学的因子とは独立した予後予測因子であった.

本研究の結果, 結腸癌において腫瘍側の予後予測因子としては, 従来の報告通り TNM Stage 分類の T Stage, N Stage の意義が再確認され, 宿主側の因子として腫瘍先進部の TIL と腫瘍中心部での CD8+

cell density はそれぞれ独立した予後予測因子であり，従来の病理組織学的な予後予測因子とは独立した”host”側の免疫応答を示している可能性が示唆された．

〈研究背景〉

米国では大腸癌は癌の新規罹患患者数の第 3 位，死亡原因の第 3 位を占める一般的な癌であり，本邦においても癌の死亡原因の第 3 位，癌罹患率の第 1 位を占めている．Stage I， II， III 結腸癌のほとんどすべての症例では治癒切除が可能であるが，再発率は Stage I で 5%，Stage II で 12%，Stage III で 33%である．組織学的な Stage が進むに従って再発率が増加し，Stage III および high risk Stage II 症例には，補助化学療法への適応が考慮されるが，患者個人の正確な再発予測は困難である．

大腸癌の予後予測因子には腫瘍側の因子と宿主側の因子があり，腫瘍側の予後不良予測因子としては組織学的な癌の深達度 T4，回収リンパ節個数 12 個未満，腫瘍の穿孔，閉塞，低分化腺癌などが報告されているが，確立していない．

宿主側の因子として，免疫応答の一つとしての Tissue infiltrating

lymphocytes (TIL)と予後との関連性が多く報告されている。卵巣癌では CD8+ T cells density, CD8+ cells/Foxp3+ cells 比, 非小細胞肺癌で CD8+, CD20+ cells densities, 肝細胞癌(HCC)で CD8+, FoxP3+ cell densities は予後予測因子であると報告されてきた。大腸癌においても CD3+, CD4+, CD8+, CD56+, CD57+ cell densities と生存率との関連性が報告されてきた。しかし従来の臨床病理学的な予後予測因子と比較して、Tissue infiltrating lymphocytes (TIL)の予後予測因子としての意義は確立していない。

そこでまず Stage II, III結腸癌症例において、従来の腫瘍側の因子の予後予測因子としての有用性を明らかにするために、従来報告されている予後予測因子と再発との関連性を retrospective に検討した。次に”host”側の因子として、免疫応答と結腸癌患者の予後との関連性を検索するために、従来報告されている治癒切除大腸癌の予後予測因子を用いて propensity score matching を行い、再発群, 非再発群の2群を作り TIL の予後予測因子としての意義を検討した。

〈考察と展望〉

実地臨床において 治癒切除大腸癌は、切除標本における原発組織の

癌の深達後(T stage), リンパ節転移の有無(N stage)によって決まる TNM stage によって予後が予測され, 補助化学療法の適応が決められている. しかし Stage IIB/IIC 症例は Stage IIIA 症例よりも予後は不良であることから, 従来用いられてきた癌の深達後(T stage), リンパ節転移の有無(N stage)以外の要因が個々の症例の予後を規定している可能性が示唆される. 結腸癌の手術を受けた患者の約 30-40%が Stage II と診断され, 予後不良因子を有する high-risk Stage II の患者の予後は補助療法によって改善できるとの報告があるが, Stage II の再発高危険因子は確立していない.

宿主の免疫応答はヒトの癌の転帰において重要な予後の予測因子であることが認識されており, 大腸癌において炎症細胞の浸潤は病理学的 Stage と独立して, 生存率と関連していることが報告されている. また腫瘍関連マクロファージ, 樹状細胞, 好中球に加え腫瘍浸潤 T リンパ球の存在は有効な免疫応答の表れであると考えられている. T 細胞のサブタイプに関しては CD3+, CD8+, CD45RO+ や FoxP3+と予後との関連性が報告されている.

再発には癌の部位(tumor location), 組織学的な grade, Stage などが密接に関連する. Tissue infiltrating lymphocytes (TIL) と予後との関

連性を明らかにする目的で、本研究では従来報告されている臨床病理学的な予後予測因子を用いて propensity score matching を行い、これらの因子に有意な差の無い2群間で比較した。その結果、腫瘍先進部の H-E 評価の TIL と 腫瘍中心部での CD8+ cell density が有意な予後予測因子であった。本研究の結果では 従来の報告とは異なり CD3+, CD4+, FoxP3+ cell densities は DFS と関連性は認められなかった。T cell のサブタイプである CD8+ cells については多くの報告があるが、腫瘍中心部、および腫瘍先進部いずれもが関連するという報告と、本研究の結果と同じく腫瘍中心部のみが関連するという報告があり一定していない。

本研究の結果から、宿主の免疫応答がヒトの癌における転帰の重要な決定要因であることが再確認されたが、免疫応答の適切な評価方法、評価を行う腫瘍の部位については、さらなる研究を要する。

〈結論〉

研究 I では、結腸癌において腫瘍側の評価因子として、従来の報告通り TNM Stage 分類の T Stage, N Stage のほか、回収リンパ節個数が予後に関連していることが示された。研究 II では臨床病理学的な背

景因子の差をなくした 2 群間の比較で, 腫瘍先進部の TIL と腫瘍中心部での CD8+ cell density はそれぞれ独立した予後予測因子であり, 従来の病理組織学的な因子とは独立した”host”側の免疫応答を示している可能性が示された.