

論文の内容の要旨

論文題目 Stage II および III の閉塞性結腸直腸癌における Immunoscore の予後予測因子としての意義

氏名 近藤 僚

近年、検診での便潜血検査や下部消化管内視鏡検査が広まることで、大腸癌に対する早期の治療介入が可能となったことによると思われる、大腸癌罹患率および死亡率の低下が認められている。しかし、依然として進行した大腸癌による腸閉塞を契機に診断される症例も存在する。閉塞を伴った大腸癌は全体の 10%程度で存在するとされており、閉塞を伴わない大腸癌と比較して予後不良であるとされている。それが閉塞に伴うイベント（感染や腸管穿孔による癌性腹膜炎など）によるものか、閉塞といった現象そのものによるものかは議論のあるところである。

大腸癌による大腸閉塞は、腸管内圧の上昇から **bacterial translocation** を来し全身状態を増悪させる。また、過度の腸管内圧上昇は腸管穿孔を来し、腫瘍細胞を含めた腸管内容物を腹腔内に露出させることにより、短期及び長期の予後へ大きな影響を来す。この問題を解決する緊急手術以外の方法として、内視鏡的大腸ステント留置術が 1991 年に開発され、2012 年より本邦でも保険収載された。大腸ステントは内視鏡内の径 3mm 程度の孔を通れるように折りたたまれた状態となっており、経肛門的に内視鏡で閉塞部に到達したのちにステントの自己拡張により閉塞部を約 2cm まで拡張し、閉塞部より口側の腸管圧および内容物を肛門側に通過させる。結果として、周術期合併症が高率とされる緊急手術を回避し、全身状態が改善したところで、病変の切除および一次的腸管吻合（人工肛門造設を介さない）を実現できるため、腫瘍予後および患者 QOL を改善する方法として期待されていた。しかし、留置したステントによる穿孔が腫瘍の腹腔内播種を来すことや、ステントの物理的刺激が炎症を惹起することで腫瘍学的予後が悪化することが懸念され、欧米のガイドラインでは積極的な使用を避けるようにとの勧告が 2014 年に発表された。しかし、我々も参加した本邦からの多施設前向き研究では、90%を超える大腸ステント留置術の高い成功率と、低い 2%程度の穿孔率が報告されており、大腸ステントの安全性に関する報告がなされてきた。その後の臨床研究の蓄積の結果、2020 年に改定された欧州消化器内視鏡学会（ESGE）のガイドラインでは一転して、ステント留置による減圧後に手術をおこなう、いわゆる BTS を推奨することとなった。

しかしながら、懸念されていた大腸ステント留置術による炎症の惹起、それによる腫瘍部免疫学的応答の変化については、評価が定まっていない。一方、大腸癌においては腫瘍部における免疫細胞の浸潤と予後との関連が報告されたことから、予後予測因子として腫瘍部の免疫学評価は重要なものと考えられている。

具体的には、CD3 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞の単位面積当たりの細胞数に基づいて算出される Immunoscore による評価では、腫瘍中心部にて CD3 陽性 T 細胞と CD8 陽性

T 細胞の浸潤が多い症例にて予後が良好であり、切除可能である Stage II および III 大腸癌の無再発生存期間 (relapse-free survival、以下 RFS)、無病生存期間 (disease-free survival、以下 DFS) および全生存期間 (overall survival、以下 OS) の予測因子として有用であったと 2018 年に報告された。

Immunoscore は、術後予後予測因子であることに加え、既存の細胞傷害性化学療法の効果予測に関しても Immunoscore は重要な指標となる事が指摘されている。さらに、Immunoscore は近年実用化された免疫チェックポイント阻害薬である PD1/PD-L1 抗体薬の作用対象である CD8 陽性 T 細胞の腫瘍への浸潤を評価していることから、PD1/PD-L1 抗体薬の治療効果を予測する上で重要な因子になる可能性も考えられている。腫瘍微小環境において、CD8 陽性 T 細胞の浸潤が多く認められる Hot tumor で PD1/PD-L1 抗体薬の効果が認められ、CD8 陽性 T 細胞の浸潤が認められない Cold tumor では PD1/PD-L1 抗体薬の効果が得られにくいとされている。よって、Immunoscore は大腸癌において有用な予後予測因子であり、腫瘍免疫応答を評価する上で有用な定量的指標とされている。

しかし、閉塞性大腸癌と非閉塞性大腸癌との間に腫瘍部の炎症・免疫応答に差があるかどうか、Immunoscore のような定量的指標による十分な検討は、いまだ十分にされていない。さらに大腸ステント留置術により、ステント留置部位の腫瘍に病理学的な変化や免疫学的な変化がおこる可能性が指摘されているが、Immunoscore による検討はされていない。

本研究では、閉塞性・非閉塞性大腸癌患者における腫瘍部の炎症・免疫応答の差の有無、および閉塞性大腸癌患者に対する大腸ステント留置術が腫瘍部の炎症・免疫応答に影響を与えているかどうか Immunoscore を用いて検討し腫瘍学的予後との関連を明らかにすることを目的とした。

第一章

目的：閉塞性大腸癌における予後不良の原因や閉塞性大腸癌における免疫学的な変化を Immunoscore 用いて明らかにする。

方法：2007 年 3 月から 2017 年 12 月に東京大学医学部附属病院で手術された、Stage II および III の閉塞性大腸癌 46 症例と、前者とマッチングをおこなった非閉塞性大腸癌 656 例中 46 症例の計 92 症例を解析対象とした。Propensity score を算出する因子は、再発、生存期間に影響をあたえる重要な因子である年齢、性別、術後補助化学療法の有無、Stage とした。マッチングの方法は nearest neighbor でおこない、Caliper 係数は 0.2 とした。

Immunoscore は、CD3、CD8 の免疫染色を各々おこない、スライドをデジタル化して取り込んだ後に画像解析ソフト (Tissue Studio;Definiens, Munich, Germany) により、腫瘍中心部と腫瘍先進部の CD3 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞数を計測し、 1mm^2 あたりの個数を各々調べることで評価した。既報のとおり、中央値より高濃度の数によって Immunoscore を I0~I4 に分類し、I0~I2 を Immunoscore Low とし、I3~I4 を Immunoscore High とした。アウトカムは全生存率 (overall survival, OS) と無病生存率(disease-free

survival, DFS)とし、DFS のイベントは再発と死亡とした。調査項目は Immunoscore とした。本研究では閉塞性大腸癌の定義を「通常径の内視鏡が通過しない」かつ「CROSS (Colorectal obstruction scoring system) 2 点以下、つまり絶食または流動食摂取まで食事を制限する必要があった患者」とした。

結果：大腸癌全体（閉塞性大腸癌＋非閉塞性大腸癌）の 92 症例の Immunoscore は、Immunoscore Low 66.3%、Immunoscore High 33.7%であった。また、非閉塞性大腸癌と比較し閉塞性大腸癌の Immunoscore Low が有意に多かった（閉塞性大腸癌 Low/High 78.3% vs 21.7%、非閉塞性大腸癌 54.3% vs 45.7%、 $p=0.0251$ ）。OS については Immunoscore High と Low で差がなかったが、DFS は Immunoscore High で有意に長かった ($P=0.0090$)。本症例における大腸癌の再発リスクに関わる因子について、Stage、年齢、Immunoscore、性別、術後補助化学療法の有無、閉塞の有無、喫煙の有無で単変量解析を行った。OS に関連する因子は認めなかったが、DFS は Stage II / III と Immunoscore Low / High が有意に影響を認め、ハザード比はそれぞれ (HR; 95%CI 1.60-6.15; $p=0.0013$)、(HR; 95%CI :1.26-7.35; $P=0.0065$) であった。閉塞性大腸癌と非閉塞性大腸癌の OS、DFS には有意差がなかった。

結論：Stage II / III 大腸癌症例において、大腸閉塞群の Immunoscore Low が非閉塞群と比べて多かった。解析対象症例において、Immunoscore Low は、DFS に関連がある因子であると確認された。手術可能症例においては、大腸閉塞の有無は、OS、DFS に関連する因子とは示唆されなかった。

第二章

目的：閉塞性大腸癌において、BTS 群と手術単独群の Immunoscore を計測し、ステント留置による免疫学的な影響を明らかにする。

方法：2007 年 3 月から 2017 年 12 月に東京大学医学部附属病院で手術された、Stage II および III の閉塞性大腸癌 BTS 症例 23 例と、前者とマッチングをおこなった 91 症例中 23 例の手術単独群を解析対象とした。Propensity score を算出する因子は、再発、生存期間に影響をあたえる重要な因子である年齢、性別、術後補助化学療法の有無、Stage とした。マッチングの方法は nearest neighbor でおこない、Caliper 係数は 0.2 とした。Immunoscore 計測方法は第 1 章と同様におこなった。アウトカムは OS、DFS、Immunoscore、病理組織所見（神経侵襲、静脈侵襲、リンパ管侵襲）とした。

結果：BTS 群と手術単独群の Immunoscore に差はなかった ($p=1.00$)。BTS 群と手術単独群では OS に有意差は認めなかった ($p=0.901$)。BTS 群の 5 年生存率は 78.2%、手術単独群の 5 年生存率は 75.7%であった。BTS 群と手術単独群の DFS に関しても有意差は認めなかった ($p=0.741$)。両群の再発部位にも偏りがなく、両群とも肝転移による再発が最も多く認められた。大腸ステント留置から手術までの期間は中央値 28 日（範囲 10 日– 81 日）であった。ステント留置期間によって静脈侵襲、リンパ管侵襲、神経侵襲への影響を解析した

が変化はみられなかった。閉塞性大腸癌における予後に関わる因子を解析した。閉塞性大腸癌において OS に関わる因子は明らかではなかった。DFS に関わる因子に関して単変量解析をおこなったところ、神経侵襲有り ($p = 0.0063$) と Stage III ($p = 0.0488$) が DFS を悪化させる因子であった。

結論：BTS 群と手術単独群では Immunoscore、病理組織像の明らかな差異は指摘されなかった。

第三章

目的：BTS 症例 23 例の大腸ステント留置から手術までの期間（ステント留置期間）と病理学的変化、Immunoscore、再発との関係性を統計学的に明らかにする。

方法：BTS 症例 23 例の腫瘍周囲膿瘍や非腫瘍部粘膜潰瘍など、大腸ステント留置に伴う病理学的変化について診断をおこない解析した。ステント留置から手術までの期間（ステント留置期間）と病理学的変化、Immunoscore、再発との関係性を統計学的に評価した。

結果：大腸ステント留置から手術までの期間は最短で 10 日、最長で 81 日であった（中央値 28 日）。28 日を基準として Immunoscore と再発との関係を調べたが、両者とも統計学的な差はみられなかった（Immunoscore $p = 0.146$ 、再発 $p = 0.261$ ）。また、大腸ステント留置による機械的腸管圧排により生じる腫瘍周囲膿瘍と非腫瘍部粘膜潰瘍の有無や程度は、Immunoscore、再発の有無との関連を示唆しなかった。

まとめ：本論文は閉塞性大腸癌と非閉塞性大腸癌、BTS 群と手術単独群の Immunoscore を比較した新しい試みである。既報の通り、Immunoscore は Stage II/III 大腸癌全体においては DFS に関連する因子であった。大腸閉塞群の予後は非閉塞群と変わらず良好であったが、Immunoscore Low が非閉塞群と比べて多かった。また、BTS 群と手術単独群の Immunoscore には差がなかった。BTS の予後は手術単独群と比べて差がなく、閉塞性大腸癌における大腸ステント留置術は考慮すべき治療法の一つである。