

博士論文

大腸癌肝転移に対する周術期化学療法の
奏効評価法・奏効規定因子の探索

西 岡 裕 次 郎

目次

目次	1
略語一覧	4
要旨	6
第 1 章：序文	7
第 1 節：大腸癌の疫学	7
第 2 節：大腸癌に対する治療戦略	7
第 3 節：大腸癌肝転移に対する治療戦略	8
第 1 項：切除可能性による治療選択肢の違い	8
第 2 項：切除可能性の評価	10
第 3 項：大腸癌肝転移に対する術前化学療法	11
第 4 節：大腸癌肝転移に対する化学療法の奏効評価	13
第 5 節：本研究の目的	15
第 2 章：研究 1 「大腸癌肝転移における術前化学療法の奏効評価法の検討」 .	17
第 1 節：研究 1 の方法	17
第 1 項：対象	17

第 2 項：腫瘍の放射線学的奏効評価	18
第 3 項：腫瘍の病理学的奏効評価	19
第 4 項：統計学的解析	20
第 2 節：研究 1 の結果	21
第 1 項：患者背景	21
第 2 項：放射線画像における腫瘍の形態学的変化と腫瘍径変化の相関	25
第 3 項：腫瘍の放射線学的奏効と病理学的奏効の相関	25
第 4 項：術前化学療法による形態学的 Optimal Response の予測因子	27
第 5 項：術前化学療法の奏効と肝切除後長期予後の関連	30
第 6 項：肝切除後の予後予測因子	33
第 3 章：研究 2 「大腸癌肝転移における術前化学療法の奏効規定因子の探索」	35
第 1 節：研究 2 の方法	35
第 1 項：対象	35
第 2 項：新規バイオマーカーの候補遺伝子の探索	35
第 3 項：他症例における新規バイオマーカー候補の検索	41
第 4 項：腫瘍の放射線学的奏効評価・病理学的奏効評価	41
第 5 項：統計学的解析	41

第 2 節：研究 2 の結果	42
第 1 項：腫瘍組織と背景肝組織における MICA 多型解析.....	42
第 2 項：患者背景.....	43
第 3 項：遺伝学的背景と化学療法効果の関連.....	45
第 4 項：術後成績との関連.....	50
第 4 章：考察.....	54
まとめ.....	62
結論.....	64
第 5 章：総括と今後の展望.....	65
引用文献.....	67
本研究の公表について.....	80
謝辞.....	81

略語一覽

5-FU; 5-Fluorouracil

95%CI; 95% Confidence Interval

CT; Computed Tomography

DFI; Disease Free Interval

EGFR; Epidermal Growth Factor Receptor

ESMO; European Society for Medical Oncology

FOLFOX; 5-Fluorouracil /Leucovorin + Oxaliplatin

FOLFIRI; 5-Fluorouracil /Leucovorin + Irinotecan

FOLFOXIRI; 5-Fluorouracil /Leucovorin + Oxaliplatin + Irinotecan

HR; Hazard Ratio

LV; Leucovorin

MICA; MHC class I polypeptide-related sequence A

MDT; Multidisciplinary Team

NCCN; National Comprehensive Cancer Network

OR; Odds Ratio

OS; Overall Survival

PFS; Progression Free survival

RCT; Randomized Controlled Study

RECIST; Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

RFS; Recurrence Free survival

TNI; Tumor-Normal Interface

UFT; Teragur-Uracil

VEGF; Vascular Endothelial Growth Factor

vs; versus

要旨

大腸癌肝転移の治療は肝切除が基本だが、術前化学療法施行例では病理学的奏効の予測が重要である。しかし、この予測は腫瘍径変化のみでは不十分で、さらに化学療法感受性の予測因子は腫瘍 RAS 遺伝子以外に知られていない。今回、大腸癌肝転移の CT 腫瘍形態に着目して病理学的奏効・長期予後との関連を評価し、さらに網羅的遺伝子解析による新規バイオマーカーの探索を行った。結果、化学療法後 CT 腫瘍形態は腫瘍径に依らず病理学的奏効および術後成績と有意に相関し、**Bevacizumab** 投与が形態学的奏効の予測因子であった。さらに、遺伝子解析の結果、患者自身の **MICA A5.1** 多型が化学療法の良好な感受性および切除後成績のバイオマーカーとなる可能性が示された。

第 1 章：序文

第 1 節：大腸癌の疫学

大腸癌は全世界で年間 1.2 億人以上の新規罹患が確認され、悪性新生物による死亡原因のうち第 3 位を占めている。[1] 欧米の年齢調整罹患率・死亡率がそれぞれ 30%前後・10%前後であるのに対して、アジアでは 12.9%・6.6%とやや低いものの、本邦における大腸癌による死亡率は増加の一途を辿っており、厚生労働省の平成 28 年度統計では大腸癌の年次死亡数約 5 万人、人口 10 万対死亡率 42.9、と悪性新生物による死亡の中の 13.4%を占めて肺癌に次ぐ第 2 位となっている。[2] その中でも肝臓は大腸癌の転移・再発部位として最も頻度の高い場所であることが知られており、全大腸癌患者のうち 35-55%において最終的に肝転移再発が認められ、[3] 大腸癌全体の死因の 3 分の 2 以上を肝転移が占めると報告されている。[4] また、本邦における報告でも、大腸癌全体の 10.9%に同時性肝転移を認め、さらに治癒切除後の再発部位のうち 41%を肝臓が占める、と報告されている。

第 2 節：大腸癌に対する治療戦略

Stage I・II・III の大腸癌、すなわち遠隔転移を伴わない大腸癌に関しては、「大腸癌治療ガイドライン 医師用 2016 年版」において、アプローチ法およびリン

パ節郭清度の差はあれ、全て切除加療が推奨され、さらに Stage III の大腸癌に対しては 6 ヶ月間の術後補助化学療法の施行が推奨されており、5-fluorouracil (5-FU) + Leucovorin (LV)や Teragur-Uracil (UFT) + LV、Capecitabine (Cape)、といったレジメンに加えて、[5,6] 近年では 5-FU/LV + Oxaliplatin (FOLFOX) や Capecitabin + Oxaliplatin (CapeOX)がさらなる再発抑制効果をもたらすことが randomized controlled study (RCT)で示されている。[7,8] 一方、Stage IV、すなわち遠隔転移を伴う大腸癌に関しては具体的な治療アルゴリズムが存在していないのが実情であり、特に頻度や大腸癌の予後への影響が最も大きい大腸癌肝転移に対する適切な治療アプローチの開発は、臨床上非常に重要な課題である。

第3節：大腸癌肝転移に対する治療戦略

第1項：切除可能性による治療選択肢の違い

大腸癌肝転移に対して現時点で最も適切と考えられる治療方針は、本邦のガイドライン、欧米のガイドライン(National Comprehensive Cancer Network; NCCN, European Society for Medical Oncology; ESMO) のいずれにおいても、転移巣の外科的切除が可能であるか否かで大きく異なっている。[9,10]

まず切除可能な大腸癌肝転移においては、すべてのガイドラインで肝切除が第一選択とされている。大腸癌肝転移に対する肝切除の化学療法に対する優位

性を証明したランダム化比較試験は無いものの、肝切除術後の 5 年生存率は 35-58%と報告されている一方で、[11-13] 化学療法をメインとした非手術療法では、化学療法の発達が目覚ましい近年でさえ 5 年生存率が 20%にも満たないのが現状であり、[14] 切除可能な症例はやはり外科的切除を第一に考えるべきとするのが近年の潮流である。手術療法を行う際の術前化学療法に関して本邦のガイドラインでは、「切除可能肝転移に対する術前化学療法の有効性と安全性は確立されていない」として術前化学療法を推奨していないが、欧米では術前化学療法を行った上での肝切除が一般的である。ESMO ガイドラインにおいては Adam ら EGOSLIM グループの報告をもとに、5 個以上や腫瘍増大速度の速いなど「腫瘍学的悪性度が高い」と考えられる場合には術前化学療法を推奨するとされるのが本邦と世界の術前化学療法の考え方の大きな違いである。[15]

一方、切除不能と考えられる大腸癌肝転移については化学療法を用いた治療がメインとなるが、ESMO ガイドラインでは”Potentially resectable”と”Not resectable”の 2 群に、NCCN ガイドラインでは”Potentially convertible”と”Unconvertible”の 2 群に分けて記載がなされ、それぞれ治療の目標やそれを達成するための適切な化学療法レジメン選択の方法論が述べられている。”Potentially resectable/convertible (潜在的な切除可能群)”は化学療法によって根治切除にたどり着く可能性がある集団、またそれにより予後の改善が見込

める可能性を有した集団であり、初診時切除困難と判断されたとしても切除への conversion を目指した積極的な化学療法が推奨されている。

第 2 項：切除可能性の評価

上述の通り、大腸癌肝転移の治療方針決定においてはまず切除可能か否かを判断する必要があるが、NCCN・ESMO いずれのガイドラインにおいても、切除可能性の評価は外科医、肝臓内科医・腫瘍内科医を含んだ集学的チーム (multidisciplinary team; MDT) で行うことが望ましいとされる。[16] これは大腸癌肝転移の切除適応が単純に技術的な切除可能性 (technical resectability) のみならず、腫瘍学的に許容されるかどうか (oncological resectability) の 2 つの側面から判断されねばならないためである。[17]

まず大腸癌肝転移が技術的に切除可能かの判断は、腫瘍数や腫瘍径だけで決まるものではなく、腫瘍を遺残させることなく、かつ十分な残肝容量を血流および胆管を保った状態で残して切除可能かどうか、[18] また腫瘍の局在によってどのように安全なアプローチをとるべきかなど個々の症例によって総合的な判断が必要となる。したがって実際に手術を行う肝臓外科医でなくてはこの判断は難しく、過去の報告では肝臓外科医以外の医師によって切除不能と判断される大腸癌肝転移症例の約 6 割は、潜在的な切除可能性を有しているとする報

告もある[19]。

一方、腫瘍学的な面での切除可能性は、局所治療である手術により腫瘍の制御ないし根治確率がどの程度あり、予後改善効果がどのくらいあるかの予想に基づく判断である。これも腫瘍のサイズ、個数といった形態学的な因子のみならず、遺伝子変異の有無、原発巣診断から転移までの時間経過、腫瘍増大の速度、化学療法へのレスポンスなど複合的な要因を考慮する必要がある。特に有効な抗がん剤が使用可能となった現在において、化学療法による腫瘍の制御を行いつつ、手術の意義のある患者をどのように選び出すかは重要な課題であるが、この分野はエビデンスに乏しく、過去のデータに基づいた客観的な判断基準の確立が求められている。

第3項：大腸癌肝転移に対する術前化学療法

現在の進行再発大腸癌に対する化学療法は、1990年代の5-FU+LV療法に始まり、2000年代に入ってこれにOxaliplatinを組み合わせたFOLFOX療法やIrinotecanを組み合わせたFOLFIRI療法が登場したことで急速に進歩した[20-22]。2000年代後半には、血管内皮細胞増殖因子(VEGF; Vascular Endothelial Growth Factor)に対するモノクローナル抗体であるBevacizumabや、上皮成長因子受容体(EGFR; Epidermal Growth Factor Receptor)に対するモノクローナル抗体である

Cetuximab・Panitumumabなどの分子標的薬[23-25]および5-FU/LV・Oxaliplatin・Irinotecanの3剤を組み合わせたFOLFOXIRIレジメンが登場したことで、[26] 大腸癌に対する化学療法の選択肢は非常に幅広いものとなりつつある。

前項までに述べた通り、化学療法を用いながら切除可能性のある患者を見逃さず、切除可能性がマージナルなケースでも根治切除に持ち込むことを目標にすることで大腸癌肝転移症例全体の予後改善を目指すのが近年の潮流であるが、この目的を達成するためにまず重要となるのは、現在使用可能な化学療法の選択肢の中から適切なレジメンをどのように選択していくかという点である。大腸癌肝転移に対する術前化学療法において、切除困難例を根治切除にもちこむ(conversion)ことができる確率は、化学療法の奏効率と強い相関があり、[27,28] 特に腫瘍ボリュームの大きな症例においては奏効度合いの高いレジメンを選択することが重要性と考えられている。一方で化学療法によって腫瘍サイズの縮小が得られなくても、腫瘍増大の制御ができていれば、切除による根治可能性が十分期待できるという報告もある。[29] したがって、術前化学療法の目的は腫瘍縮小が必ずしもゴールとなるわけではなく、化学療法副作用を回避しつつ何を治療の目標に据えるのかによってレジメン選択は変えるべきであり、また腫瘍の生物学的性質を見据えた適切な抗がん剤の選択も求められる。

現在、化学療法の効果予測マーカーとして、抗EGFR抗体薬に対する腫瘍組

織の RAS 遺伝子変異が実臨床で用いられている。[30] RAS 遺伝子は EGFR 細胞内シグナル伝達経路の 1 つを担っており、これに変異が起こると下流への恒常的なシグナル伝達が起こり EGFR 阻害による抗腫瘍効果が無効になると考えられている。大腸癌 RAS 遺伝子の変異は、大腸癌の悪性度や部位別の再発リスク、[31-34]そして化学療法の病理学的奏効に相関することが報告されている[35]。しかし大腸癌の遺伝的背景は非常に複雑かつ不均一であり、RAS 遺伝子変異のみですべての臨床経過を予測・説明できるわけではない。近年、癌の遺伝的背景の解析から適切な抗がん剤や治療の選択につなげようとする”precision medicine”の概念が注目されているが、大腸癌の治療経過に影響を与える遺伝的背景は未解明の部分が多いのが現状である。

第 4 節：大腸癌肝転移に対する化学療法の奏効評価

現在の ESMO のガイドラインでは RAS, BRAF といったバイオマーカーの変異の有無をもとに、奏効度合いの高いレジメンの選択を行い、腫瘍縮小を最大限に求めることが治療のゴールと記載されている。固形腫瘍に対する化学療法の「効果」の評価方法としては、CT (Computed Tomography)画像上における腫瘍径の変化により分類する RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)が広く用いられており、[36] これは腫瘍の縮小により生存期間の延長が得られると

ともに手術加療への conversion の機会が得られる可能性が高くなるであろうとする考え方に基づいている。[10]

しかし近年、抗 VEGF 抗体薬である Bevacizumab を使用した症例において、有意な腫瘍縮小が認められなかったにも関わらず、Bevacizumab 投与例では有意に長期予後が改善したとする報告がなされるようになってきている[37,38]。RAS 野生型患者を対象に抗 EGFR 抗体薬と抗 VEGF 抗体薬の効果を直接比較した FOLFIRI/FOLFOX + Cetuximab vs. FOLFIRI/FOLFOX + Bevacizumab の第 III 相試験 (CALGB/SWOG 80405)では、Cetuximab 使用群の方で有意に奏効率が高かったにも関わらず、全生存期間には両群で差が認められなかった (FOLFIRI/FOLFOX + Cetuximab 中央値 32.0 ヶ月 vs. FOLFIRI/FOLFOX + Bevacizumab 中央値 31.2 ヶ月) [39]。これは見た目の腫瘍縮小度合いだけで化学療法の効果の判断や予後の予測ができない可能性を示している。

これを裏付けるデータとして近年、化学療法による病理学的奏効度合いが大腸癌肝転移の予後指標となりうることが報告されている。[40-42] Bevacizumab を用いた症例においては infarct-like necrosis と称される特徴的な壊死が腫瘍内部に見られやすく、[43,44] 腫瘍辺縁に残存する生存腫瘍集塊の厚み (tumor-normal interface; TNI) が術後成績の予測に有用である可能性が示されている。[45] これらはサイズに現れない病理学的な奏効の「質」の違いが、サイズの変化とは独

立して予後予測因子としてなりうることを示唆する結果である。しかし、病理学的奏効の問題点は切除しなければわからないという点にある。これを打開する手法として、CT 画像における腫瘍の造影状態の変化に注目した病理学的奏効の予測法、「形態学的奏効 morphologic response」という考え方が提唱され、その有用性が報告されてきている。[46-48]

このように化学療法の進歩とともに大腸癌肝転移に対する化学療法の奏効評価は従来のようにサイズだけに注目した一元的な評価では難しくなっており、CT 画像における形態学的変化も加味した多元的な評価が求められるようになってきている。

第 5 節：本研究の目的

以上の背景を踏まえると、現在の大腸癌肝転移治療における臨床上的大きな課題として、①分子標的治療薬の時代における大腸癌肝転移の化学療法へのレスポンスの適切な評価法の確立、そして②腫瘍の生物学的振る舞いや、化学療法へのレスポンスを規定している遺伝学的背景の検索の 2 点が挙げられる。そこで本研究では、まず、病理学的奏効を予測するツールとしての CT 画像における形態学的奏効という現象に着目し、CT 画像上での腫瘍の変化と病理組織像の相関を明らかにするとともに、その予後への影響を検討すること（研究 1）、大

腸癌肝転移症例の網羅的遺伝子解析に基づき、化学療法へのレスポンスや腫瘍の生物学的悪性度を規定している遺伝学的背景を探ること（研究2）を目的とした。

第2章：研究1「大腸癌肝転移における術前化学療法の奏効評価法の検討」

第1節：研究1の方法

第1項：対象

2008年1月から2014年6月の期間に東京大学肝胆膵外科および虎の門病院肝胆膵外科において、大腸癌肝転移に対して肝切除が施行されたものが400例であった（東京大学242例、虎の門病院158例）。このうち、初診時に切除不能もしくは腫瘍学的に外科的切除でのコントロール困難と判断され、5-FUをベースとする化学療法が行われた後に切除に至ったものが128例（32%）であった。化学療法のレジメン選択については、東京大学・虎の門病院ともに5-FU+Oxaliplatinの組合せを基本選択としており、特に分子標的薬の使用が一般的となった2010年以降では腫瘍RAS遺伝子変異が確認された症例では抗VEGF阻害薬であるBevacizumabが投与されることが多かったが、レジメン選択は患者の希望や社会的背景などを勘案して主治医が適宜行っていた。術前化学療法の効果をより純粹に評価するために、（初期治療の非奏効に伴う）2種類以上のレジメンによる化学療法が行われた症例、もしくは抗EGFR薬を含むレジメンによる化学療法が行われた症例、合わせて32例および明らかに肉眼的な癌遺残陽性であったR2切除10例を除いた、全86例を検討の対象とした。

第 2 項：腫瘍の放射線学的奏効評価

全症例で造影 CT はマルチスライスダイナミック CT を用いて行われており、この門脈相における腫瘍形態学的評価および腫瘍サイズ評価について 2 名の放射線科医が臨床情報を伏せられた状態で行った。術前後のフォローは、術前化学療法の間は 2-3 ヶ月間隔で行われ、術後は腹部超音波と造影 CT を 3 ヶ月毎に施行し、腫瘍マーカーや腹部超音波で再発が疑われた場合は造影 CT が行われていた。

大腸癌肝転移巣の CT 腫瘍形態に基づいた奏効評価分類について、過去の研究における報告に沿った以下のような基準で行った。[41]

Group 1: 腫瘍全体で均一かつ造影効果の乏しさが認められ、

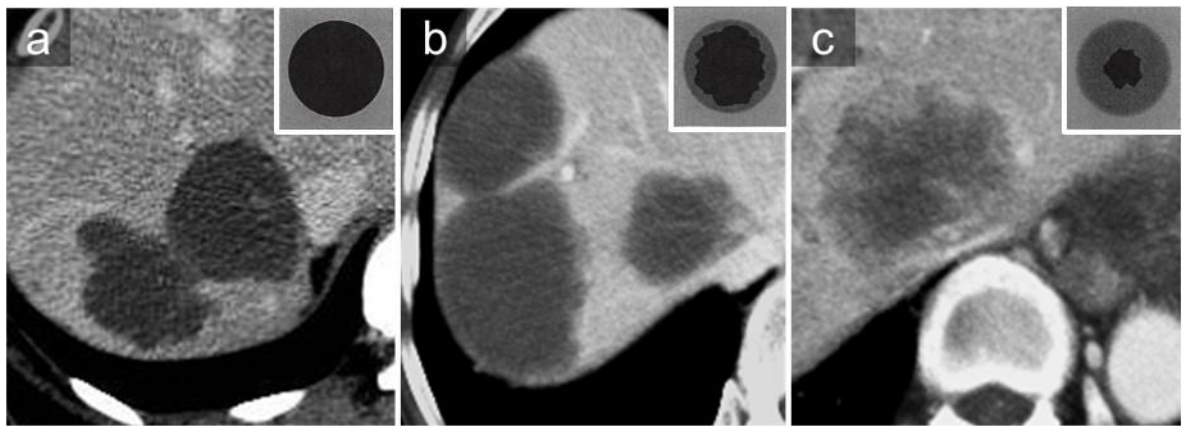
周囲肝実質と腫瘍の境界が明瞭かつ平滑となっている。

Group 2: Group 1・Group 3 のいずれにも分類されない。

Group 3: 腫瘍全体の造影効果が不均一であり、

周囲肝実質と腫瘍の境界が不明瞭かつ塑造となっている。

図 1 化学療法後 CT 腫瘍形態の分類（各図の右上は模式図）



a: CT 腫瘍形態 Group 1 b: CT 腫瘍形態 Group 2 c: CT 腫瘍形態 Group 3

そして、化学療法前と化学療法後の CT 腫瘍形態比較で、Group 2/3 → Group 1 と変化したものを「Optimal Response」、Group 3 → Group 2 もしくは Group 3 に変化のなかったものを「Suboptimal Response」と定義した。なお、複数の腫瘍が認められた症例においては、最大径の腫瘍の変化を評価対象とした。2名で Group の評価が分かれた場合には合議の上で最終分類を決定したが、評価者間一致率は初回の評価結果に基づいて算出した。

同時に、腫瘍径についても評価を行い、従来からの奏効評価法である RECIST version 1.1 に基づいて化学療法前後での変化率に応じた分類を行った。[36]

第 3 項：腫瘍の病理学的奏効評価

全症例の切除標本において hematoxylin-eosin 染色のプレパラートが作成され、これに対する病理学的奏効評価について 1 名の病理医が臨床情報を伏せられた

状態で行った。

各症例における最大径の腫瘍について（＝放射線学的評価を行ったものと同じ腫瘍について）、腫瘍全体の面積のうち残存する腫瘍細胞の占める面積を 5% 刻みで定量的に評価した。

第 4 項：統計学的解析

連続変数の比較には Mann-Whitney U 検定を、非連続変数の比較には Pearson のカイ二乗検定もしくは Fisher の正確検定を用いて行い、画像評価における評価者間の一致率の比較には κ 統計量を用いた。肝切除術後の全生存期間（OS, Overall Survival）および無再発生存期間（RFS, Recurrence Free Survival）は、それぞれ手術日から死亡日もしくは初回再発日までの期間と定義し、明らかなイベント発症を認めなかった症例に関しては最終受診日を以って打ち切りとした。Kaplan-Meier 法を用いて生存曲線を作成し、群間の有意差検定は Log-rank 検定を用いて行った。化学療法効果の予測因子の解析については、まず単変量解析を行い、 $P < 0.2$ となった因子を用いてロジスティック回帰分析による多変量解析を行った。また、予後予測因子の解析については、 $P > 0.10$ を基準とする変数減少法による Cox 回帰分析による多変量解析を行った。統計解析は JMP version 11.0 (SAS Insutitute Inc., USA)を用いて行い、いずれの検討に置いても $P < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

第2節：研究1の結果

第1項：患者背景

研究1の対象患者の背景を表1に示す。全86患者のうち、東京大学医学部附属病院・肝胆膵外科で手術を受けた患者が59名(69%)、虎の門病院で手術を受けた患者が27名(31%)であった。男性が49名(57%)、女性が37名(43%)で、コホートの年齢中央値は61.5歳(28-83歳)であった。大腸癌原発巣の位置は、58名(67%)が結腸、28名(33%)で、63名(73%)で原発巣切除時のリンパ節転移が陽性であった。39名(45%)において、肝切除の時点で肝臓以外の大腸癌転移巣が存在しており、内訳は以下の通りであった：肺(21名)、遠隔リンパ節(12名)、腹膜播種(4名)、副腎(1名)、脾臓(1名)、卵巣(1名)、膈壁局所遺残(1名)。この39名のうち、19名は肝切除時に肝外転移巣も同時切除を行い、14名(全て肺転移)では肝切除後に改めて肺切除による転移巣切除を行い(肝切除から肺切除までの期間の中央値は4ヶ月)、残り6名は、化学療法により肝外転移巣の完全消失が得られ、その後も同部位への再発を認めなかった。大腸癌原発巣切除から肝切除までの期間は、31名(36%)で6ヶ月未満であった。65名(76%)で複数の肝転移巣が認められていた。全員が5-FUをベースとした化学療法を肝切除前に受けており、その詳細はOxaliplatinとの組合せが63名(73%)、Irinotecanとの組合せが12名(14%)、Oxaliplatinおよび

Irinotecan との組合せが 11 名 (13%) であり、65 名 (76%) で抗 VEGF 薬 (Bevacizumab) が併用されていた。肝切除前の化学療法のサイクル数の中央値は 6 サイクル (1-30) であった。組織学的断端陰性 (R0 切除) は 57 名 (66%) で得られており、残り 29 名 (34%) では腫瘍から切離面までの margin が 1mm 未満となる組織学的断端陽性 (R1 切除) であった。二期的切除を行った症例はなく、ラジオ波焼灼・免疫療法などの他の抗腫瘍療法を行った患者はいなかった。

なお、86 名のうち 7 名 (8%) では化学療法前に造影 CT が施行されていなかった。

表 1 研究 1 の対象患者背景

患者背景因子	症例数	%
年齢		
中央値	61.5	
範囲	28-83	
性別		
男性	49	57
女性	37	43
原発巣位置		
結腸	58	67
直腸	28	33
肝外転移の存在		
あり	39	45
なし	47	55
原発巣のリンパ節転移		
陽性	63	73
陰性	20	23
DFI（原発切除から肝転移診断までの期間）		
6ヶ月未満	53	62
6ヶ月以上	33	38
肝転移個数		
単発	21	24
多発	65	76
肝切除術前腫瘍径(cm)		
中央値	25	
範囲	2.4-119	
化学療法レジメン（5-FUに加えて）		
Oxaliplatin	12	14
Oxaliplatin + Bevacizumab	51	59
Irinotecan	6	7
Irinotecan + Bevacizumab	6	7
Oxaliplatin + Irinotecan	3	3
Oxaliplatin + Irinotecan + Bevacizumab	8	9
術前化学療法のサイクル数		
中央値	6	

範囲	1-30	
術前門脈塞栓術の施行	6	
手術因子		
2 区域未満の切除	35	41
2 区域以上の切除	51	59
手術時間 (分)		
中央値	410	
範囲	88-933	
出血量(mL)		
中央値	698	
範囲	0-4255	
輸血の施行	12	14
外科的根治度		
R0 切除	57	66
R1 切除	29	34
術後合併症		
あり	34	40
重篤合併症(Clavien-Dindo >Grade3)	8	9
術後 90 日以内の死亡	0	
治療施設		
東京大学医学部附属病院	59	69
虎の門病院	27	31

第2項：放射線画像における腫瘍の形態学的変化と腫瘍径変化の相関

まず、化学療法前後における放射線画像上の変化を見るため、化学療法前に造影 CT が施行されなかった 7 名を除く 79 名での解析を行った。化学療法後の造影 CT における腫瘍の形態学的評価では、18 名 (23%) が Group 1 に分類されて Optimal Response と判定されたのに対し、25 例 (32%) が Group 2 に、36 名 (46%) が Group 3 に分類されて Suboptimal Response と判定された。RECIST による腫瘍径変化での評価では、40 名 (51%) が Partial Response (PR) に、30 名 (38%) が Stable Disease (SD) に、9 名 (11%) が Progressive Disease (PD) に分類された。

CT 腫瘍形態変化と腫瘍径変化の相関は、RECIST で PR に分類された 40 名のうち 11 名 (28%) が Optimal Response と判定されたのに対して、SD または PD に分類された 39 名のうち Optimal Response と判定されたのは 7 名 (18%) であり、両者には相関は認められなかった ($P=0.43$)。CT 腫瘍形態の評価者間一致率は $\kappa=0.99$ と非常に高かった。

第3項：放射線学的な形態学的評価および腫瘍径変化と病理学的奏効の相関

腫瘍の総面積に対する残存癌組織の占める割合 (腫瘍残存率) の中央値は、化学療法後のみの形態学的評価による分類では、Group 1 で 10% (四分位範囲 (IQR) 8-20%)、Group 2 で 35 (IQR 10-80%)、Group 3 で 70 (IQR 40-80%) ($P<0.001$) であった (図 2-1)。一方、化学療法前 CT の撮像されなかった 7 例を除く 79 例

における RECIST による分類では、PR で 40% (IQR 10-70%)、SD で 35% (IQR 10-70%)、PD で 70% (IQR 35-77.5%) ($P=0.177$) であり (図 2-2)、形態学的分類の方が RECIST 分類よりも病理学的奏効とより強く相関していた。

図 2-1 CT 腫瘍形態による放射線学的奏効評価と病理学的腫瘍残存率の相関

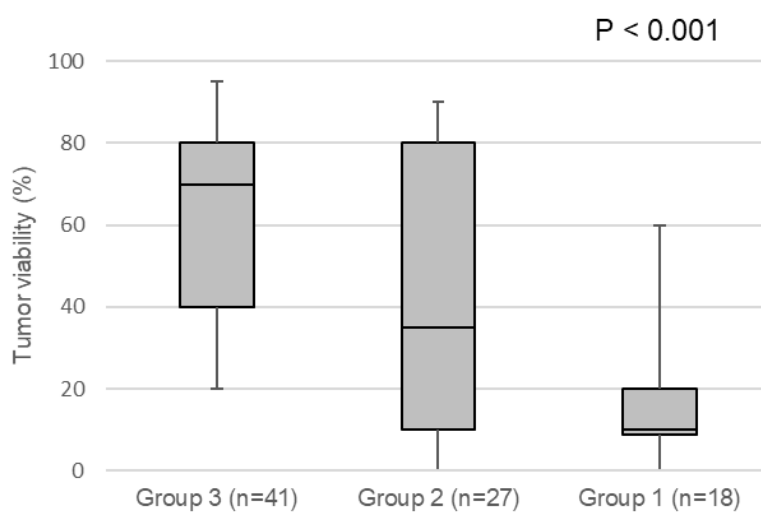
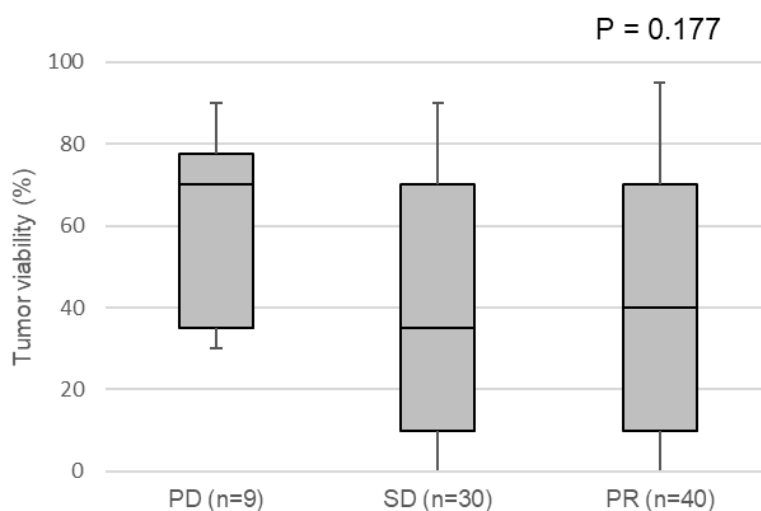


図 2-2 RECIST による放射線学的奏効評価と病理学的腫瘍残存率の相関



第4項：術前化学療法による形態学的 Optimal Response の寄与因子

CT 腫瘍形態の Optimal Response の寄与因子を解析するために、以下の計 12 因子を用いた多変量 Cox 回帰分析を行った (表 2)：年齢 (≥ 60 / < 60)・性別 (男性/女性)・原発巣位置 (結腸/直腸)・肝外転移 (有/無)・原発巣リンパ節転移 (有/無)・腫瘍个数 (単発/多発)・腫瘍径 ($\geq 5\text{cm}$ / $< 5\text{cm}$)・術前化学療法サイクル数 (≥ 6 / < 6)・化学療法レジメン (Oxaliplatin/Irinotecan/二剤併用)・Bevacizumab 投与 (有/無)・化学療法前の CT 腫瘍形態 (Group 2/3)・手術施設 (東大/虎の門)。

この結果、単変量解析で原発巣リンパ節転移陰性 (オッズ比 (OR) 0.39; 95% 信頼区間 (CI) 0.13-1.24; $P=0.11$)、術前化学療法サイクル数 ≥ 6 (OR 2.94; 95% CI 0.94-11.1; $P=0.06$)、Bevacizumab 投与 (OR 7.08; 95% CI 1.31-132; $P=0.02$) の 3 因子が $P < 0.2$ を満たし、これらを用いた多変量解析では術前化学療法サイクル数 ≥ 6 (OR 3.57; 95% CI 1.08-14.3; $P=0.04$) と Bevacizumab 投与 (OR 6.80; 95% CI 1.18-129; $P=0.03$) の 2 因子が Optimal Response の関連因子として抽出された。

表 2 CT 腫瘍形態 Optimal Response の寄与因子に関する単変量/多変量解析

因子	症例数	Optimal Response 症例数		単変量解析			多変量解析		
		No.	%	<i>P</i>	OR	95% CI	<i>P</i>	OR	95% CI
年齢									
60 歳以上	46	10	21.7	0.84	1.11	0.39-3.24			
60 歳未満	40	8	20.0						
性別									
男性	49	9	18.4	0.50	0.70	0.24-2.01			
女性	37	9	24.3						
原発巣の位置									
結腸	58	14	24.1	0.28	1.91	0.60-7.31			
直腸	28	4	14.3						
肝外転移の存在									
あり	39	10	25.6	0.33	1.68	0.59-4.92			
なし	47	8	17.0						
原発巣のリンパ節転移									
あり	63	11	17.5	0.11	0.39	0.13-1.24	0.23		
なし	20	7	35.0						
肝転移の個数									
単発	21	4	19.0	0.81	0.86	0.22-2.78			
多発	65	14	21.5						
化学療法前の最大腫瘍径									
5cm 未満	52	13	25.0	0.41	1.67	0.51-6.51			
5cm 以上	24	4	16.7						

術前化学療法のサイクル数										
6 サイクル以上	51	14	27.5	0.06	2.94	0.94-11.1	0.04	3.57	1.08-14.3	
6 サイクル未満	35	4	11.4							
化学療法レジメン (5-FU に加えて)										
Oxaliplatin	63	11	17.5	0.46	0.56	0.14-2.88				
Irinotecan	12	4	33.3	0.75	1.33	0.22-8.71				
Oxaliplatin + Irinotecan	11	3	27.3							
Bevacizumab 投与										
あり	65	17	26.2	0.02	7.08	1.31-132	0.03	6.80	1.18-129	
なし	21	1	4.8							
化学療法前の CT 腫瘍形態										
Group 2	9	3	33.3	0.42	1.89	0.36-8.18				
Group 3	67	14	20.9							
治療施設										
東京大学医学部附属病院	59	12	20.3	0.84	0.89	0.30-2.86				
虎の門病院	27	6	22.2							

第 5 項：術前化学療法奏効と肝切除後長期予後の関連

全 86 患者の観察期間中央値は 42.4 ヶ月 (2-85 ヶ月) であり、60 名 (70%) に再発を認め、23 名 (27%) に大腸癌関連死亡を認めた。

術前化学療法の奏効に応じた生存曲線を作成し、肝切除後長期予後との関連について Kaplan-Mayer 法で解析を行った。形態学的分類による化学療法奏効の評価と RFS の関連は、**図 3-1** の通り、Group 1 の患者群では Group 2, Group 3 それぞれの群と比較して有意に RFS が長かった。(Group 1 vs. Group 2, $P=0.018$; Group 2 vs. Group 3, $P=0.198$; Group 1 vs. Group 3, $P<0.001$)。OS との関連でも、**図 3-2** の通り、Group 1 の患者群では Group 2, Group 3 それぞれの群と比較して有意に OS が長かった。(Group 1 vs. Group 2, $P<0.001$; Group 2 vs. Group 3, $P=0.770$; Group 1 vs. Group 3, $P=0.001$)。

一方、従来から用いられる RECIST 分類による化学療法奏効の評価と RFS の関連は、**図 3-3** の通り、PR・SD・PD の患者群間には明らかな有意差を認められなかった。(PR vs. SD, $P=0.191$; SD vs. PD, $P=0.689$; PR vs. PD, $P=0.662$)。動揺に OS との関連でも、**図 3-4** の通り、PR・SD・PD の患者群間で明らかな差は認められなかった。(PR vs. SD, $P=0.548$; SD vs. PD, $P=0.633$; PR vs. PD, $P=0.386$)。

図 3-1 化学療法後 CT 腫瘍形態による奏効評価と RFS

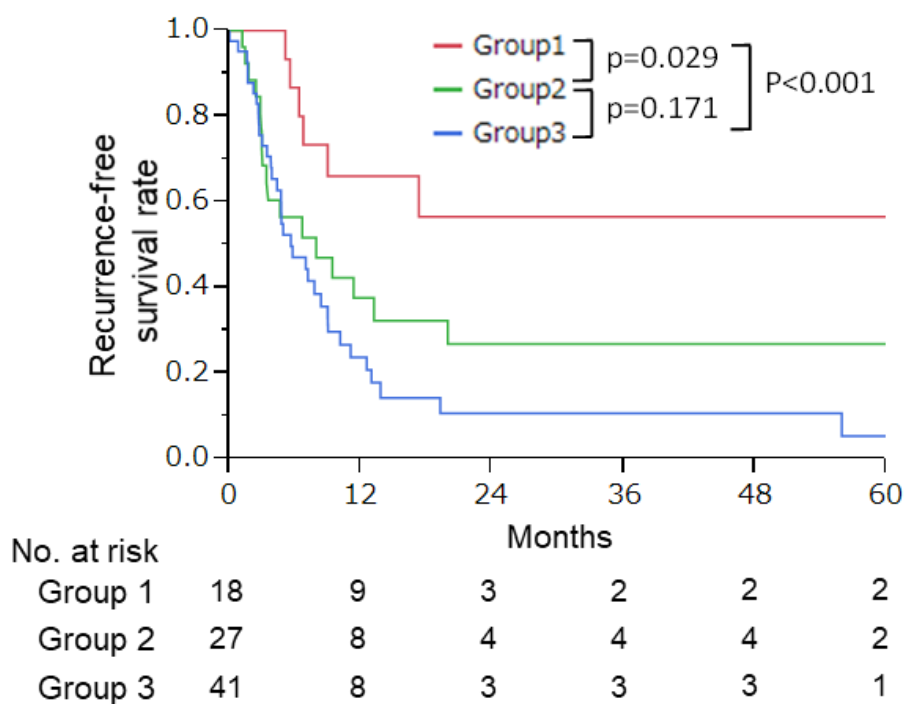


図 3-2 化学療法後 CT 腫瘍形態による奏効評価と OS

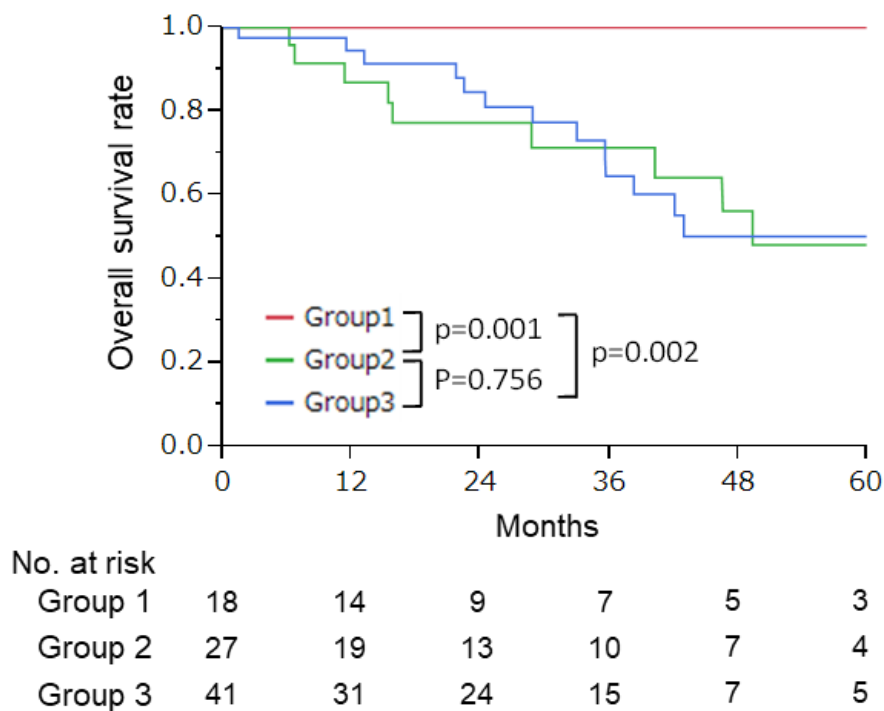


図 3-3 RECIST による奏効評価と RFS

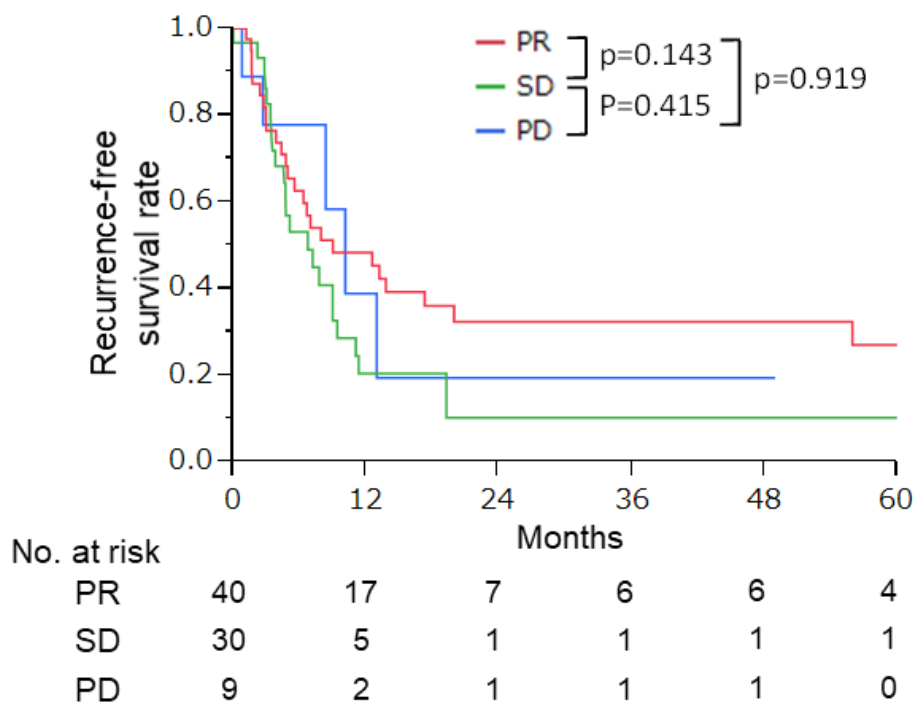
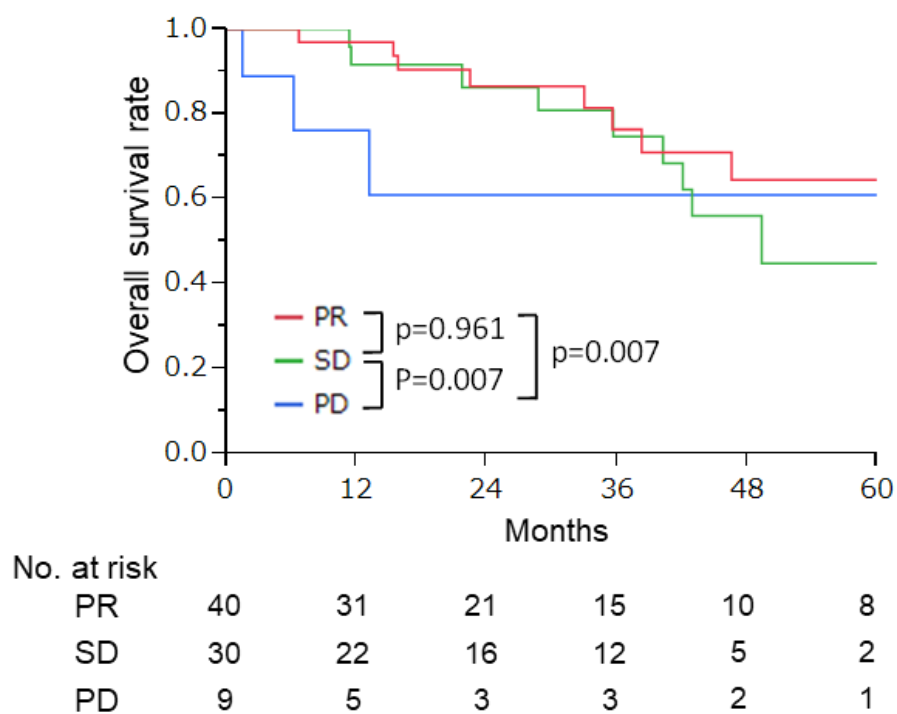


図 3-4 RECIST による奏効評価と OS



第 6 項：肝切除後の予後予測因子

観察期間中、CT 腫瘍形態 Group 1 の患者群 (= Optimal Response 群) では死亡例が認められなかったため、以下の計 14 因子を用いて再発のリスク因子に関する Cox 比例ハザード分析を用いた多変量解析を行った (表 3)： 年齢・原発巣リンパ節転移 (有/無)・肝外転移 (有/無)・原発巣切除と肝転移診断までの期間 (DFI; Disease Free Interval)・化学療法レジメン (Oxaliplatin/Irinotecan/二剤併用)・Bevacizumab 投与 (有/無)・腫瘍个数・腫瘍径・術前化学療法サイクル数・組織学的切除断端 (R1/R0)・肝切除術後補助化学療法 (有/無)・RECIST 分類での術前化学療法奏効 (PD/SD/PR)・肝切除術前の CT 腫瘍形態 (Group 3/2/1)・手術施設 (東大/虎の門)。

この結果、腫瘍数 (HR 1.100; 95%CI 1.04-1.16; $P<0.001$)、外科的根治度 (HR 0.458; 95%CI 0.27-0.78; $P=0.005$)、術前 CT 腫瘍形態 Group 2/3 (Group 1 vs. Group 2; HR 0.436; 95%CI 0.17-1.00; $P=0.050$, Group 2 vs. Group 3; HR 0.53; 95%CI 0.28-0.94; $P=0.031$) の 3 因子が術後再発における予後不良因子として抽出された。

さらに、術前 CT 腫瘍形態 Group 1 群では R0/R1 切除に依らず 3 年生存率 100% であったのに対して、術前 CT 腫瘍形態 Group 2/3 群における 3 年生存率は R0 切除 77.7%、R1 切除 52.2% ($P=0.025$) と R0 切除群で有意に予後良好であった。

表3 腫瘍再発因子に関する単変量/多変量解析

	<i>p</i>	回帰係数	標準偏差	ハザード比	95%信頼区間
腫瘍数	<0.001	0.099	0.025	1.100	1.04-1.16
外科的根治度 (R0 vs. R1)	0.005	-0.391	0.135	0.458	0.27-0.78
化学療法後腫瘍形態					
Group1 vs. Group2	0.050	0.831	0.448	0.436	0.17-1.00
Group2 vs. Group3	0.031	0.641	0.304	0.53	0.28-0.94

第3章：研究2「大腸癌肝転移における術前化学療法の奏効規定因子の探索」

第1節：研究2の方法

第1項：対象

2010年1月から2016年12月の期間に、東京大学医学部附属病院および虎の門病院において大腸癌肝転移に対して化学療法を行った後に造影CTを施行した上で肝切除を施行された86症例のうち、肝転移腫瘍組織と背景肝組織の両方の保存状態が遺伝子検査に耐え得る状態ではなかった28症例を除いた58症例を対象とした。なお、本研究は東京大学医学部附属病院と虎の門病院それぞれのヒトゲノム倫理審査委員会における承認の下に行い（東京大学 G10047, 虎の門病院 2015-13）、全対象患者から術前にインフォームドコンセントを取得した上で行った。

第2項：新規バイオマーカーの候補遺伝子の探索

まず、上記58例のうち術前化学療法により非常に良好な奏効（＝病理学的な腫瘍残存率20%以下）が得られ、かつ術後の長期予後が良好であった6例（G群）と術前化学療法の奏効が非常に不良（病理学的腫瘍残存率80%以上）でかつ術後の長期予後が不良であった4例（P群）を選び出した。そして、この計10例を用いて、新規バイオマーカーの候補遺伝子探索のために腫瘍組織の網羅

的遺伝子解析を行った。

DNeasy Blood & Tissue Kit[®] (QIAGEN) を用いて凍結腫瘍組織から DNA を抽出し、SeqCap EZ Comprehensive Cancer Design[®] (Roche Nimblegen) と次世代シーケンサーIllumina HiSeq 2000 による 578 がん遺伝子の網羅的遺伝子解析を行った。Reference germ-line としては、既知のヒトゲノムデータベース (Dbsnp135・1000 Genomes Project・NHLBI-ESP2500) を用いた。

その結果、遺伝子変異数の中央値は G 群 358 (207-422) に対して P 群 438 (370-606) と P 群でより多い変異が存在する傾向が認められた ($P=0.055$)。これらの変異のうち、2 群間での変異率の比較で $P < 0.2$ となる遺伝子が 75 個抽出された。その一覧ならびに知られている機能を表 4 に示す。G 群と P 群での変異率の差および各遺伝子の機能を考慮して、新規バイオマーカーの候補を MICA・ARID2・ZFHX3 の 3 つに絞り込んだ。この 3 つのうち、表 5 に示す通り、ARID2 では変異型が不明瞭もしくはバラバラであったのに対し、MICA だけは変異箇所がある 1 ヶ所の SNP (rs147557828) に集中し、かつ同一の変異型であった。このため、最終的に MICA (MHC class I polypeptide-related sequence A) を新規バイオマーカーの候補遺伝子とすることに決定した。

表 4 大腸癌肝転移の肝切除症例 10 例における 578 がん遺伝子の網羅的遺伝子

解析により、変異率の比較で $P < 0.2$ となった遺伝子

遺伝子	G 群での 変異数 (n=6)	P 群での 変異数 (n=4)	遺伝子の機能
<i>NUMA1</i>	1	4	nuclear matrix
<i>NSDI</i>	2	4	androgen receptor transactivation
<i>BYSL</i>	2	4	rRNA processing
<i>NUMBL</i>	0	3	NFkB signaling
<i>MUC22</i>	1	3	unknown
<i>FOXO1</i>	1	3	transcription factor
<i>MICA</i>	1	3	immune response
<i>LOC114110</i>	1	3	unknown
<i>ARID2</i>	1	3	chromatin organization
<i>CCDC168</i>	1	3	unknown
<i>AGUSBP11</i>	1	3	unknown
<i>ZFH3</i>	1	3	tumor suppressor
<i>A1BG</i>	0	2	unknown
<i>BRDT</i>	0	2	transcription regulation
<i>WDR60</i>	0	2	formation of cilia
<i>CENPP</i>	0	2	mitosis
<i>ATP10A</i>	0	2	cation transport ATPase
<i>LOC152217</i>	0	2	unknown
<i>CGNL1</i>	0	2	cell-cell junction
<i>ADAMTS2</i>	0	2	proteinase
<i>CLASRP</i>	0	2	unknown
<i>CA10</i>	0	2	hydration of CO2
<i>OC90</i>	0	2	unknown
<i>CNDP2</i>	0	2	nonspecific dipeptidase
<i>ARID1A</i>	0	2	transcriptional activation
<i>CRIPAK</i>	0	2	negative regulator of PAK1

<i>cELA3B</i>	0	2 elastase
<i>TBCC</i>	0	2 beta tubulin folding
<i>EIF2AK3</i>	0	2 mitochondrial function
<i>ERBB3</i>	0	2 EGFR family
<i>DNAH14</i>	0	2 motor protein
<i>HIVEP3</i>	0	2 unknown
<i>THBD</i>	0	2 activation of protein C
<i>KIAA0947</i>	0	2 unknown
<i>FOXD1</i>	0	2 unknown
<i>LIAA0284</i>	0	2 unknown
<i>IGFN1</i>	0	2 unknown
<i>ALDH3B1</i>	0	2 aldehyde dehydrogenase
<i>KIAA1377</i>	0	2 unknown
<i>HMCN1</i>	0	2 unknown
<i>PELO</i>	0	2 spermatogenesis
<i>MXRA5</i>	0	2 matrix remodeling
<i>CEP164</i>	0	2 assembly of primary cilia
<i>MYH7B</i>	0	2 heavy chain of myosin
<i>MREG</i>	0	2 unknown
<i>PRRC2B</i>	0	2 unknown
<i>SHISA9</i>	0	2 unknown
<i>FLJ43860</i>	0	2 unknown
<i>NES</i>	0	2 unknown
<i>NCAM1</i>	0	2 cell adhesion
<i>SLC13A1</i>	0	2 unknown
<i>SZT2</i>	0	2 superoxide dismutase
<i>GLB1</i>	0	2 galactosidase
<i>PLCD3</i>	0	2 phospholipase
<i>OPN4</i>	0	2 photoreceptive opsin protein
<i>TPTE</i>	0	2 signal transduction
<i>TRIM58</i>	0	2 unknown
<i>MUC16</i>	0	2 unknown
<i>TNN</i>	0	2 unknown
<i>CDH23</i>	0	2 cell adhesion

<i>TTBK1</i>	0	2	neuron-specific kinase
<i>TSC1</i>	0	2	stabilization of tuberin
<i>HLA-C</i>	3	0	HLA C
<i>FGFR1</i>	3	0	FGFR family
<i>KCNN3</i>	3	0	calcium channel
<i>PLAG1</i>	3	0	associated with pleomorphic adenoma
<i>BCL9</i>	3	0	associated with B cell lymphoma
<i>FAM104B</i>	3	0	unknown
<i>TCL1A</i>	3	0	associated with T cell leukemia
<i>ZNF568</i>	3	0	unknown
<i>DNAH1</i>	3	0	structural support of cilia
<i>PRDM1</i>	4	0	unknown
<i>ATIC</i>	4	0	purine biosynthesis
<i>KIAA1549</i>	5	0	unknown

第3項：他症例における新規バイオマーカー候補の検索

続いて、58 症例すべての腫瘍組織・背景肝組織で DNeasy Blood & Tissue Kit® (QIAGEN) を用いて凍結腫瘍組織から DNA を抽出し、MICA 遺伝子における上記 SNP (rs147557828) の検索を行った。

rs147557828 を含む領域は、Mizuki らにより直接シーケンシングの方法が報告されており[49]、この報告に基づき以下のプライマーを用いた PCR 増幅を行って各 DNA の直接シーケンシングを行った。

MICA5F 5'-CCTTTTTTTCAGGGAAAGTGC-3'

MICA5R 5'-CCTTACCATCTCCAGAAACTGC-3'

第4項：腫瘍の放射線学的奏効評価・病理学的奏効評価

研究1と同様、臨床情報を伏せられた2名の放射線科医により肝切除術前 CT 画像を用いた CT 腫瘍形態評価 (Group 1-3) および RECIST に基づく腫瘍径変化の評価 (PR・SD・PD) が行われた。また、臨床情報を伏せられた1名の病理医により病理標本を用いて腫瘍全体に占める残存腫瘍組織の面積の割合について5%毎の定量的な評価が行われた。

第5項：統計学的解析

連続変数の比較には Kruskal-Wallis 検定もしくは Mann-Whitney U 検定を、非連続変数の比較には Pearson のカイ二乗検定もしくは Fisher の正確検定を用いて

行った。肝切除術後の OS および無増悪生存期間 (PFS, Progression Free Survival) は、それぞれ手術日から死亡日もしくは再発/増大日までの期間と定義し、明らかなイベント発症を認めなかった症例に関しては最終受診日を以って打ち切りとした。Kaplan-Meier 法を用いて生存曲線を作成し、群間の有意差検定は Log-rank 検定を用いて行った。予後因子の解析については、 $P > 0.10$ を基準とする変数減少法による Cox 回帰分析による多変量解析を行った。統計解析は JMP version 11.0 (SAS Insutitute Inc., USA) と IBM SPSS version 23.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) を用いて行い、いずれの検討に置いても $P < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

第 2 節：研究 2 の結果

第 1 項：腫瘍組織と背景肝組織における MICA 多型解析

SNP rs14667828 における DNA 配列では主に 5 つの多型が知られており、GCT triplet の繰り返し数およびグアニン塩基挿入の有無によって A4, A5, A5.1, A6, A9 に分類され、網羅的遺伝子解析で G 群の 6 例に多く認められたのは MICA A5.1 多型であった。そして、全体 58 症例における MICA 多型頻度は A4 4 例 (6.9%)、A5 23 例 (39.7%)、A5.1 16 例 (27.6%)、A6 12 例 (20.7%)、A9 3 例 (5.2%) であり、これ以外の変異は存在しなかった。腫瘍組織と背景肝組織における MICA 多型は 56 例 (96.6%) で一致し、異なっていた 2 例では腫瘍組織が MICA A5.1、

背景肝組織が MICAA5 であった。

第 2 項：患者背景

腫瘍組織 RAS 遺伝子変異による化学療法レジメン選択の偏りを考慮して、抗 EGFR 抗体薬を投与された 20 例を除く 38 症例で MICA 多型と化学療法奏効の関連の解析を行った。この患者背景を表 6 に示す。

年齢中央値が 62 歳 (28-83 歳)、男性が 18 名 (47%)、女性が 20 名 (53%) であった。大腸癌原発巣の位置は、右側(盲腸～上行結腸～横行結腸)が 9 名 (24%)、左側(下行結腸～S 状結腸～直腸)が 29 名 (76%)、28 名 (33%) であった。29 名 (76%) で原発巣切除時リンパ節転移が陽性であり、23 名 (61%) において肝切除の時点で肝臓以外の大腸癌転移巣を認めていた。肝転移と大腸癌原発巣を同時に切除したものが 32 名 (84%) で、残り 6 名 (16%) は異時性に肝切除が行われていた。全例で腫瘍組織の RAS 変異検索が行われており、15 例 (40%) が野生型、23 例 (61%) で RAS 変異の存在が確認された。肝切除術前に投与された化学療法のサイクル数中央値は 7 (1-31) であり、Bevacizumab が投与されたものが 33 例 (87%) であった。肝切除術後の補助化学療法は 16 例 (42%) で行われていた。術前化学療法の奏効は、RECIST による腫瘍径変化分類では PR 22 例 (63%)・SD 10 例 (29%)・PD 3 例 (9%) で、術前 (=化学療法後) の形態学的分類では Group 1 11 例 (29%)・Group 2 13 例 (34%) Group 3 14 例 (37%)

であった。外科的切除根治度は、R0 切除 18 例 (47%)・R1 切除 15 例 (40%)・肉眼的癌遺残 (R2 切除) が 5 例 (13%) であった。そして、38 症例の MICA 多型は A4 2 例 (5%)・A5 13 例 (34%)・A5.1 13 例 (34%)・A6 7 例 (18%)・A9 3 例 (8%) であった。

表 6 研究 2 の患者背景

	No.	%		No.	%
年齢			腫瘍 RAS 遺伝子変異		
中央値	62		なし	15	39.5
範囲	28-83		あり	23	60.5
性別			術前化学療法のサイクル数		
男性	18	47.3	中央値	7	
女性	20	52.7	範囲	1-31	
原発巣の位置			Bevacizumab 投与の有無		
右側	9	23.7	あり	33	86.8
左側	29	76.3	なし	5	13.2
原発巣のリンパ節転移			肝切除後の術後補助化学療法		
あり	29	76.3	あり	16	42.1
なし	9	23.7	なし	22	57.9
肝外転移の存在			化学療法の効果		
あり	23	60.5	腫瘍径変化 (RECIST)		
なし	15	39.5	PR	22	62.9
肝転移のタイミング			SD	10	28.6
同時性	32	84.2	PD	3	8.6
異時性	6	15.8	化学療法後の腫瘍形態		
肝切除前 CEA (ng/mL)			Group 1	11	28.9
中央値	14.0		Group 2	13	34.2
範囲	4.7-83		Group 3	14	36.8
肝切除前 CA19-9 (ng/mL)			外科的根治度		
中央値	42		R0 切除	18	47.4
範囲	21-226		R1 切除	15	39.5

腫瘍数		R2 切除	5	1.3
中央値	5	肝転移組織の MICA 多型		
範囲	1-30	A4	2	5.3
肝切除前腫瘍径(cm)		A5	13	34.2
中央値	2.1	A5.1	13	34.2
範囲	0.3-7.2	A6	7	18.4
治療施設		A9	3	7.9
東大病院	25			65.8
虎の門病院	13			34.2

第 3 項：遺伝学的背景と化学療法効果の関連

まず、MICA 多型と腫瘍 RAS 変異の関連について、MICA A5.1 群 13 例で RAS 変異型が 8 例 (61.5%) に対して MICA A5.1 以外 25 例で 15 例 (60%) と差を認めなかった。

続いて、化学療法効果と MICA 多型および腫瘍 RAS 変異の関連について解析を行った。化学療法前後の腫瘍径の比で検討すると、RAS 野生型群で中央値 0.60 (0.08-1.41)、RAS 変異群で中央値 0.67 (0.36-1.32) と腫瘍 RAS 変異の有無による差を認めず ($P=0.54$)、MICA A5.1 群で中央値 0.65 (0.36-1.07)、それ以外の群で中央値 0.64 (0.08-1.41)、と MICA 多型でも差を認めなかった ($P=0.91$)。一方、病理学的腫瘍残存率で評価すると、RAS 野生型群で中央値 70% (IQR 30%-80%)、RAS 変異群で中央値 30% (IQR 10%-60%) と RAS 変異型腫瘍で腫瘍残存率が低い傾向を認め ($P=0.08$)、MICA A5.1 群で中央値 20% (IQR 10%-60%)、それ以外の群で中央値 40% (IQR 20%-75%)、と MICA A5.1 群で腫瘍残存率が低い傾向

を認めた ($P=0.18$)。

さらに、術前画像における放射線学的奏効評価との関連に関する解析を行った。RECIST を用いた評価では、**図 4-1** の通り、腫瘍 RAS 変異の有無と MICA 多型 (A5.1/それ以外) のいずれでも差は認められなかった (RAS $P=0.65$, MICA $P=0.79$)。一方、術前 CT 腫瘍形態による分類では、**図 4-2** の通り、腫瘍 RAS 変異の有無では差が認められなかったのに対して ($P=0.85$)、MICA 多型が A5.1 か否かでは有意差が認められ ($P=0.04$)、MICA A5.1 群で Group 1 (=Optimal Response) および Group 2 が多く認められた。

図 4-1 腫瘍 RAS 変異および MICA 多型と RECIST による放射線学的化学療法

奏効評価の関係

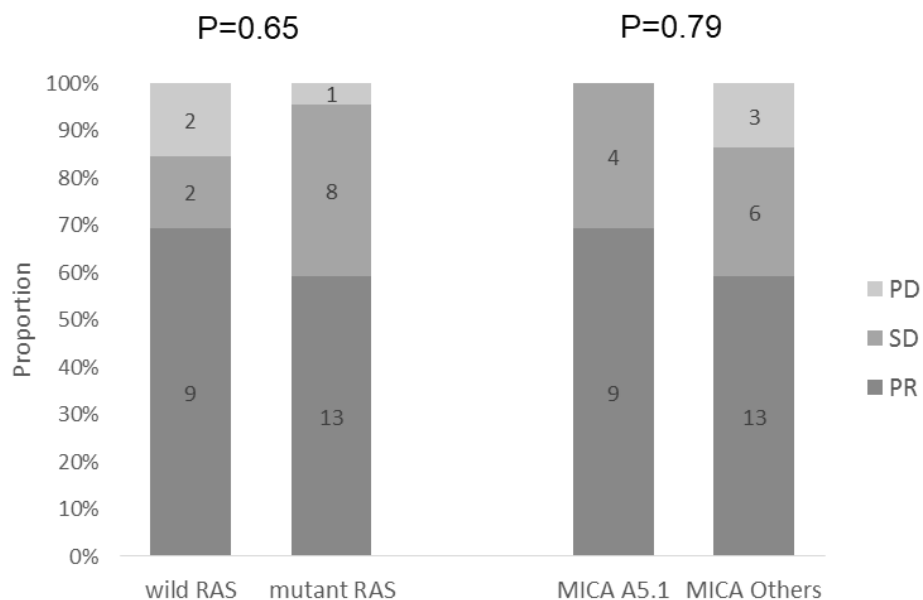
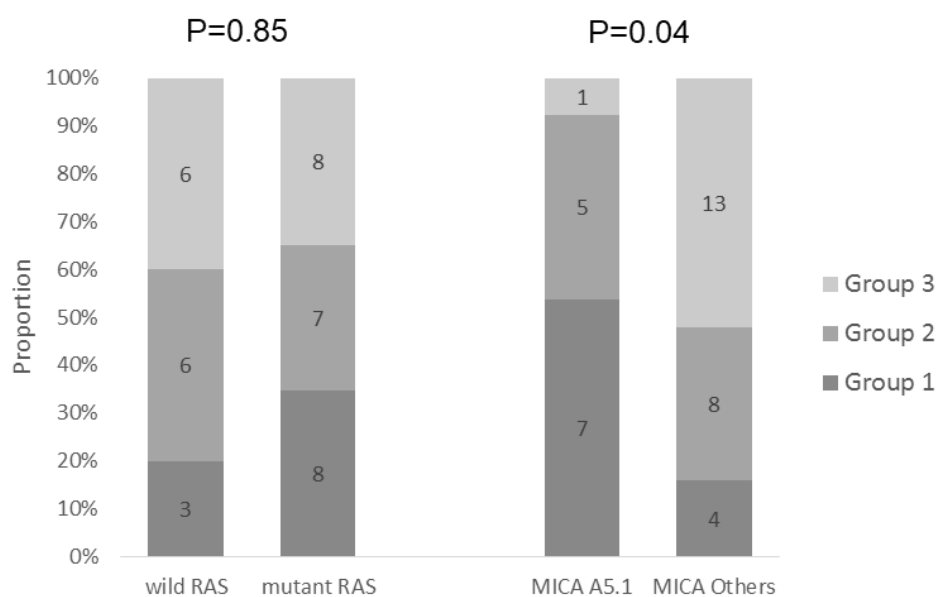


図 4-2 腫瘍 RAS 変異および MICA 多型と CT 腫瘍形態による放射線学的化学

療法奏効評価の関係



術前化学療法の奏効に関する多変量解析を、以下の 6 因子を用いて行った：

MICA (A5.1 群/それ以外)・腫瘍 RAS (変異型/野生型)・Bevacizumab 投与 (有/無)・原発巣位置 (左側/右側)・化学療法サイクル数 (>6/≤6)・化学療法前腫瘍径 (≤2 cm/>2 cm)。結果、表 7 の通り、MICA A5.1 は化学療法後 Group 1 との有意な予測因子であるとともに (OR, 4.67; 95%CI 1.11-21.71; $P=0.035$)、病理学的腫瘍残存率 20%未満ともやや関連が認められた (OR, 3.43; 95% CI, 0.81-15.72; $P=0.096$)。一方で腫瘍径変化については、30%以上の腫瘍縮小の予測因子として術前化学療法サイクル数>6 が抽出されたが (OR, 8.56; 95%CI, 1.91-49.42; $P=0.004$)、MICA・腫瘍 RAS とともに明らかな関連を認めなかった。

表 7 術前化学療法奏効に関する多変量解析

	<i>p</i>	回帰係数	標準誤差	オッズ比	95%信頼区間
化学療法後腫瘍形態 Group 1					
<i>MICA</i> A5.1	0.035	0.770	0.374	4.67	1.11-21.71
化学療法後腫瘍形態 Group 1 or 2					
<i>MICA</i> A5.1	0.039	1.296	0.584	13.37	1.91-279.61
化学療法前腫瘍径 ≤2 cm	0.039	0.829	0.427	5.25	1.08-32.62
30%以上の腫瘍径縮小					
化学療法サイクル数 >6	0.004	1.073	0.407	8.56	1.91-49.42
腫瘍残存腫瘍割合 <20%					
<i>MICA</i> A5.1	0.096	0.616	0.374	3.43	0.80-15.72

第 4 項：術後成績との関連

術後成績との関連について調べるため、R2 切除（肉眼的腫瘍遺残）となった 5 症例を除いた 33 症例における解析を行った。MICA A5.1 群とそれ以外の群の患者背景は表 8 の通りとなり、RFS を比較すると A5.1 群で RFS が有意に長かった（RFS 中央値 A5.1 群 10.4 ヶ月 vs. それ以外 4.8 ヶ月, $P=0.010$ ）。（図 5）

続いて、RFS の予測因子に関する多変量解析を以下の 14 因子を用いて行った：原発巣位置（左側/右側）・原発巣リンパ節転移（有/無）・肝外転移（有/無）・DFI・Bevacizumab 投与（有/無）・RECIST による奏効評価（PR/SD-PD）・CT 腫瘍形態による奏効評価（Optimal/Suboptimal）・化学療法前腫瘍径・腫瘍個数・腫瘍分化度（高-中分化/低分化）・腫瘍 RAS（野生型/変異型）・MICA（A5.1 群/それ以外）・外科的切除根治度（R0/R1）・肝切除術後補助化学療法（有/無）。その結果、表 8 の通り、MICA A5.1 多型は術後再発リスクの減少に対する独立した関連因子となった（HR 0.24; 95%CI 0.069-0.831; $P=0.024$ ）。

表 8 MICA 多型で分類した患者背景

患者背景因子	MICA A5.1	MICA Others	<i>P</i>
年齢			
中央値	57	64	0.076
範囲	28-65	34-83	
性別			
男性	5	12	0.909
女性	5	11	
原発巣位置			
左側	7	16	0.980
右側	3	7	
肝外転移の存在			
あり	4	6	0.430
なし	6	17	
原発巣のリンパ節転移			
陽性	4	5	0.288
陰性	6	18	
DFI (月)			
中央値	0.6	7.2	0.061
範囲	0-16	0-38.6	
肝転移個数			
中央値	3	7	0.302
範囲	1-21	1-30	
肝切除術前腫瘍径(cm)			
中央値	3.6	2.9	0.573
範囲	1.3-8.2	1.3-11.5	
術前化学療法のサイクル数			
中央値	10	6	0.127
範囲	4-41	2-28	
術前 Bevacizumab の投与	9 (90%)	20 (87%)	0.803
腫瘍 RAS 遺伝子変異			
あり	6	14	0.963
なし	4	9	
化学療法後腫瘍形態			
Group 1	6	4	0.016

Group 2/3	4	19	
RECIST			
PR/SD	9	17	0.123
PD	0	3	
切除術式			
2 区域未満の切除	5	16	0.287
2 区域以上の切除	5	7	
外科的根治度			
R0 切除	7	11	0.234
R1 切除	3	12	
腫瘍分化度			
高～中分化	8	19	0.859
低分化	2	4	
術後重篤合併症(Clavien-Dindo >Grade3)	2 (20%)	2 (8.7%)	0.378
術後補助化学療法			
あり	7	9	0.099
なし	3	14	

図 5 MICA 多型と RFS の関連

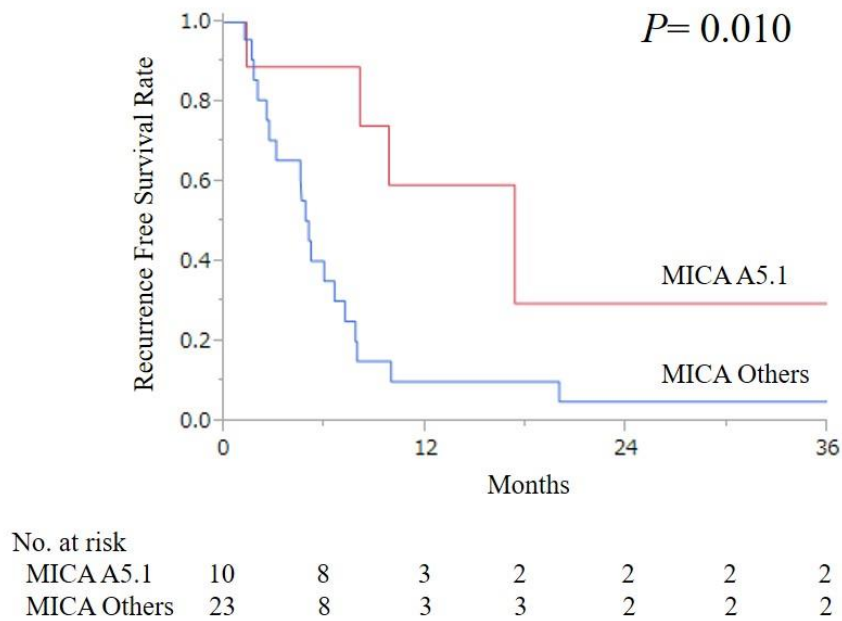


表 9 RFS に関する多変量解析

	<i>p</i>	回帰係数	標準偏差	ハザード比	95%信頼区間
MICA A5.1	0.024	-1.428	0.634	0.24	0.069-0.831
化学療法後腫瘍形態 Group1	0.016	-1.488	0.617	0.226	0.067-0.756
腫瘍 RAS 変異あり	0.009	1.625	0.626	5.08	1.49-17.31
RECIST PR/SD	0.01	-1.774	0.693	0.17	0.044-0.660
腫瘍数	0.022	0.088	0.039	1.092	1.013-1.178

第4章：考察

本研究では、大腸癌肝転移に対して抗 EGFR 抗体薬を除くレジメンによる術前化学療法を受けた上で肝切除を受けた症例を対象とし、まず研究1において、化学療法の病理学的奏効（＝残存腫瘍細胞割合）を術前に予測するための術前 CT 腫瘍形態評価の有用性を解析するとともに CT 腫瘍形態の **Optimal Response** が肝切除後の長期予後に与える影響を検討した。この結果、化学療法後の CT 腫瘍形態は病理学的な残存腫瘍細胞割合と強く相関しており、なおかつ腫瘍径や化学療法前 CT 腫瘍形態とは独立した予後予測因子となり得ることが示された。さらに **Bevacizumab** の投与が腫瘍形態学的 **Optimal Response** の強い予測因子となることが示された。

続いて、研究2において前向きに症例を集積し、少数例における大腸癌肝転移組織の網羅的遺伝子解析により化学療法奏効のバイオマーカー候補として **MICA** 多型を選定し、38 症例において **MICA** 多型と病理学的/放射線学的な奏効の関連および長期予後との関連性を検証した。その結果、肝転移腫瘍組織と背景肝組織で **MICA** 多型がほぼ一致すること、そして **MICA A5.1** 多型が抗 EGFR 抗体薬以外の化学療法の病理学的/放射線学的奏効の独立した予測因子となり、良好な **PFS** の予測因子ともなり得ることが示された。

化学療法前後での大腸癌肝転移の CT 腫瘍形態変化が、特に **Bevacizumab** を用

いた症例における肝切除後の予後予測因子として優れているという報告が海外でなされてきている。[41,46] そして、大腸癌肝転移に対する化学療法の病理学的奏効（＝腫瘍残存率）が術後長期成績は強い予後予測因子となることが報告されており、**Optimal Response** という独特な放射線学的形態変化が病理学的奏効と相関することが報告されている。[40] 過去の観察研究において、5-FU をベースとするレジメンの化学療法を受けた大腸癌肝転移患者では、CT における形態学的変化が従来から用いられてきた腫瘍径変化よりも優れていることが示され、腫瘍径に依ることなく病理学的奏効を予測し得る可能性が報告されている。[50] しかしながら、これまでの報告は単施設における症例がほとんどであり、CT 腫瘍形態が予後に与える影響はまだ十分証明し得ていない。

研究 1 は、東京大学医学部附属病院と虎の門病院という 2 つの多くの肝胆膵手術症例を持つ施設から得られたデータに基づき、臨床情報を伏せた状態で放射線科医と病理医が独立にそれぞれの効果判定を行った質の高いものである。そしてこの結果、従来から化学療法効果判定に用いられてきた腫瘍径変化と病理学的奏効の間に有意な相関が認められなかった一方で、化学療法後 CT 画像形態と病理学的腫瘍残存率の間には強い相関を認めた。さらに従来との報告と同様に **Bevacizumab** の投与有無が腫瘍形態の **Optimal Response** を強く予測する因子であることも示された。これらの検証に加えて、化学療法前後の CT 画像を比較せ

ずとも、化学療法後の CT のみの腫瘍形態評価により病理学的奏効の有無および肝切除後の長期予後予測ができる可能性を示したのが研究 1 の重要な新しい知見であり、化学療法後の画像のみで既報のような腫瘍辺縁に残存した腫瘍組織 (TNI) が正しく予測できることを示している[45,51] さらに表 2 の通り、化学療法前の CT 腫瘍形態は **Optimal Response** の予測因子とはならなかったことから、既報の化学療法前後での腫瘍形態変化を用いた評価基準に取って代わって、化学療法後の CT 腫瘍形態それ自体が肝切除後の長期予後予測因子となり得る可能性が研究 1 により示されたと考える。

ただし、本研究で浮上する疑問は「従来から化学療法の放射線学的効果予測として用いられてきた化学療法前後での腫瘍径変化に基づく **RECIST** が、本研究ではなぜ長期予後と相関しなかったのか？」というものである。これを説明し得る理由として、本研究では抗 **EGFR** 抗体薬を投与された症例を除いた集団のみを対象としており、コホートに病理学的奏効を強く引き起こす **Bevacizumab** を投与された群が多く含まれていたことが挙げられる。**Bevacizumab** 投与によって引き起こされる独特な組織学的変化である”**Infarct-like necrosis**”は腫瘍径に依存しないことが報告されている。[43,44] 切除可能性がマージナルな肝転移症例において、化学療法前後での腫瘍径変化が切除の有用性を予測する標準的な方法ではあることに依然として変わりはないが、[29] 術前化学療法の効果を評価

する際に、長期予後と強く相関するのは病理学的効果であり、これは RECIST だけで必ずしも予測できるわけではないことを認識する必要がある。また、図 3-1 は肝外転移を有する症例においても形態学的 **Optimal Response** が得られた症例では非常に良好な予後が得られたことを示しており、この結果は化学療法後の CT 腫瘍形態が肝転移巣の腫瘍学的悪性度および切除による根治性を予測するマーカーとなり得る可能性があることを示唆している。

研究 1 の実臨床に与えるインパクトは、3 点挙げられる。第一に、腫瘍径や腫瘍数に依存することなく腫瘍形態が切除後成績の予測因子となったことは、初診時に切除可能性がマージナルもしくは切除不能と判断して化学療法を行った後に肝切除に向かうべきか否かの治療方針決定を行う際に腫瘍形態が非常に有用な判断材料の一つとなり得ることを示している。そして、形態学的 **Optimal Response** が得られた症例において **R1** 切除例と **R0** 切除例の比較で長期成績の低下が見られなかったことは、太い静脈や門脈など温存せざるを得ない主要脈管に腫瘍が近接する症例でも腫瘍形態学的奏効が良好ならば外科的切除による根治を望める可能性がある、ということにつながるかもしれない。第二に、**Beacizumab** の投与および 6 サイクル以上の術前化学療法が形態学的 **Optimal Response** の有意な予測因子となったことは、十分な化学療法奏効が得られない大腸癌肝転移症例において化学療法を 6 サイクル以上加えるもしくは

Bevacizumab を追加することで更なる化学療法奏効の上乗せが得られる可能性があることを示している。そして第三に、CT 腫瘍形態評価の評価者間一致率が非常に高く、化学療法後のみの CT で十分に長期予後の予測率が保たれたことは、化学療法後の CT 腫瘍形態がシンプルかつ信頼性の高い予後指標となり得ることを示している。

続いて、研究 2 において、研究 1 で示した放射線学的奏効・病理学的奏効を化学療法開始時点で予測するための新規バイオマーカー探索を行った。MICA 遺伝子は主要組織適合遺伝子複合体 (Major histocompatibility complex; MHC) クラス I 鎖関連遺伝子群の 1 つとして知られており、すべてのヒト Natural Killer (NK) 細胞および $\gamma\delta$ -T 細胞の表面に発現する NKG2D を刺激するリガンドとして作用する細胞膜結合タンパクをコードする遺伝子である。MICA タンパクは癌化を含むストレス作用下でその発現が促進されることが報告されており、NK 細胞や $\gamma\delta$ -T 細胞による腫瘍細胞に対する NKG2D を介した自然免疫に寄与している。研究 2 における解析対象となった SNP rs147667828 は MICA の Exon5 に位置しており、前述の通り GCT triplet の繰り返し数およびグアニン塩基挿入の有無によって 5 つの多型をもたらすことが報告されている。[49] MICA の Exon 5 は MICA タンパクの中でも膜貫通部位をコードすることが知られており、グアニン挿入のある MICA A5.1 多型ではフレームシフト変異によって細胞質側端のタン

パク切離が行われることで細胞膜上への MICA タンパク輸送に変異が起こることが報告されている。そして、これによってもたらされる NH 細胞や $\gamma\delta$ -T 細胞の免疫学的監視システムに変化が原因となって、MICA A5.1 多型が様々な癌腫におけるリスク因子となることが報告されている。[52]

また、膜型プロテアーゼ ADAM (a disintegrin and metalloproteinases) による MICA 細胞外ドメインのタンパク分解による切離により血清型 MICA が産生され、これが NK 細胞や $\gamma\delta$ -T 細胞表面の NKG2D に結合することによって、これらによる腫瘍細胞に対する細胞傷害能が阻害される”shedding”という現象が報告されている。[53] MICA A5.1 多型における MICA タンパク膜貫通部位の構造変化は、血清型 MICA 産生に必須となる 2 ヶ所のシステインの欠失をもたらすと報告されている。[49] MICA 多型と大腸癌における化学療法に関する報告は今までないものの、MICA A5.1 多型を持つ患者では血清型 MICA の減少により潜在的な”shedding”効果が弱まっており、これが抗腫瘍免疫反応の増強につながり化学療法効果を増強した可能性が考えられる。

MICA 多型が大腸癌患者においてどこまで臨床的な影響を与えるかはいまだに不明瞭であるものの、研究 2 の結果からは 2 点の新しい結果が得られた。第一に、本研究は大腸癌肝転移の患者において MICA 多型を検索した初めての報告であるとともに、MICA 多型と外科的切除後の長期予後の関連性について解析

したのも今まで他に報告がない。MICA 遺伝子における GCT triplet 部位に関して、全ての症例が既知の MICA 多型に分類され、ランダムな変異を持ったものが存在しなかったということは、過去の大腸癌組織における網羅的遺伝子解析データベースの結果にも合致する。[54] 第二に、大腸癌肝転移腫瘍組織と周囲の正常肝組織における MICA 多型が極めて高い一致率 (96.6%) を示したのも本研究が初めての報告である。この結果は、転移組織においても腫瘍組織の宿主の MICA 多型を受け継いでおり、これが化学療法奏効に関連する可能性が示されたということは、患者個々人の遺伝的背景そのものが大腸癌肝転移におけるバイオマーカーとなり得ることを示唆している。正常組織の遺伝子多型がバイオマーカーとなり得るのであれば、現在知られているバイオマーカーである腫瘍 RAS 変異と異なり、腫瘍組織の採取を必要とせずより安全かつ容易に検査が可能となり、これは非常に大きなメリットと考えられる。

ただし、本研究にはいくつかの制限がある。

第一に、研究 1 が後ろ向き研究であること、研究 2 は前向き研究であるものの十分な症例数ではないことが挙げられる。しかし、研究 1・2 ともに東京大学医学部附属病院と虎の門病院という 2 つの多くの肝胆膵手術症例を持つ施設で得られた結果を用いており、放射線医・病理医が完全に独立した評価を行っている点で高い質が保たれている。さらに、研究 2 では 10 症例での網羅的遺伝

子解析による pilot 研究で得られた結果を他の症例で検証した結果、既報に矛盾せずかつ新しい知見が得られたことは非常に有意義であると考えます。現在も前向きな症例集積を行っており、更なる検証の追加が必要である。

第二に、抗 EGFR 抗体薬を投与された症例を除いた集団のみを対象としていることである。本研究においては、既に化学療法効果予測のバイオマーカーとして確立されている腫瘍 RAS 遺伝子変異の有無に基づいて化学療法が行われた集団を除外することを目的として抗 EGFR 抗体薬の投与症例は除いた。しかし、これにより選択症例の偏りが生じたことは否めず、本研究のコホートでは高率に Bevacizumab が投与されていた。これにより、腫瘍径に依存しない Bevacizumab 特有の変化である” Infarct-like necrosis” の影響が大きく現れた結果、研究 1 の解析結果で通常予後予測因子となる腫瘍径などが単変量解析ですら有意な因子とならなかった可能性が考えられる。また、このような集団の偏りがある中で、研究 2 の結果で MICA 多型と腫瘍 RAS 遺伝子変異の有無に相関を認めなかったことから「MICA 多型が Bevacizumab の効果を予測するバイオマーカーである」という可能性が示唆されるが、これには更に大きな症例数での検討を行った上で MICA 多型に基づいた前向き研究を行って検証する必要がある。

第三に、CT 腫瘍形態の評価基準の主観性が挙げられる。研究 1 の図 2 でも示されている通り、Group 2 が「Group 1 にも Group 3 にも属さないもの」という定

義であるため、Group 2 と CT で判断された症例の腫瘍残存率はかなり幅広くなってしまう傾向になるのは否めない。研究 1 の結果で全く独立に判定した 2 名の放射線科医の評価者間一致率は $\kappa=0.99$ と非常に高値であり、既報でもこれに遜色ない一致率が認められていることから、十分再現性のある判断基準であると考えられるものの、腫瘍形態をより明確かつ定量的に評価できる基準を今後も検討していく必要がある。

最後に、本研究においては原発巣の遺伝子解析が含まれていない点も課題である。網羅的遺伝子解析に必要な DNA 量の多さなどの問題点から本研究では含められなかったが、今後前向きに研究を行っていく上では必須な検討となるものと思われる。

まとめ

本研究を通じて、以下の新しい知見が得られた。

- 大腸癌肝転移に対する術前化学療法後の CT 腫瘍形態は、腫瘍径や化学療法前の腫瘍形態に依存することなく、病理組織上の腫瘍残存率と相関するとともに、治癒切除術後の長期成績の強い予後因子となることを示した。

- 大腸癌肝転移に対する術前化学療法後の形態学的な奏効率は、Bevacizumab
によって有意に上昇することが示された。

- 大腸癌肝転移に対する術前化学療法の奏効例・非奏効例、合わせて 10 症例
を用いた腫瘍凍結組織標本の網羅的遺伝子解析を行った結果、術前化学療法
の奏効を予測する新しいバイオマーカー候補として、腫瘍 MICA A5.1 多型が
抽出された。

- 大腸癌肝転移に対する術前化学療法を行った 58 症例で腫瘍組織と背景肝組
織の MICA 多型を調べた結果、96.6%と非常に高い率で一致しており、腫瘍
MICA 多型は宿主である患者自身の MICA 遺伝子多型が規定していることが
示された。

- 大腸癌肝転移に対して抗 EGFR 抗体薬を含まない術前化学療法を行った 38
症例における多変量解析の結果、MICA A5.1 多型はオッズ比 4.67 (95%CI
1.11-21.7, $P=0.035$) で形態学的奏効の有意な予測因子となり、オッズ比 3.43
(95%CI 0.80-15.7, $P=0.096$) で病理学的腫瘍残存率 $\leq 20\%$ の病理学的奏功と
も関連が示唆された。

- MICA A5.1 多型とそれ以外の MICA 多型の PFS を比較すると、MICA A5.1 群で有意に PFS が長く、多変量解析でもハザード比 0.33 (95%CI 0.13-0.86, $P=0.022$) で有意な予後良好因子となった。

結論

大腸癌肝転移に対する術前化学療法後の CT 腫瘍形態を放射線学的奏効評価として用いることにより、病理学的奏効および術後長期成績を予測し得るため、化学療法後の腫瘍形態は特に **marginally resectable** な大腸癌肝転移の症例において切除に向かうか否かの有用な判断材料となる可能性がある。

そして、この化学療法奏効を予測する新しいバイオマーカーとして MICA 多型が有用である可能性があり、患者自身の遺伝的背景に基づいた新たな大腸癌治療指針の一助となる可能性がある。

第5章：総括と今後の展望

大腸癌肝転移の治療戦略は前述の通り MDT によるアプローチが必要であるが、治療選択の施設間較差を無くしていくためにも、CT 腫瘍形態をより明確な基準で分類してより均一な化学療法奏効の評価を行えるような努力が必要である。その一つとして、PET-CT における FDG 集積を腫瘍形態分類と組み合わせることで、より正確な病理学的奏効が予測できる可能性も認められている。[55] もちろん医療経済の面を考慮すると全患者に行うことは現実的ではないが、MDT による判断でも *marginally resectable* な症例においては治療方針選択の一助となるかもしれない。さらに、この腫瘍形態分類が大腸癌以外の癌腫（胃癌・膵癌など）からの肝転移においても適用し得るかについても、今後検討していく必要がある。

また、今回の対象群において用いられていた分子標的薬は Bevacizumab のみであったが、新規に登場しつつある抗 VEGF 抗体薬の Ramucirumab や Aflibercept、他の抗 EGFR 抗体薬を含む分子標的薬においても同様の CT 腫瘍形態が認められるのかについても検討していく必要がある。

MICA のバイオマーカーとしての化学療法効果・長期予後の予測能については、さらなる症例数を重ねた検討が必要であるとともに、術前化学療法非施行令における検討の追加、さらにより基礎的な機序の検討が必要となる。Bevacizumab

の target である VEGF と MICA の関連を示した報告は今まで存在しないものの、考えられる仮説としては、MICA A5.1 多型では shedding による腫瘍免疫低下が起きているが、抗 VEGF 薬の投与により腫瘍周囲の血流環境が正常化することによって腫瘍免疫の増加が起こることが考えられる。今回の研究に付随して、前向きに症例集積した症例で術前血清を保存しており、MICA 血清濃度との関連性を検索していく必要がある。ただし、sMICA は血漿中ではなくエクソソーム中に分泌されるため測定が難しいとする報告などもあり、[56] 術前後の血清比較やエクソソーム解析などのさらなる基礎的検討を行っていくことが求められる。

引用文献

1. Cancer IAfRo GLOBACAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.
2. 厚生労働省 平成 28 年人口動態統計月報年計（概数）の概況。
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai16/>.
3. Pawlik TM, Choti MA Surgical therapy for colorectal metastases to the liver. J Gastrointest Surg 11 (8):1057-1077. 2007
4. Abdalla EK, Adam R, Bilchik AJ, Jaeck D, Vauthey JN, Mahvi D Improving resectability of hepatic colorectal metastases: expert consensus statement. Ann Surg Oncol 13 (10):1271-1280. 2006
5. Lembersky BC, Wieand HS, Petrelli NJ, O'Connell MJ, Colangelo LH, Smith RE, Seay TE, Giguere JK, Marshall ME, Jacobs AD, Colman LK, Soran A, Yothers G, Wolmark N Oral uracil and tegafur plus leucovorin compared with intravenous fluorouracil and leucovorin in stage II and III carcinoma of the colon: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol C-06. J Clin Oncol 24 (13):2059-2064. 2006
6. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, Abt M, Burris H, 3rd, Carrato A, Cassidy J, Cervantes A, Fagerberg J, Georgoulas V, Hussein F, Jodrell D, Koralewski P, Kroning

H, Maroun J, Marschner N, McKendrick J, Pawlicki M, Rosso R, Schuller J, Seitz JF, Stabuc B, Tujakowski J, Van Hazel G, Zaluski J, Scheithauer W Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Engl J Med* 352 (26):2696-2704. 2005

7. Andre T, Boni C, Navarro M, Taberero J, Hickish T, Topham C, Bonetti A, Clingan P, Bridgewater J, Rivera F, de Gramont A Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 27 (19):3109-3116. 2009

8. Haller DG, Taberero J, Maroun J, de Braud F, Price T, Van Cutsem E, Hill M, Gilberg F, Rittweger K, Schmoll HJ Capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and folinic acid as adjuvant therapy for stage III colon cancer. *J Clin Oncol* 29 (11):1465-1471. 2011

9. Benson AB, 3rd, Venook AP, Cederquist L, Chan E, Chen YJ, Cooper HS, Deming D, Engstrom PF, Enzinger PC, Fichera A, Grem JL, Grothey A, Hochster HS, Hoffe S, Hunt S, Kamel A, Kirilcuk N, Krishnamurthi S, Messersmith WA, Mulcahy MF, Murphy JD, Nurkin S, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous CT, Stoffel EM, Stotsky-Himelfarb E, Willett CG, Wu CS, Gregory KM, Freedman-Cass D Colon Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 15 (3):370-398. 2017

10. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, Aranda Aguilar E, Bardelli A, Benson A, Bodoky G, Ciardiello F, D'Hoore A, Diaz-Rubio E, Douillard JY, Ducreux M, Falcone A, Grothey A, Gruenberger T, Haustermans K, Heinemann V, Hoff P, Kohne CH, Labianca R, Laurent-Puig P, Ma B, Maughan T, Muro K, Normanno N, Osterlund P, Oyen WJ, Papamichael D, Pentheroudakis G, Pfeiffer P, Price TJ, Punt C, Ricke J, Roth A, Salazar R, Scheithauer W, Schmoll HJ, Taberero J, Taieb J, Tejpar S, Wasan H, Yoshino T, Zaanan A, Arnold D ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 27 (8):1386-1422. 2016
11. Martin LW, Warren RS Current management of colorectal liver metastases. *Surg Oncol Clin N Am* 9 (4):853-876; discussion 877-858. 2000
12. Abdalla EK, Vauthey JN, Ellis LM, Ellis V, Pollock R, Broglio KR, Hess K, Curley SA Recurrence and outcomes following hepatic resection, radiofrequency ablation, and combined resection/ablation for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 239 (6):818-825; discussion 825-817. 2004
13. Saiura A, Yamamoto J, Hasegawa K, Koga R, Sakamoto Y, Hata S, Makuuchi M, Kokudo N Liver resection for multiple colorectal liver metastases with surgery up-front approach: bi-institutional analysis of 736 consecutive cases. *World J Surg* 36

(9):2171-2178. 2012

14. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran SE, Heintges T, Lerchenmuller C, Kahl C, Seipelt G, Kullmann F, Stauch M, Scheithauer W, Hielscher J, Scholz M, Muller S, Link H, Niederle N, Rost A, Hoffkes HG, Moehler M, Lindig RU, Modest DP, Rossius L, Kirchner T, Jung A, Stintzing S FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 15 (10):1065-1075. 2014

15. Adam R, De Gramont A, Figueras J, Guthrie A, Kokudo N, Kunstlinger F, Loyer E, Poston G, Rougier P, Rubbia-Brandt L, Sobrero A, Tabernero J, Teh C, Van Cutsem E The oncosurgery approach to managing liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Oncologist* 17 (10):1225-1239. 2012

16. Adam R, de Gramont A, Figueras J, Kokudo N, Kunstlinger F, Loyer E, Poston G, Rougier P, Rubbia-Brandt L, Sobrero A, Teh C, Tejpar S, Van Cutsem E, Vauthey JN, Pahlman L Managing synchronous liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Cancer Treat Rev* 41 (9):729-741. 2015

17. Adams RB, Aloia TA, Loyer E, Pawlik TM, Taouli B, Vauthey JN Selection for hepatic resection of colorectal liver metastases: expert consensus statement. *HPB*

(Oxford) 15 (2):91-103. 2013

18. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 356 (15):1545-1559. 2007

19. Jones RP, Vauthey JN, Adam R, Rees M, Berry D, Jackson R, Grimes N, Fenwick SW, Poston GJ, Malik HZ Effect of specialist decision-making on treatment strategies for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 99 (9):1263-1269. 2012

20. de Gramont A, Figuer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, Boni C, Cortes-Funes H, Cervantes A, Freyer G, Papamichael D, Le Bail N, Louvet C, Hendler D, de Braud F, Wilson C, Morvan F, Bonetti A Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 18 (16):2938-2947. 2000

21. Tournigand C, Andre T, Achille E, Lledo G, Flesh M, Mery-Mignard D, Quinaux E, Couteau C, Buyse M, Ganem G, Landi B, Colin P, Louvet C, de Gramont A FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 22 (2):229-237. 2004

22. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, Navarro M, James RD, Karasek P, Jandik P, Iveson T, Carmichael J, Alakl M, Gruia G, Awad L, Rougier P Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic

colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 355 (9209):1041-1047. 2000

23. Kabbinavar FF, Hambleton J, Mass RD, Hurwitz HI, Bergsland E, Sarkar S
Combined analysis of efficacy: the addition of bevacizumab to fluorouracil/leucovorin
improves survival for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 23
(16):3706-3712. 2005

24. Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A,
D'Haens G, Pinter T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C, Tejpar S,
Schlichting M, Nippgen J, Rougier P Cetuximab and chemotherapy as initial treatment
for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 360 (14):1408-1417. 2009

25. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y,
Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocakova I, Ruff P,
Blasinska-Morawiec M, Smakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Wolf M, Gansert J
Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin,
and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients
with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol*
28 (31):4697-4705. 2010

26. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, Lupi C, Sensi E, Lonardi S, Mezi S,
Tomasello G, Ronzoni M, Zaniboni A, Tonini G, Carlomagno C, Allegrini G, Chiara S,

D'Amico M, Granetto C, Cazzaniga M, Boni L, Fontanini G, Falcone A FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol* 16 (13):1306-1315.

2015

27. Folprecht G, Grothey A, Alberts S, Raab HR, Kohne CH Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol* 16 (8):1311-1319. 2005

28. Parikh AA, Gentner B, Wu TT, Curley SA, Ellis LM, Vauthey JN Perioperative complications in patients undergoing major liver resection with or without neoadjuvant chemotherapy. *J Gastrointest Surg* 7 (8):1082-1088. 2003

29. Adam R, Pascal G, Castaing D, Azoulay D, Delvart V, Paule B, Levi F, Bismuth H Tumor progression while on chemotherapy: a contraindication to liver resection for multiple colorectal metastases? *Ann Surg* 240 (6):1052-1061; discussion 1061-1054.

2004

30. Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocakova I, Ruff P, Blasinska-Morawiec M, Smakal M, Canon JL, Rother M, Williams R, Rong A,

Wiezorek J, Sidhu R, Patterson SD Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 369 (11):1023-1034. 2013

31. Nash GM, Gimbel M, Shia J, Nathanson DR, Ndubuisi MI, Zeng ZS, Kemeny N, Paty PB KRAS mutation correlates with accelerated metastatic progression in patients with colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 17 (2):572-578. 2010

32. Vauthey JN, Zimmitti G, Kopetz SE, Shindoh J, Chen SS, Andreou A, Curley SA, Aloia TA, Maru DM RAS mutation status predicts survival and patterns of recurrence in patients undergoing hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 258 (4):619-626; discussion 626-617. 2013

33. Shindoh J, Nishioka Y, Yoshioka R, Sugawara T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Hashimoto M, Kokudo N KRAS Mutation Status Predicts Site-Specific Recurrence and Survival After Resection of Colorectal Liver Metastases Irrespective of Location of the Primary Lesion. *Ann Surg Oncol* 23 (6):1890-1896. 2016

34. Tie J, Lipton L, Desai J, Gibbs P, Jorissen RN, Christie M, Drummond KJ, Thomson BN, Usatoff V, Evans PM, Pick AW, Knight S, Carne PW, Berry R, Polglase A, McMurrick P, Zhao Q, Busam D, Strausberg RL, Domingo E, Tomlinson IP, Midgley R, Kerr D, Sieber OM KRAS mutation is associated with lung metastasis in patients with curatively resected colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 17 (5):1122-1130. 2011

35. Mise Y, Zimmitti G, Shindoh J, Kopetz S, Loyer EM, Andreou A, Cooper AB, Kaur H, Aloia TA, Maru DM, Vauthey JN RAS mutations predict radiologic and pathologic response in patients treated with chemotherapy before resection of colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 22 (3):834-842. 2015
36. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 45 (2):228-247. 2009
37. Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, Koski S, Lichinitser M, Yang TS, Rivera F, Couture F, Sirzen F, Cassidy J Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 26 (12):2013-2019. 2008
38. Sathornsumetee S, Cao Y, Marcello JE, Herndon JE, 2nd, McLendon RE, Desjardins A, Friedman HS, Dewhirst MW, Vredenburgh JJ, Rich JN Tumor angiogenic and hypoxic profiles predict radiographic response and survival in malignant astrocytoma patients treated with bevacizumab and irinotecan. *J Clin Oncol* 26 (2):271-278. 2008
39. Lenz H ND, Innocenti F, Blanke C, Mahony M, O'Neil B, Shaw J, Polite B, Hochster H, Atkins J CALGB/SWOG 80405: PHASE III trial of

irinotecan/5-FU/leucovorin (FOLFIRI) or oxaliplatin/5-FU/leucovorin (mFOLFOX6) with bevacizumab (BV) or cetuximab (CET) for patients (pts) with expanded ras analyses untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum. ESMO. 2014:abstr 5010. 2014

40. Blazer DG, 3rd, Kishi Y, Maru DM, Kopetz S, Chun YS, Overman MJ, Fogelman D, Eng C, Chang DZ, Wang H, Zorzi D, Ribero D, Ellis LM, Glover KY, Wolff RA, Curley SA, Abdalla EK, Vauthey JN Pathologic response to preoperative chemotherapy: a new outcome end point after resection of hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 26 (33):5344-5351. 2008

41. Chun YS, Vauthey JN, Boonsirikamchai P, Maru DM, Kopetz S, Palavecino M, Curley SA, Abdalla EK, Kaur H, Charnsangavej C, Loyer EM Association of computed tomography morphologic criteria with pathologic response and survival in patients treated with bevacizumab for colorectal liver metastases. *Jama* 302 (21):2338-2344. 2009

42. Frentzas S, Simoneau E, Bridgeman VL, Vermeulen PB, Foo S, Kostaras E, Nathan M, Wotherspoon A, Gao ZH, Shi Y, Van den Eynden G, Daley F, Peckitt C, Tan X, Salman A, Lazaris A, Gazinska P, Berg TJ, Eltahir Z, Ritsma L, Van Rheenen J, Khashper A, Brown G, Nystrom H, Sund M, Van Laere S, Loyer E, Dirix L,

Cunningham D, Metrakos P, Reynolds AR Vessel co-option mediates resistance to anti-angiogenic therapy in liver metastases. *Nat Med* 22 (11):1294-1302. 2016

43. Chang HH, Leeper WR, Chan G, Quan D, Driman DK Infarct-like necrosis: a distinct form of necrosis seen in colorectal carcinoma liver metastases treated with perioperative chemotherapy. *Am J Surg Pathol* 36 (4):570-576. 2012

44. Rubbia-Brandt L, Giostra E, Brezault C, Roth AD, Andres A, Audard V, Sartoretti P, Dousset B, Majno PE, Soubrane O, Chaussade S, Mentha G, Terris B Importance of histological tumor response assessment in predicting the outcome in patients with colorectal liver metastases treated with neo-adjuvant chemotherapy followed by liver surgery. *Ann Oncol* 18 (2):299-304. 2007

45. Maru DM, Kopetz S, Boonsirikamchai P, Agarwal A, Chun YS, Wang H, Abdalla EK, Kaur H, Charnsangavej C, Vauthey JN, Loyer EM Tumor thickness at the tumor-normal interface: a novel pathologic indicator of chemotherapy response in hepatic colorectal metastases. *Am J Surg Pathol* 34 (9):1287-1294. 2010

46. Shindoh J, Loyer EM, Kopetz S, Boonsirikamchai P, Maru DM, Chun YS, Zimmitti G, Curley SA, Charnsangavej C, Aloia TA, Vauthey JN Optimal morphologic response to preoperative chemotherapy: an alternate outcome end point before resection of hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 30 (36):4566-4572. 2012

47. Yoshita H, Hosokawa A, Ueda A, Ando T, Kajiura S, Kato H, Kawabe H, Tomizawa G, Horikawa N, Yabuhita K, Note M, Sugiyama T Predictive value of optimal morphologic response to first-line chemotherapy in patients with colorectal liver metastases. *Digestion* 89 (1):43-48. 2014
48. Mazard T, Boonsirikamchai P, Overman MJ, Asran MA, Choi H, Herron D, Eng C, Maru DM, Ychou M, Vauthey JN, Loyer EM, Kopetz S Comparison of early radiological predictors of outcome in patients with colorectal cancer with unresectable hepatic metastases treated with bevacizumab. *Gut*. 2017
49. Mizuki N, Ota M, Kimura M, Ohno S, Ando H, Katsuyama Y, Yamazaki M, Watanabe K, Goto K, Nakamura S, Bahram S, Inoko H Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behcet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94 (4):1298-1303. 1997
50. Poultsides GA, Bao F, Servais EL, Hernandez-Boussard T, DeMatteo RP, Allen PJ, Fong Y, Kemeny NE, Saltz LB, Klimstra DS, Jarnagin WR, Shia J, D'Angelica MI Pathologic response to preoperative chemotherapy in colorectal liver metastases: fibrosis, not necrosis, predicts outcome. *Ann Surg Oncol* 19 (9):2797-2804. 2012
51. Brouquet A, Zimmitti G, Kopetz S, Stift J, Julie C, Lemaistre AI, Agarwal A, Patel V, Benoist S, Nordlinger B, Gandini A, Rivoire M, Stremitzer S, Gruenberger T, Vauthey

JN, Maru DM Multicenter validation study of pathologic response and tumor thickness at the tumor-normal liver interface as independent predictors of disease-free survival after preoperative chemotherapy and surgery for colorectal liver metastases. *Cancer* 119 (15):2778-2788. 2013

52. Chen D, Gyllenstein U MICA polymorphism: biology and importance in cancer. *Carcinogenesis* 35 (12):2633-2642. 2014

53. Waldhauer I, Goehlsdorf D, Gieseke F, Weinschenk T, Wittenbrink M, Ludwig A, Stevanovic S, Rammensee HG, Steinle A Tumor-associated MICA is shed by ADAM proteases. *Cancer Res* 68 (15):6368-6376. 2008

54. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer (2012). Accessed Jul 18

55. Dunet V, Halkic N, Prior JO, Anaye A, Meuli RA, Sempoux C, Denys A, Schmidt S Detection and Viability of Colorectal Liver Metastases After Neoadjuvant Chemotherapy: A Multiparametric PET/CT-MRI Study. *Clin Nucl Med* 42 (4):258-263. 2017

56. Clayton A, Tabi Z Exosomes and the MICA-NKG2D system in cancer. *Blood Cells Mol Dis* 34 (3):206-213. 2005

本研究の公表について

本研究の結果は以下の形で公表した（筆頭著者は申請者）。

1) Radiological Morphology of Colorectal Liver Metastases after Preoperative

Chemotherapy Predicts Tumor Viability and Postoperative Outcomes

Co-authors: Junichi Shindoh, Ryuji Yoshioka, Wataru Gono, Hiroyuki Abe, Naoki

Okura, Shuntaro Yoshida, Masaru Oba, Masaji Hashimoto, Goro Watanabe, Kiyoshi

Hasegawa, Norihiro Kokudo

Journal of Gastrointestinal Surgery. 2015 Sep;19(9):1653-61

謝辞

指導教官として多岐にわたりご指導頂いた東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 臓器病態外科学講座 肝胆膵外科学/人工臓器・移植外科学 准教授 長谷川 潔 先生 に深く感謝致します。

また、研究の原案から論文の執筆、研究の総括まで直接ご指導いただいた虎の門病院消化器外科 進藤 潤一 先生 に深く感謝致します。

さらに、本研究に関し、貴重なお時間を割いて協力いただき、また日常の議論を通じて多くの知識や示唆を頂いた、国立国際医療研究センター 国土 典宏 理事長、虎の門病院 肝胆膵外科 橋本 雅司 部長、獨協医科大学越谷病院 外科 吉岡 龍二 講師、東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 肝胆膵外科学/人工臓器移植外科学 阪本 良弘 准教授、東京大学大学院医学系研究科 放射線部 五ノ井 渉 助教・大倉 直樹 助教、東京大学大学院医学系研究科 病理部 深山 正久 教授、阿部 浩幸 助教、東京大学大学院医学系研究科 神経内科/ゲノム医学センター 三井 純 助教、さらに共同研究員である医局員の皆様に感謝致します。