HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	直腸癌の術前治療による術後合併症への影響と腫瘍局所の微小環境の変化に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	今泉, 健
Description	配架番号：2504
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14034号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77836
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ken_Imaizumi_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　今泉　健

学 位 論 文 題 名

直腸癌の術前治療による術後合併症への影響と腫瘍局所の微小環境の変化に関する研究
(Study on postoperative complications and tumor microenvironment related to neoadjuvant therapies for rectal cancer)

【背景と目的】

本邦における切除可能局所進行直腸癌に対する標準的な術前治療は、化学放射線療法である。しかし、近年、術前化学療法も良好な結果を示している。術前化学放射線療法は、腫瘍の局所制御に寄与するが、術後合併症の増加や生存期間を延長させないなどのデメリットも報告されている。治療後に病理学的完全奏功を達成できた症例の予後は良好であるが、残存腫瘍を認める症例の長期予後を予測できる有用なマーカーが乏しいことも現在の課題でる。腫瘍微小環境の評価やその予後との関連は、これまでにも検討がされているが、術前化学療法の腫瘍環境への効果は明らかにされていない。そこで、本研究では、まず、術前化学放射線療法および術前化学療法の術後合併症に与える影響を評価した（研究 I)。結果、術前治療によって腫瘍縮小を得ることで合併症のリスクとなる拡大手術を回避できることが示唆された。そこで、術前治療による腫瘍縮小のメカニズムおよび免疫細胞を中心とした微小環境の変化の解明を目的として、術前治療後の直腸癌切除検体を用いて多重蛍光免疫染色法にて評価を行なった（研究 II)。

【対象と方法】

研究 I. 術前治療の術後合併症との関連に関する評価は、2 つのコホートを用いた。評価項目は、会陰創部感染と排尿障害とした。コホート 1；会陰創部感染評価コホートで 135 例の直腸および肛門管腫瘍症例、コホート 2；排尿障害評価コホートで 503 例の直腸癌症例、について、それぞれの合併症の発生頻度と、リスク因子の解析を行った。

研究 II. 腫瘍微小環境の評価としては、200 例の局所進行直腸癌を対象とし、その内訳は、48 例の術前化学放射線療法（Neoadjuvant chemoradiotherapy: CRT）施行症例、51 例の術前化学療法（Neoadjuvant chemotherapy: NAC）施行症例、101 例の手術単独症例（Control 群）であった。術前治療の治療効果の評価として、組織学的治療効果判定 : TRG (Tumor regression grade）を用いた。各症例から、4-point tissue micro arrays を作成し、それらを用いて、多重蛍光免疫染色法により、残存腫瘍および浸潤免疫細胞の評価を行った。

【結果】

研究 I. 術後の会陰創部感染の発症頻度は 56%、術後の排尿障害は 18.5%に発症していた。会陰創部感染における独立したリスク因子は、他臓器合併切除であった。排尿障害の独立したリスク因子は、性別、術前の残尿量、開腹手術、骨盤神経の非温存であった。CRT および NAC 施行に関しては、いずれの評価項目においても独立した有意なリスク因子とはならなかった。本研究の結果から、術前治療によって腫瘍の縮小が得られた症例では、他臓器合併切除および骨盤神経の非温存手術といった拡大手術を回避できるため、合併症の発症を最小限に抑えることが可能になると考えられた。

研究 II. 術前治療による腫瘍縮小の微小環境の変化を評価した。残存腫瘍を評価したところ、CRT は、TRG および残存腫瘍面積いずれにおいても NAC よりも縮小効果が高く、さらに Ki67 を指標とした残存腫瘍の増殖能についても、CRT で強く増殖抑制を認めた。浸潤免疫細胞を評価したところ、CD4 T 細胞および CD8 T 細胞、さらにそれぞれの活性化分（Ki67 高発現）は、Control 群と比較して、NAC 施行症例では高値であり、CRT 施行症例では低値であった。腫瘍組織を癌

胞巣部と間質に分けて、T 細胞の癌胞巣部への浸潤を癌間質比として評価を行った。その結果、特に術前治療の効果が高い TRG1 症例では、CRT、NAC、いずれの施行症例でも、Control 群に比較し、T 細胞の癌間質比は有意に上昇しており、Ki67 高発現分画について、その傾向はより顕著であった。免疫抑制性分画の術前治療による変化としては、間質部での CD4 陽性細胞の制御性 T 細胞割合が、CRT、NAC、いずれの施行症例でも低値であった。マクロファージは、両術前治療群で高値であったが、特に M1 分画において有意に高値であった。次に、これら腫瘍局所の浸潤免疫細胞と術後無再発生存(Relapse-free survival: RFS)との関連の評価を行った。CRT 施行症例では、Ki67 を高発現した活性化 CD4 T 細胞の癌胞巣内密度が、NAC 施行症例では、間質の Ki67 高発現活性化 CD8 T 細胞密度が、有意な再発予測マーカーであった。また、CRT 施行症例では、CD8 T 細胞分画が再発抑制に寄与する傾向を認めた。NAC 施行症例では CD4 T 細胞分画は、再発抑制に寄与が認められなかった。

【考察】

術後合併症との関連について、各術前治療は単変量解析ではリスク因子としての可能性が示唆されたが、多変量解析では独立したリスク因子とはならなかった。術前治療によりがん縮小が認められ、手術での臓器温存が可能となれば、会陰創部感染および排尿障害の発生頻度を抑えることができると考えられる。

多重蛍光免疫染色による評価から、CRT 施行症例では有意に残存腫瘍面積およびその増殖能の低下が認められたことから、局所の腫瘍退縮ならびに長期の増殖制御は CRT が有利である可能性が示唆された。また、NAC では術前治療から手術時までのインターバルにおいて、残存腫瘍が再増殖する可能性が考えられた。腫瘍浸潤 T 細胞の解析からは、NAC 後で、特に CD4 T 細胞の浸潤増加が顕著であることが明らかとなった。これは、化学療法により惹起された炎症応答に伴うケモカイン依存的な浸潤と考えられる。一方、CRT 後では、浸潤 T 細胞の低下が認められた。これまでに、CRT により T 細胞浸潤が増加することが報告されており、CRT における照射線量などのスケジュールや手術までのインターバルによって、浸潤 T 細胞の減少およびその後の回復が異なってくる可能性が考えられた。これらは、今後、より効果的な免疫療法との併用療法を開発する上で重要な知見である。興味深いことに、RFS の延長に関連する浸潤 T 細胞の分画やその腫瘍内局在は、各術前治療で異なっていた。NAC 後で顕著に高値であった CD4 T 細胞浸潤は RFS の延長に寄与せず、一方、CRT 後では CD4 T 細胞の癌腺管内への浸潤が必要であることがわかった。また、NAC 後では、がん免疫に抑制的に作用する CD4 陽性制御性 T 細胞の増加も認められた。NAC 後では必ずしも、ヘルパーCD4 T 細胞が抗腫瘍免疫応答に有用に作用していない可能性がある。CD8 T 細胞はいずれの術前治療でも必要性が示されていることから、腫瘍排除に働くエフェクターCD8 T 細胞の機能や増殖において、ヘルパーCD4 T 細胞の必要性が各術前治療で異なる可能性示唆されるが、その機序の評価にはより詳細な実験が必要である。

【結論】

術後の合併症・機能障害について、術前治療を施行後、手術での臓器温存に努めることで、発生頻度を最小限に抑えることが可能であると考えられる。術前治療により、腫瘍微小環境は異なることが明らかとなった。術前治療後に腫瘍局所に浸潤した T 細胞の Ki67 発現を指標とした活性化とその腫瘍内局在を評価することで、局所進行直腸癌の再発を予測できる可能性が示唆された。