

## 【15】

氏 名	おおい はるか 大 井 悠
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第811号
学位授与の日付	令和4年3月4日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (先端外科学)
学位論文題目	<b>CD133 expression predicts relapse in patients with locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemotherapy</b> (術前化学療法後の局所進行直腸癌において、CD133発現は術後再発予測に有用である)
論文審査委員	(主査) 教授 伴 慎 一 (副査) 教授 玉 野 正 也 教授 矢 澤 卓 也

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背 景】

欧米では、局所進行直腸癌に対しての治療戦略として、術前化学放射線療法、直腸間膜全切除が標準治療とされているが、高い遠隔再発率（25%以上）が問題視されている。また、術中操作の困難性や排尿・性・肛門などの機能障害、二次発癌の可能性など、術前化学放射線療法に伴う合併症の問題も指摘されている。最近ではこれらの問題を回避する目的で、術前化学療法のみ導入する治療が試みられている。

近年、癌の転移・再発や、薬剤・放射線の耐性に関与するがん幹細胞が重要な役割を担っていることが判明している。がん幹細胞のマーカーの一つとして、CD133が癌の性質や予後を予測する因子として有用であると報告されている。

CD133発現と術後再発や予後との関連性については、術前化学放射線療法を施行した直腸癌症例では強い相関があることが報告されているが、術前化学療法のみを施行した直腸癌症例でのCD133発現と術後再発や予後との相関を検討した報告はない。

#### 【目 的】

本研究は、オキサリプラチンをベースとした術前化学療法を施行した局所進行直腸癌症例における、CD133発現の術後再発予測因子としての有用性を検討した。

#### 【対象と方法】

本研究は獨協医科大学埼玉医療センター臨床研究倫理審査の承認を得て行った。

2010年4月から2018年6月の間に、当院で術前化学療法を施行した後に根治切除術を施行された局所進行直腸癌（cT3/4かつ/あるいはcNanyかつcM0）52例を対象とした。

術前診断と進行度評価は下部消化管内視鏡検査、MRI検査、CT検査で行った。治療前内視鏡生検でKirsten rat sarcoma viral oncogene homolog（KRAS）遺伝子変異の有無を評価した。壁深達度（T）とリンパ節転移（N）については、術前（画像的）診断と術後（病理学的）診断を比較し、術後診断で改善している場合をdown stagingありとした。術前化学療法はオキサリプラチンをベースとして、KRAS野生型を有する症例に対しては、SOX+CET療法を施行した。KRAS変異型に対しては、SOX療法、FOLFOX療法、CAPOX療法を施行した。術前化学療法終了後、4－6週間で切除手術を施行した。手術は鏡視下切除が44例（84.6%）、開腹手術が8例（15.4%）であった。肛門温存手術が28例（53.8%）で、一時的人工肛門の造設は術者の判断とされた。

術後補助療法はypT4あるいはypN+の症例に、オキサリプラチンベースで5FU製剤を併用するか経口5FU製剤とし、6ヶ月間行った。レジメンはUFT/LV、Cape、SOX、FOLFOX、CAPOX療法のうち、担当医によって選択された。原則として3ヶ月毎の血液検査、6ヶ月毎のCT検査、年毎の下部消化管内視鏡検査を術後5年間行った。

免疫染色には、一次抗体としてAC133（Miltenyi Biotec、Auburn、CA、USA）を用いた。発現については浸潤先進部で評価し、管腔側細胞質内に蛋白発現を呈するものを陽性とした。

名義変数は $\chi^2$ 検定、Fisher正確確率検定を用い、連続変数についてはMann-Whitney U検定を用いた。生存曲線については、Kaplan-Meier法を用い、有意差検定にはlog-rank検定を用いた。単変量・多変量解析にはCox比例ハザードモデルを用いた。いずれもp値0.05未満を有意差ありとした。統計解析ソフトはSPSS version 25（IBM Japan Limited、Tokyo、Japan）を使用した。

## 【結 果】

男性36人（69.2%）、女性16人（30.8%）、年齢の中央値は67歳（60-72歳）で、フォローアップ期間の中央値は53ヶ月（25-79ヶ月）であった。術前化学療法はSOX+CET療法14人（26.9%）、SOX療法21人（40.4%）、CAPOX療法6人（11.5%）、FOLFOX療法11人（21.2%）であった。cT3は45人（86.5%）、cT4は7人（13.5%）、cN+は49人（94.2%）であった。術前治療の組織学的効果はgrade 0-1が40人（76.9%）、grade 2-3が12人（23.1%）で、CRが1人（2.0%）であった。down stagingはT因子15人（28.9%）、N因子33人（63.5%）でみられた。術後補助療法は20人（38.5%）に行われ、17人（32.7%）に再発を認め、肺転移が8人と最多であった。CD133高発現は22人（42.3%）に認めた。

CD133高発現群はCD133低発現群に比べ、静脈侵襲や治療によるdown staging（T因子、N因子）がみられないこと、再発に強く関与していた。全対象の4年無再発生存率（RFS rate）は67.4%で、CD133低発現群はCD133高発現群に比べ、有意に良好な結果であった。一方、RFS rateに関する多変量解析では、剥離断端陽性、CD133高発現が独立した有意な再発リスク因子であった。剥離断端陽性を除外した多変量解析では、リンパ管侵襲、CD133高発現が有意な再発リスク因子であった。

## 【考 察】

今回の検討でCD133低発現は、CD133高発現群に比べ良好なRFS rateを示した。さらに、多変量解

析においても、CD133高発現群は術後再発の独立した有意なリスク因子であった。よって、術前化学療法を施行した症例において、切除標本のCD133発現が再発の予測因子であることが示唆された。

術前化学療法、直腸間膜全切除を施行した症例のうち、術後補助療法を導入すべき症例について、現時点では一定の見解はない。本研究での術後補助療法適応はEuropean Society for Medical Oncology (ESMO)のガイドラインに準じており、術後補助療法を導入しなかった32例中5例(15.6%)に再発を認め、そのうち3例がCD133高発現群であった。この結果から、CD133発現が再発高リスク群を予測できた可能性がある。最近、術前化学療法が局所進行直腸癌における微小転移や遠隔転移の減少に効果的とする報告が散見される。術前化学療法と術前化学放射線療法を組み合わせ、PROSPECT試験が現在北アメリカで進行中である。標準治療のオプションとして、症例を選べば、局所進行直腸癌に対して放射線療法なしでの術前化学療法は有効な治療の選択肢となり得ると考えている。

課題としては、後ろ向き研究であるため、選択バイアスが存在する点、症例数が十分ではない点があげられる。今後、さらに多くの症例を蓄積していく必要がある。

#### 【結 論】

CD133発現は、術前化学療法を施行した局所進行直腸癌症例において、再発の予測因子となる可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

#### 【論文概要】

近年、癌の転移・再発、薬剤・放射線耐性にかん幹細胞が重要な役割を担っていることが判明しており、そのマーカーの一つとして、CD133が有用であると報告されている。局所進行直腸癌において、術前化学放射線療法を施行した症例ではCD133発現と再発や予後に強い相関があることが報告されているが、術前化学療法のみを施行した症例での報告はない。申請論文では、術前化学療法を施行した局所進行直腸癌症例におけるCD133発現の再発予測因子としての有用性を検討している。術前化学療法を施行した後に根治切除術を施行された症例52例を対象に検討した結果、1) CD133高発現群は静脈侵襲、治療によるdown staging (T因子、N因子)がみられないこと、再発に強く関与していること、2) 全対象の4年無再発生存率は67.4%で、CD133低発現群は有意に良好であること、3) 無再発生存率に関する多変量解析では、剥離断端陽性、CD133高発現が有意な再発リスク因子であること、4) 剥離断端陽性例を除外した多変量解析では、リンパ管侵襲、CD133高発現が有意な再発リスク因子であることを明らかにした。また、術後補助療法を導入しなかった32例中5例に再発を認め、そのうち3例がCD133高発現群であった。この結果から、術前化学療法を施行した局所進行直腸癌症例において、CD133高発現が再発の予測因子となる可能性が示唆されると結論付けている。術前化学療法を施行した症例のうち術後補助療法を導入すべき症例の選択方法については、今までのところ一定の見解は示されていないが、今回の検討により、CD133の高発現が術後補助療法導入を考慮する因子となる可能性が示唆される。

### 【研究方法の妥当性】

申請論文は獨協医科大学埼玉医療センター臨床研究倫理審査の承認を得て行われ、獨協医科大学埼玉医療センター外科に集積された症例を用いており、適切な術前化学療法後にガイドラインに沿った手術が施行されている。CD133の免疫組織化学は、標準的な一次抗体AC133（Miltenyi Biotec、Auburn、CA、USA）を用いて適切な方法で染色が行われ、染色結果は適切に評価されている。また、適切なカットオフ値の設定と各因子に関する客観的な統計解析が行われており、本研究方法は妥当なものである。

### 【研究結果の新奇性・独創性】

CD133はがん幹細胞のマーカーとして認識されている。これまでに局所進行直腸癌術前化学放射線療法症例でのCD133発現と再発や予後との相関については報告されているが、術前化学療法のみでの症例における解析の報告はない。申請論文では、豊富な症例を用いて、局所進行直腸癌術前化学療法症例におけるCD133高発現が再発や予後を予測する因子となる可能性があることを明らかにしている。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

### 【結論の妥当性】

申請論文では、多数の症例を、適切なカットオフ値の設定の下、確立された手法と統計解析を用いて検討し、CD133高発現を局所進行直腸癌術前化学療法症例における再発リスク因子と位置付けている。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、また、外科学、病理学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

### 【当該分野における位置付け】

申請論文では、局所進行直腸癌術前化学療法症例の予後を、がん幹細胞のマーカーであるCD133から評価しようと試み、その結果、CD133高発現が術前化学療法症例における再発リスク因子であることを明らかにしている。これは、局所進行直腸癌のみならず、他の悪性腫瘍の治療耐性や予後の研究の進歩にも大いに役立つ大変意義深い研究と評価できる。

### 【申請者の研究能力】

申請者は、外科学や病理学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌への掲載が承認されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

### 【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判定した。

### （主論文公表誌）

In Vivo

(35 : 437-445, 2021)