

学位論文

「CD33⁺ Immature Myeloid Cells Critically Predict Recurrence in
Advanced Gastric Cancer」

(進行胃癌における CD33 陽性未成熟骨髓細胞の意義)

DM18014 添野 孝文

北里大学大学院医療系研究科医学専攻博士課程
臨床医科学群 外科学
指導教授 比企 直樹

著者の宣言

本学位論文は、著者の責任において実験を遂行し、得られた真実の結果に基づいて正確に作成したものに相違ないことをここに宣言する。

要旨

胃癌の罹患率は、ヘリコバクターピロリ感染低下や食生活の変化により減少している。しかし胃癌術後の長期治療成績は再発あるいは転移のために満足できるレベルではない。担癌患者においては腫瘍免疫が働き腫瘍細胞を支持する免疫細胞の動員により、腫瘍進展に関与する腫瘍微小環境が確立されることが知られている。

宿主側の免疫応答反応は、腫瘍細胞のアポトーシス阻害や血管新生促進に関与し、さらに DNA の変異を蓄積させることで腫瘍の進行および増殖を促進する。また腫瘍微小環境において 1 型から 2 型への免疫応答シフトおよび骨髓由来抑制細胞 (Myeloid-derived suppressor cells ; MDSCs) などの免疫抑制細胞の動員が確認され T リンパ球および NK 細胞活性などのエフェクター細胞を抑制されることが注目されている。

マウスとは異なりヒトでは MDSC は細胞表面マーカーが同定されていないが、近年の研究で CD33 陽性細胞は MDSC 様活性を示すことがわかり MDSC のマーカーとして注目されるようになった。CD33 陽性細胞を含む免疫関連細胞と癌の進行に関する研究が進む中、胃癌においては CD33 陽性細胞と臨床病理学的関係を報告する研究がなかった。本研究の目的は、CD33 陽性細胞と標準治療（根治切除および術後 S-1 補助化学療法）を受けた進行胃癌の長期治療成績との関連を明らかにすることである。

2002 年から 2010 年に根治手術を施行し得た胃癌症例は 1673 例であった。その中から、術前化学療法を施行していない深達度 T2 以上の pStage II/III の進行胃癌、かつ術後補助化学療法として S-1 内服をしていた症例 139 症例を対象とした。手術により切除された病理検体標本を用い免疫組織化学染色を行い、癌部・間質・癌先進部 3 か所の平均値として CD33 陽性細胞数を測定し、臨床病理学的特徴を検討した。

CD33 陽性細胞数は無再発と比べ、再発では有意に増加していた ($p < 0.001$)。pStage II / III を分けて別に解析しても同様であった。一方、CD33 細胞数と臨床病理学的特徴は有意に相関を示す因子を認めなかった。原発癌関連死を予測する ROC curve から CD33 のカットオフ値を 37.8 と設定し、カットオフ値より高い群を CD33-hi、低い群を CD33-lo として解析を進めると、それぞれの 5 年無再発生存率は 79.4% (CD33-lo) vs 29.0% (CD33-hi) であり CD33-hi で有意に低値であった ($p < 0.001$)。多変量解析においても CD33-hi 症例は有意な独立予後不良因子となった。以上から標準治療を受けた進行胃癌のハイリスク患者の同定や MDSC を標的とした新規治療開発に有用な所見が得られたと考える。

目次

	頁
1. 序論 -----	1
2. 対象と方法	
2-1. 対象患者 -----	2
2-2. 術後補助化学療法 -----	2
2-3. 病理診断と血液検体の解析 -----	2
2-4. CD33 免疫組織化学 -----	3
2-5. 統計学的解析 -----	3
3. 結果	
3-1. 患者および疾患の特徴	4
3-2. CD33 陽性細胞数と pStageII / III 胃癌における再発との関連	4
3-3. 各 Stage における予後解析	5
3-4. CD33 陽性細胞数と末梢白血球分画および臨床病理学的因子との関連	5
3-5. pStage II / III 胃癌における再発形式と CD33 陽性細胞数	6
4. 考察 -----	7
5. 総括 -----	8
6. 謝辞 -----	8
7. 引用文献 -----	8
(8. 図表 -----	14

1. 序論

胃癌は、世界の癌死亡原因の第3位（男性）、第5位（女性）である。2018年には、103万3701人が新たに胃癌と診断され、78万2685人が死亡したと推定されている。¹ 罹患率は、食生活やヘリコバクターピロリ感染の有病率などの地域特性を反映して、東アジアで最も高くなっている。² ヘリコバクターピロリ感染の減少や食生活の変化による発症率の低下、診断・治療の向上にもかかわらず、胃癌切除後の再発・転移により、5年累積生存率は依然として満足できるものではない。³ 術前のTNM病期分類は、胃癌患者の適切な治療戦略を決定するのに有用であるが、同じ病期の患者であっても臨床経過が異なることが多い。そのため、TNM病期分類は患者の長期的な転帰を予測するには不十分である。再発リスクの高い患者を選択するだけでなく、新たな治療法の研究にも貢献できる有用なバイオマーカーを見つけることが必要である。

宿主側の炎症反応は、免疫細胞を原発巣に呼び寄せ、腫瘍の発生に重要な役割を果たす腫瘍微小環境を構築する。腫瘍に付随する炎症反応は、アポトーシスを阻害し、血管新生を促進し、DNAを損傷することで、腫瘍の進行と増殖を促進する。^{4,9} 最も重要なことは、癌の進行は、宿主からの免疫回避にかかっているということである。腫瘍微小環境では、免疫細胞の調節不全により、免疫応答がタイプ1からタイプ2へと移行し、骨髄由来抑制細胞(MDSC)などの免疫抑制細胞が増強される。^{10,11} 単球数¹²⁻¹⁸、C反応性タンパク質(CRP)¹⁹、好中球-リンパ球比(NLR)²⁰⁻²³、リンパ球-単球比²⁴⁻²⁶など、いくつかの炎症マーカーが、癌の予後不良因子として提案されている。近年、MDSCと呼ばれる未熟な骨髄系細胞が、Tリンパ球やNK細胞の活性を抑制することで、癌の免疫回避に寄与していることが明らかになっている。MDSCは、末梢血、リンパ節、骨髄、および腫瘍部位で頻繁に増加し²⁷⁻²⁹、消化器癌ではMDSCのレベルが腫瘍のステージを反映している。³⁰ ヒトでは、MDSCは一般的に細胞表面マーカーであるCD33およびCD11bを発現しており、一般的に単球または顆粒球マーカー（それぞれCD14またはCD15）の発現に差があり、ヒト白血球型抗原(HLA-DR)やlineageマーカーの発現は少ない。^{11,27} ヒト腫瘍組織では、ほとんどのCD33陽性細胞が免疫抑制的なMDSC様の活性を示す。³¹ 転移性腎細胞癌²⁹や非小細胞肺癌³²の患者では、顆粒球性MDSCの増加が報告されている。メラノーマ²⁸、肝細胞癌³³、卵巣癌³⁴の患者では、単球性MDSCが増加している。これらの知見は、MDSCサブタイプの増加が、癌種や臓器によって異なることを示唆していると考えられる。免疫関連細胞が癌の進行や患者の予後に関係していることを示す研究が増えてきているが、どのタイプの免疫細胞が胃癌において最も重要であるのかは未だ不明である。そこで、本研究では、胃癌患者における免疫細胞の重要性を、MDSCに着目して明らかにすることを目的とした。

2. 対象と方法

2-1. 対象患者

2002年から2010年までの間に、北里大学病院において胃癌と診断され、リンパ節郭清(D2)(主要血管高位結紮³⁵)を伴う根治的切除術を受けた1673例を対象とした。このうち、病理学的に進行胃癌と診断されたのは733例であった。pStage IB(146例)とpStage IV(191例)の患者は除外した。pStage IVの患者は、腫瘍の出血や閉塞などの局所制御のために緩和手術を行い、遠隔転移部位や腹膜播種の外科的切除は行わなかった。396例がpStage II/IIIと診断された。168例にS-1の術後補助化学療法が行われ、CD33免疫組織化学染色で十分な検体の質が得られた139例が最終的にこの研究で解析された。(図1)患者は、術後補助化学療法中は3~6週間ごとに、術後1年から6ヶ月ごとに経過観察された。本研究では、根治的胃切除術後5年以内に発生した場合を「再発」と定義した。術後5年の時点で再発の兆候がない場合を「無再発」とした。全ての人が、自分の検体の病理学的診断と評価について、書面によるインフォームド・コンセントを得た。本研究はヘルシンキ宣言に基づいて行われ、北里大学医学部の研究倫理委員会で承認された。

研究倫理委員会承認番号：18-263

2-2. 術後補助化学療法

S-1(80mg/m²/day)を4週間経口投与した後、1コースにつき2週間の休薬を行った。患者は術後1年間に8コースのS-1を投与された。毒性作用は、NCI-CTC(Common Toxicity Criteria of the National Cancer Institute, Version 4.0)³⁶に基づいて評価された。Grade 3/4の血液学的毒性、またはGrade 2以上の非血液学的毒性が認められた場合は、医師の判断により投与量を減らすか、S-1の投与を中止した。

2-3. 病理診断と血液検体の解析

病理診断は病理医によって行われた。リンパ管侵襲は、8枚のスライドに認められた癌細胞の侵襲に応じて以下のように分類した：ly0, 検査したどのスライドにもリンパ管侵襲が認められない；ly1, 検査したすべてのスライド全体にリンパ管侵襲が1カ所または2カ所認められる；ly3, 検査したすべてのスライドにリンパ管侵襲が1カ所または2カ所以上認められる；ly2, ly1とly3の中間レベル。静脈侵襲の分類(v0, v1, v2, またはv3)も同様に行った。³⁷病期は、国際対がん連合(UICC)のTNM病期分類に従った。腫瘍の局在は、上部(U)、中部(M)、下部(L)に分類された。組織型は、分化型(高・中分化型の管状腺癌、乳頭状腺癌)と未分化型(低分化型の管状腺癌、粘液癌、印環細胞癌)に分類した。³⁸術前検査として、血算、生化学、腫瘍マーカーなどの血液検査を術前1ヶ月以内に実施した。

2-4. CD33 免疫組織化学

ホルマリン固定したパラフィン包埋ブロックから厚さ 4 μ m の連続切片を作成した。抗原賦活化は、緩衝液 (1.8mM クエン酸、8.2mM クエン酸ナトリウム、0.05% Tween20、pH6.0) を用いて 121°C で 10 分間オートクレーブ処理を行った。内因性ペルオキシダーゼ活性は、3% H₂O₂/メタノールを用いて室温で 5 分間インキュベートすることでブロックし、非特異的結合は 10% 正常ウサギ血清を用いて室温で 10 分間インキュベートすることでブロックした。抗 CD33 マウスモノクローナル抗体 (NCL-L-CD33, Leica Biosystems) を加え、切片を 4°C で一晩インキュベートした。Histofine® SAB-PO(M) キット (NICHIREI BIOSCIENCES, Inc, Tokyo, Japan) を用いて免疫複合体を検出した。これらの免疫複合体は、3,3'-ジアミノベンジジン (DAB) 基質を発色剤として用いて 3 分間検出した。切片はヘマトキシリンで対比染色した。癌部、間質、および癌先進部を低倍率 (40 倍および 100 倍の倍率) で同定した (補足図 1A)。CD33 陽性細胞は、ImageJ ソフトウェア (National Institutes of Health Research Service Branch, Bethesda, MD) を用いて高倍率 (400 倍) で計数した。CD33 陽性細胞の数は、3 つの異なる部位で計算した。3 つの部位 (癌部、間質、癌先進部) の CD33 陽性細胞数を平均した。

2-5. 統計学的解析

カテゴリー変数には χ^2 検定または Fisher の正確検定を適用し、連続変数には Student's-t 検定を用いた。臨床病理学的因子と経過観察データを、5 年無再発生存率 (RFS) との関連で分析した。RFS は、手術日から最初の再発または死亡 (原因は問わない) の日までの期間と定義した。5 年以内に脱落した患者は、最終経過観察日で打ち切った。経過観察期間は手術日から計算した。RFS は Kaplan-Meier 曲線で推定し、log-rank 検定で比較した。単変量解析で予後の可能性を示した変数を用いて、コックス比例ハザード回帰モデルで多変量解析を行った。 ($p < 0.05$)。連続変数の場合は、ROC 曲線を用いてカットオフ値を決定した。 $p < 0.05$ を有意とした。すべての統計解析は JMP Pro 14 (SAS Institute Japan, Tokyo, Japan) を用いて行った。

3. 結果

3-1. 患者および疾患の特徴

表1に pStage II / III 胃癌患者の臨床病理学的因子をまとめた。pStage II / III 胃癌では S-1 の術後補助化学療法が標準的な治療法となっており³⁹，S-1 療法を受けた患者に焦点を当て、均質な患者コホートを構成した (図1)。男性が 73.4%，女性が 26.6%であった。年齢中央値は 65 歳 (範囲：30~83 歳) であった。観察期間中央値は 61 ヶ月であった。腫瘍部位は、M/L が 68.3%を占めた。組織型は、未分化型が分化型よりも多かった (64.7%対 35.3%)。pStage II が 43 例 (30.9%)，pStage III が 96 例 (69.1%) であった。T2, T3, T4a, T4b はそれぞれ 16.5%，21.6%，60.4%，1.4%であった。リンパ管侵襲，血管侵襲があった症例は，それぞれ 95.0%，90.6%であった。

原発腫瘍の CD33 陽性細胞数を，pStage I と pStage IV を含む Stage ごとに解析した (補足図 2A)。pStage II の CD33 陽性細胞数は pStage I よりも多い傾向にあったが，pStage III および pStage IV の症例では，pStage I の患者に比べて CD33 陽性細胞が有意に多かった。

3-2. CD33 陽性細胞数と pStage II / III 胃癌における再発との関連

本研究では，CD33 陽性細胞を 3 つの異なる部位で計数した。まず，癌部，間質，癌先進部の CD33 陽性細胞数を別々に解析した。再発患者では，腫瘍のすべての部位でより多くの CD33 陽性細胞が観察された (補足図 1B)。3 つの部位 (癌部，間質，癌先進部) の CD33 陽性細胞数を平均した。

予後解析は，原発腫瘍中の CD33 陽性細胞数を含む臨床病理学的因子について行った (表1)。CD33 陽性細胞は骨髄由来の未熟な免疫細胞，特に MDSC を代表する細胞であり，CD33 陽性細胞の原発巣への動員を解析した。³¹ 再発患者では，原発腫瘍における CD33 陽性細胞数が有意に高かった (図 2A および 2B)。再発を予測するための CD33 陽性細胞数の最適なカットオフ値を ROC 解析で算出した (図 2C)。カットオフ値 37.8 は，高い感度 (79%) と特異度 (72%)，高い AUC (0.81) で再発を予測した。実際，Kaplan-Meier 解析では CD33 陽性細胞数が 37.8 個以上の患者 (CD33-hi) の 5 年 RFS は 29.0% (ハザード比 (HR) 5.00, 95%CI: 2.88-9.18) であったが，CD33 陽性細胞数が 37.8 個未満の患者 (CD33-lo) は 79.4%であった (図 2D)。単変量解析では，CD33-hi，高齢 (65 歳以上)，近位部 (食道または上部 3 分の 1: E/U)，分化度，pT 因子 (T4)，リンパ節転移，pStage III，血清 CA19-9 が RFS の低下と有意に関連していた (表1)。

多変量解析では，CD33-hi が独立した最も強固な予後因子であり (HR 4.34, 95%CI: 2.46-8.05, $p < 0.01$)，次いで pStage III (HR 3.03, 95%CI: 1.58-6.41, $p < 0.01$)，術前の血清 CA19-9，近位部であった (表1)。

また、pStage II / III では、術後 S-1 療法の完遂を考慮して、CD33 陽性細胞数の予後への影響を個別に解析した。術後 1 年間の S-1 療法の完遂に応じて、「完遂群」と「非完遂群」に分類した。非完遂群の S-1 療法期間中央値は 6 カ月（範囲：0.5～11 カ月）であった。S-1 療法を中止した理由は、毒性、1 年以内の再発、術後の後期合併症（吻合部狭窄、腸閉塞）であった。1 年以内の再発は「非完遂群」の 14 例に認められたが、「完遂群」では有意に生存率が高かった（補足図 2B）。重要なことは、CD33-hi 群は「完遂群」と「非完遂群」の両方で生存率が劇的に悪かったことである。

3-3. 各 Stage における予後解析

pStage III の胃癌患者は、pStage II の胃癌患者（5 年 RFS：76.0%）に比べて明らかに予後が悪い（5 年 RFS：49.3%）（HR 3.03, 95%CI：1.58-6.41, $p < 0.01$, 表 1, 補足図 3）ことから、予後の指標は Stage 間で異なると考え、各 Stage でサブ解析を行った。

pStage II の胃癌患者の単変量解析では、CD33-hi、高齢、男性、近位部（E/U）であることが、予後を有意に左右した（表 2）。Kaplan-Meier 曲線を見ると、CD33-hi は驚くほど予後が悪いことが判明した（5 年 RFS：38.5%, HR 14.44, 95%CI：2.78-127.96, $p < 0.01$, 図 3A）。一方、CD33-lo の 5 年 RFS は 93.1% であった（図 3A）。再発患者は、pStage II で有意に高い CD33 陽性細胞数を示した（図 3C）。多変量解析の結果、CD33-hi は、pStage II において独立した最も強固な予後因子であった（HR 14.44, 95%CI: 2.78-127.96, $p < 0.01$ ）（表 2）。pStage III の胃癌患者では、単変量解析において、原発巣の CD33-hi、組織型、T4、術前の血清 CA19-9 が予後と有意に関連していた（表 3）。

Kaplan-Meier 曲線によると、CD33-hi は、CD33-lo（5 年 RFS 71.2%）に比べて、有意に予後が悪いことが判明した（5 年 RFS 26.1%, HR 3.71, 95%CI: 2.02-7.20, $p < 0.01$ ）

（図 3B）。再発患者は、pStage III で有意に高い CD33 陽性細胞数を示した（図 3C）。多変量解析では、pStage III においても、CD33-hi が予後不良を独立して予測した（HR 3.71, 95%CI: 2.02-7.20, $p < 0.01$ ）（表 3）。

3-4. CD33 陽性細胞数と末梢白血球分画および他臨床病理学的因子との関連

末梢白血球分画に着目して、原発巣における CD33 陽性細胞数の増加と相関関係にある因子を評価した（表 4）。pStage II / III 胃癌における相関解析では、臨床病理学的因子も末梢白血球分画も、原発巣の CD33 陽性細胞数との有意な関連を示さなかった。pStage II では、末梢の単球数と原発巣の CD33 陽性細胞数は非常に弱い相関を示した（ $p = 0.12$, 補足表 1）。pStage III では、末梢の白血球分画を含む臨床病理学的因子は、CD33 陽性細胞数とは相関しなかった（補足表 2）。

これらの結果から、CD33 陽性細胞の大量動員は腫瘍の進行に大きな影響を与えるが、CD33 陽性未熟骨髄系細胞数は、全身を循環する白血球数に影響を与えるには比較的少ないことが示唆される。

3-5. pStage II/III 胃癌における再発形式と CD33 陽性細胞数

再発形式と CD33 陽性細胞数の関連性を評価した (表 5)。CD33-hi 群は血行性再発と有意に関連していた。一方、リンパ節再発は CD33 陽性細胞数と逆相関していた。

4. 考察

我々は、根治手術された胃癌における骨髓系由来の免疫細胞の臨床的影響を評価し、S-1療法を受けた根治手術された進行胃癌において、原発巣への大量のCD33陽性細胞の浸潤が血行性再発を予測する重要な要因であることを明らかにした。

癌関連免疫細胞が癌進行に重要な役割を果たしていることや^{6,8,11}、循環している炎症細胞が複数の癌の長期予後を予測する可能性があることが、臨床的に証明されつつある。^{12-18,20-23,25,40} 今回の研究では、CD33陽性細胞の原発巣への動員は、pStage II/III両方の患者で、再発と劇的に関連していた。興味深いことに、pStage IIの胃癌であっても、CD33陽性細胞の浸潤が多い患者は、驚くほど悪い5年RFS(38.5%)を示し、CD33陽性細胞数が多いpStage IIIの患者(26.1%)と同程度であった(図3A, 3B, 表2, 3)。これまでの報告では、原発巣に浸潤したMDSCと循環しているMDSCが正の相関関係にあり、両者は腫瘍の病期や転移と関連しているとされていた。^{30,41} しかし、本研究では、pStage IIの胃癌において、CD33陽性細胞数は、末梢単球率が高いこととわずかに関連している以外は、末梢白血球率との有意な相関はなかった(表4, 補足表1, 2)。これらの結果は、増殖したCD33陽性未成熟骨髓系細胞数は、全身の主要な白血球集団(好中球や単球)の数に影響を与えるには比較的小さいことを示唆していると思われる。しかし、CD33陽性細胞の大量増殖は、原発性腫瘍において免疫抑制作用を発揮し、腫瘍の再発につながると考えられる。

CD33陽性細胞は、未成熟骨髓系由来の免疫細胞である。さらに、ヒトの固形癌では、原発巣のCD33陽性細胞のほとんどが骨髓由来のサブレッサー細胞(MDSC)で構成されている。³¹ MDSCはよく知られた免疫抑制細胞であり、T細胞やNK細胞の活性を阻害することで免疫回避に寄与し、結果的に腫瘍を進行させる。⁴² また、MDSCは、上皮間葉転換(EMT)や間葉上皮転換(MET)を促進することで、遠隔転移にも関与している。⁴³ さらに、MDSCsは、抗癌剤(ペバシズマブ、シクロホスファミド、アントラサイクリン、スニチニブなど)や放射線治療に対する抵抗性に極めて重要な役割を果たしている。^{11,44-48} 最近では、MDSCが免疫チェックポイント阻害剤の抗癌作用を阻害すると考えられている。⁴⁹ その結果、循環するMDSCは、様々な癌の臨床病期や転移と相関している。^{45,50,51} 興味深いことに、CD33陽性細胞の動員は、血行性再発と密接に関連していたが、リンパ節再発とは逆に相関していた(表5)。これらの結果は、腫瘍の進行におけるCD33陽性細胞の活動を反映していると考えられる。

ヒトでは、MDSCsは一般的に細胞表面マーカーであるCD33およびCD11bを発現し、HLA-DRの発現は少なく、単球または顆粒球マーカー(CD14, CD15, またはCD66b)の発現が異なる。^{11,27} MDSCのサブタイプは、腫瘍の種類によって異なる可能性がある。MDSCの異質性に関わらず、MDSCが腫瘍微小環境における免疫抑制効果と

予後不良と密接に関連していることを示す前臨床および臨床研究が増えている。^{11, 28-34} 従って、本研究の主な限界は、末梢血分画と原発性腫瘍に動員された CD33 陽性細胞を正確に結びつけるための詳細な免疫細胞の種類が解析されていないことである。また、CD33 は腫瘍微小環境中の MDSC を検出するために使用される。次の研究では、フローサイトメトリー法を用いて、新鮮な腫瘍組織とペアの血液検体の細胞表面マーカーを決定する必要がある。また、腫瘍をサポートする他の免疫細胞（例：腫瘍関連マクロファージ（TAM）、制御性 T 細胞、NKT 細胞）の解析も必要である。さらに、CD33 陽性未成熟骨髄系派生細胞と全身の炎症マーカーや栄養マーカーとの関連性⁵²⁻⁶⁰ も、今後の研究で重要になるかもしれない。

結論として、原発巣における CD33 陽性細胞数が多いことは、根治的胃切除術を施行された場合に高リスクの患者を選択できる可能性があることが判明した。本研究の利点の 1 つは、根治手術と術後 S-1 療法からなる標準的な治療を受けた同質の患者集団で実施されたことである。CD33 陽性未成熟骨髄系由来の免疫細胞は、再発や S-1 感受性の機序を明らかにする手がかりとなるだろう。

5. 総括

胃癌原発巣の CD33 陽性細胞数は pStage II / III 胃癌の独立した予後不良因子であり、再発と有意に関連がある。

6. 謝辞

この研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金（15K10148）、かなえ医薬振興財団助成金、安田記念財団癌研究助成（若手研究者助成）の支援を受けています。

7. 引用文献

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians* 2018;68:394-424.
2. Newton R, Ziegler JL, Casabonne D, Carpenter L, Gold BD, Owens M, et al. *Helicobacter pylori* and cancer among adults in Uganda. *Infect Agent Cancer* 2006;1:5.
3. Siegel R, Naishadham D, Jemal A *Cancer statistics, 2012*. *CA: a cancer journal for clinicians* 2012;62:10-29.

4. Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clin Cancer Res* 2009;15:425-430.
5. Balkwill F, Mantovani A Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539-545.
6. Coussens LM, Werb Z Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860-867.
7. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010;140:883-899.
8. Hanahan D, Weinberg RA Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.
9. O'Callaghan DS, O'Donnell D, O'Connell F, O'Byrne KJ The role of inflammation in the pathogenesis of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010;5:2024-2036.
10. Katoh H, Wang D, Daikoku T, Sun H, Dey SK, Dubois RN. CXCR2-expressing myeloid-derived suppressor cells are essential to promote colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell* 2013;24:631-644.
11. Katoh H, Watanabe M Myeloid-Derived Suppressor Cells and Therapeutic Strategies in Cancer. *Mediators Inflamm* 2015;2015:159269.
12. Bruckner HW, Lavin PT, Plaxe SC, Storch JA, Livstone EM Absolute granulocyte, lymphocyte, and monocyte counts. Useful determinants of prognosis for patients with metastatic cancer of the stomach. *Jama* 1982;247:1004-1006.
13. Elias EG, Leuchten JM, Buda BS, Brown SD Prognostic value of initial mononucleated cell percentages in patients with epidermoid carcinoma of the head and neck. *Am J Surg* 1986;152:487-490.
14. Lee YY, Choi CH, Sung CO, Do IG, Huh S, Song T, et al. Prognostic value of pre-treatment circulating monocyte count in patients with cervical cancer: comparison with SCC-Ag level. *Gynecol Oncol* 2012;124:92-97.
15. Leitch EF, Chakrabarti M, Crozier JE, McKee RF, Anderson JH, Horgen PG, et al. Comparison of the prognostic value of selected markers of the systemic inflammatory response in patients with colorectal cancer. *Br J Cancer* 2007;97:1266-1270.
16. Sajadieh A, Mouridsen MR, Selmer C, Intzilakis T, Nielsen OW, Haugaard SB. Monocyte number associated with incident cancer and mortality in middle-aged and elderly community-dwelling Danes. *Eur J Cancer* 2011;47:2015-2022.
17. Sasaki A, Iwashita Y, Shibata K, Matsumoto T, Ohta M, Kitano S. Prognostic value of preoperative peripheral blood monocyte count in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2006;139:755-764.

18. Schmidt H, Bastholt L, Geertsen P, Christensen IJ, Larsen S, Gehl J, et al. Elevated neutrophil and monocyte counts in peripheral blood are associated with poor survival in patients with metastatic melanoma: a prognostic model. *Br J Cancer* 2005;93:273-278.
19. Shimada H, Nabeya Y, Okazumi S, Matsubara H, Shiratori T, Aoki T, et al. Elevation of preoperative serum C-reactive protein level is related to poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2003;83:248-252.
20. Nakayama Y, Gotohda N, Shibasaki H, Nomura S, Kinoshita T, Hayashi R. Usefulness of the neutrophil/lymphocyte ratio measured preoperatively as a predictor of peritoneal metastasis in patients with advanced gastric cancer. *Surg Today* 2014;44:2146-2152.
21. Shimada H, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Ikeda A, Cho A, et al. High preoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 2010;13:170-176.
22. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2005;91:181-184.
23. Yu L, Lv CY, Yuan AH, Chen W, Wu AW Significance of the preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio in the prognosis of patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2015;21:6280-6286.
24. Lin GN, Peng JW, Xiao JJ, Liu DY, Xia ZJ Prognostic impact of circulating monocytes and lymphocyte-to-monocyte ratio on previously untreated metastatic non-small cell lung cancer patients receiving platinum-based doublet. *Med Oncol* 2014;31:70.
25. Stotz M, Pichler M, Absenger G, Szkandera J, Armingier F, Schaberl-Moser R, et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcome in patients with stage III colon cancer. *Br J Cancer* 2014;110:435-440.
26. Wei X, Huang F, Wei Y, Jing H, Xie M, Hao X, et al. Low lymphocyte-to-monocyte ratio predicts unfavorable prognosis in non-germinal center type diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Res* 2014;38:694-698.
27. Almand B, Clark JI, Nikitina E, van Beynen J, English NR, Knight SC, et al. Increased production of immature myeloid cells in cancer patients: a mechanism of immunosuppression in cancer. *J Immunol* 2001;166:678-689.
28. Filipazzi P, Valenti R, Huber V, Pilla L, Canese P, Lero M, et al. Identification of a new subset of myeloid suppressor cells in peripheral blood of melanoma patients with modulation by a granulocyte-macrophage colony-stimulation factor-based antitumor vaccine. *J Clin Oncol* 2007;25:2546-2553.

29. Zea AH, Rodriguez PC, Atkins MB, Hernandez C, Signoretti S, Zabaleta J, et al. Arginase-producing myeloid suppressor cells in renal cell carcinoma patients: a mechanism of tumor evasion. *Cancer Res* 2005;65:3044-3048.
30. Zhang B, Wang Z, Wu L, Zhang M, Li W, Ding J, et al. Circulating and tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells in patients with colorectal carcinoma. *PLoS One* 2013;8:e57114.
31. Yu J, Wang Y, Yan F, Zhang P, Li H, Zhao H, et al. Noncanonical NF-kappaB activation mediates STAT3-stimulated IDO upregulation in myeloid-derived suppressor cells in breast cancer. *J Immunol* 2014;193:2574-2586.
32. Liu CY, Wang YM, Wang CL, Feng PH, Ko HW, Liu YH, et al. Population alterations of L-arginase- and inducible nitric oxide synthase-expressed CD11b+/CD14(-)/CD15+/CD33+ myeloid-derived suppressor cells and CD8+ T lymphocytes in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:35-45.
33. Hoechst B, Ormandy LA, Ballmaier M, Lehner F, Kruger C, Manns MP, et al. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells. *Gastroenterology* 2008;135:234-243.
34. Gordon IO, Freedman RS Defective antitumor function of monocyte-derived macrophages from epithelial ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006;12:1515-1524.
35. Japanese Gastric Cancer Association Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer* 2011;14:101-112.
36. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0. 2009.
37. Araki I, Hosoda K, Yamashita K, Katada N, Sakuramoto S, Moriya H, et al. Prognostic impact of venous invasion in stage IB node-negative gastric cancer. *Gastric Cancer* 2015;18:297-305.
38. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND WHO classification of tumors of the digestive system, 4th edition. International Agency for Research on Cancer. Lyon: 2010.
39. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, Kinoshita T, Fujii M, Nashimoto A, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med* 2007;357:1810-1820.
40. Ishizuka M, Oyama Y, Abe A, Kubota K Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients undergoing surgery for gastric cancer. *J Surg Oncol* 2014;110:935-941.

41. Wu L, Liu H, Guo H, Wu Q, Yu S, Qin Y, et al. Circulating and tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells in cervical carcinoma patients. *Oncology letters* 2018;15:9507-9515.
42. Gabrilovich DI, Nagaraj S Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2009;9:162-174.
43. Marvel D, Gabrilovich DI Myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment: expect the unexpected. *J Clin Invest* 2015;125:3356-3364.
44. Acharyya S, Oskarsson T, Vanharanta S, Malladi S, Kim J, Morris PG, et al. A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis. *Cell* 2012;150:165-178.
45. Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, Garrett-Mayer E, Cole DJ, Montero AJ. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:49-59.
46. Finke J, Ko J, Rini B, Rayman P, Ireland J, Cohen P. MDSC as a mechanism of tumor escape from sunitinib mediated anti-angiogenic therapy. *Int Immunopharmacol* 2011;11:856-861.
47. Mabuchi S, Matsumoto Y, Kawano M, Minami K, Seo Y, Sasano T, et al. Uterine cervical cancer displaying tumor-related leukocytosis: a distinct clinical entity with radioresistant feature. *J Natl Cancer Inst* 2014;106.
48. Shojaei F, Wu X, Zhong C, Yu L, Liang XH, Yao J, et al. Bv8 regulates myeloid-cell-dependent tumour angiogenesis. *Nature* 2007;450:825-831.
49. Weber R, Fleming V, Hu X, Nagibin V, Groth C, Altevogt P, et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells Hinder the Anti-Cancer Activity of Immune Checkpoint Inhibitors. *Frontiers in immunology* 2018;9:1310.
50. Tosello V, Zamarchi R, Merlo A, Gorza M, Piovan E, Mandruzzato S, et al. Differential expression of constitutive and inducible proteasome subunits in human monocyte-derived DC differentiated in the presence of IFN-alpha or IL-4. *Eur J Immunol* 2009;39:56-66.
51. Wang L, Chang EW, Wong SC, Ong SM, Chong DQ, Ling KL. Increased myeloid-derived suppressor cells in gastric cancer correlate with cancer stage and plasma S100A8/A9 proinflammatory proteins. *J Immunol* 2013;190:794-804.
52. Kim EY, Lee JW, Yoo HM, Park CH, Song KY The Platelet-to-Lymphocyte Ratio Versus Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio: Which is Better as a Prognostic Factor in Gastric Cancer? *Ann Surg Oncol* 2015;22:4363-4370.

53. Kinoshita A, Onoda H, Imai N, Iwaku A, Oishi M, Tanaka K, et al. The C-reactive protein/albumin ratio, a novel inflammation-based prognostic score, predicts outcomes in patients with hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2015;22:803-810.
54. Lee JY, Kim HI, Kim YN, Hong JH, Alshomimi S, An JY, et al. Clinical Significance of the Prognostic Nutritional Index for Predicting Short- and Long-Term Surgical Outcomes After Gastrectomy: A Retrospective Analysis of 7781 Gastric Cancer Patients. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e3539.
55. Lee S, Oh SY, Kim SH, Lee JH, Kim MC, Kim KH, et al. Prognostic significance of neutrophil lymphocyte ratio and platelet lymphocyte ratio in advanced gastric cancer patients treated with FOLFOX chemotherapy. *BMC Cancer* 2013;13:350.
56. Melling N, Gruning A, Tachezy M, Nentwich M, Reeh M, Uzunoglu FG, et al. Glasgow Prognostic Score may be a prognostic index for overall and perioperative survival in gastric cancer without perioperative treatment. *Surgery* 2016;159:1548-1556.
57. Migita K, Takayama T, Saeki K, Matsumoto S, Wakatsuki K, Enomoto K, et al. The prognostic nutritional index predicts long-term outcomes of gastric cancer patients independent of tumor stage. *Ann Surg Oncol* 2013;20:2647-2654.
58. Sakurai K, Ohira M, Tamura T, Toyokawa T, Amano R, Kubo N, et al. Predictive Potential of Preoperative Nutritional Status in Long-Term Outcome Projections for Patients with Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol* 2016;23:525-533.
59. Toyokawa T, Muguruma K, Tamura T, Sakurai K, Amano R, Kubo N, et al. Comparison of the prognostic impact and combination of preoperative inflammation-based and/or nutritional markers in patients with stage II gastric cancer. *Oncotarget* 2018;9:29351-29364.
60. Zhang X, Zhang W, Feng LJ Prognostic significance of neutrophil lymphocyte ratio in patients with gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2014;9:e111906.

8. 図表

図1 患者選択のフローチャート

略語：ADT, adjuvant chemotherapy; NAC, neoadjuvant chemotherapy; FFPE, formalin-fixed paraffin embedded tissue.

Figure 1

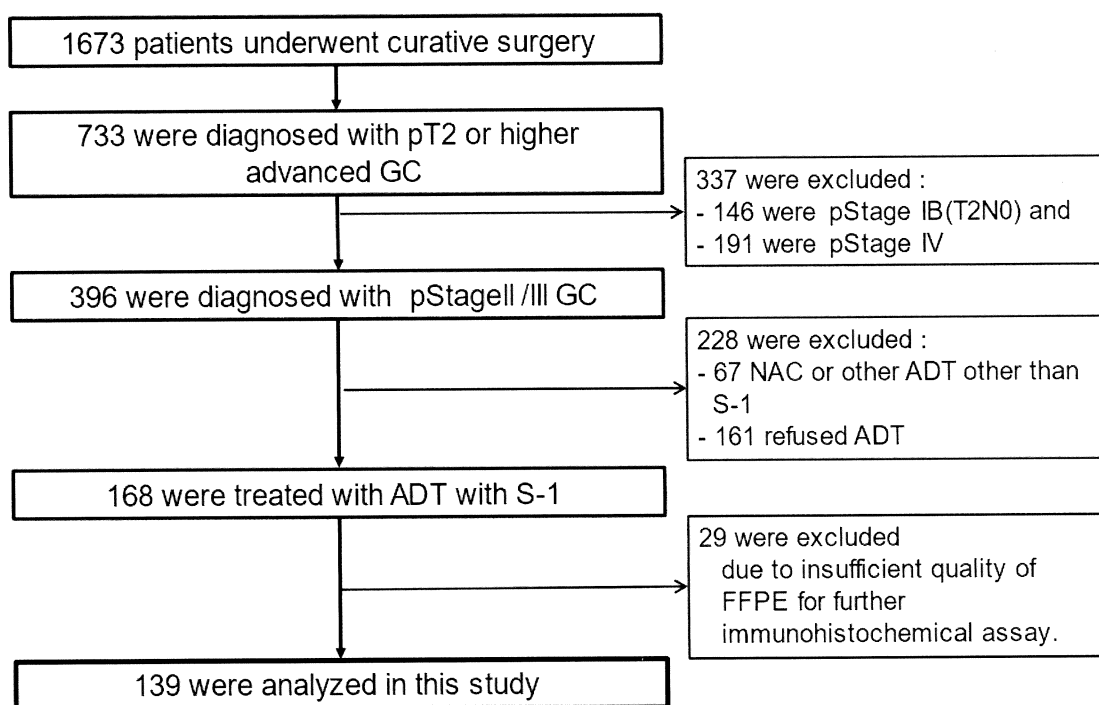


図2 A) pStage II / III 胃癌において、原発巣の CD33 陽性細胞数と再発の有無。
 *rec は再発, non-rec は無再発. B) CD33 の免疫組織化学染色の代表的な画像. 上
 段は再発例, 下段は無再発例. 黒い横線 : 50 μ m. C) 再発と CD33 陽性細胞数の
 ROC 曲線. D) CD33 陽性細胞数で比較した pStage II / III 胃癌における RFS の
 Kaplan-Meier 曲線 (p<0.001). CD33-hi/lo, CD33 陽性細胞数が多い/少ない. p 値
 は log-rank 検定で決定した.

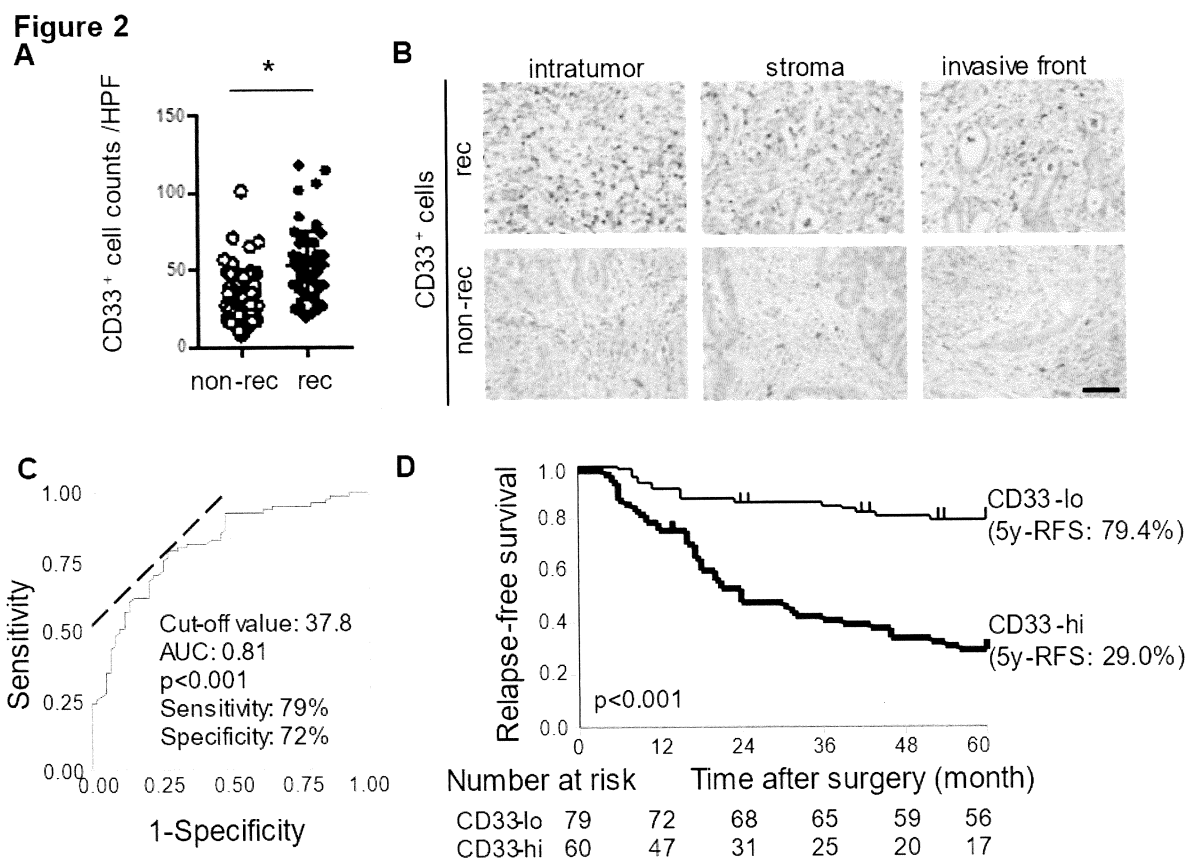
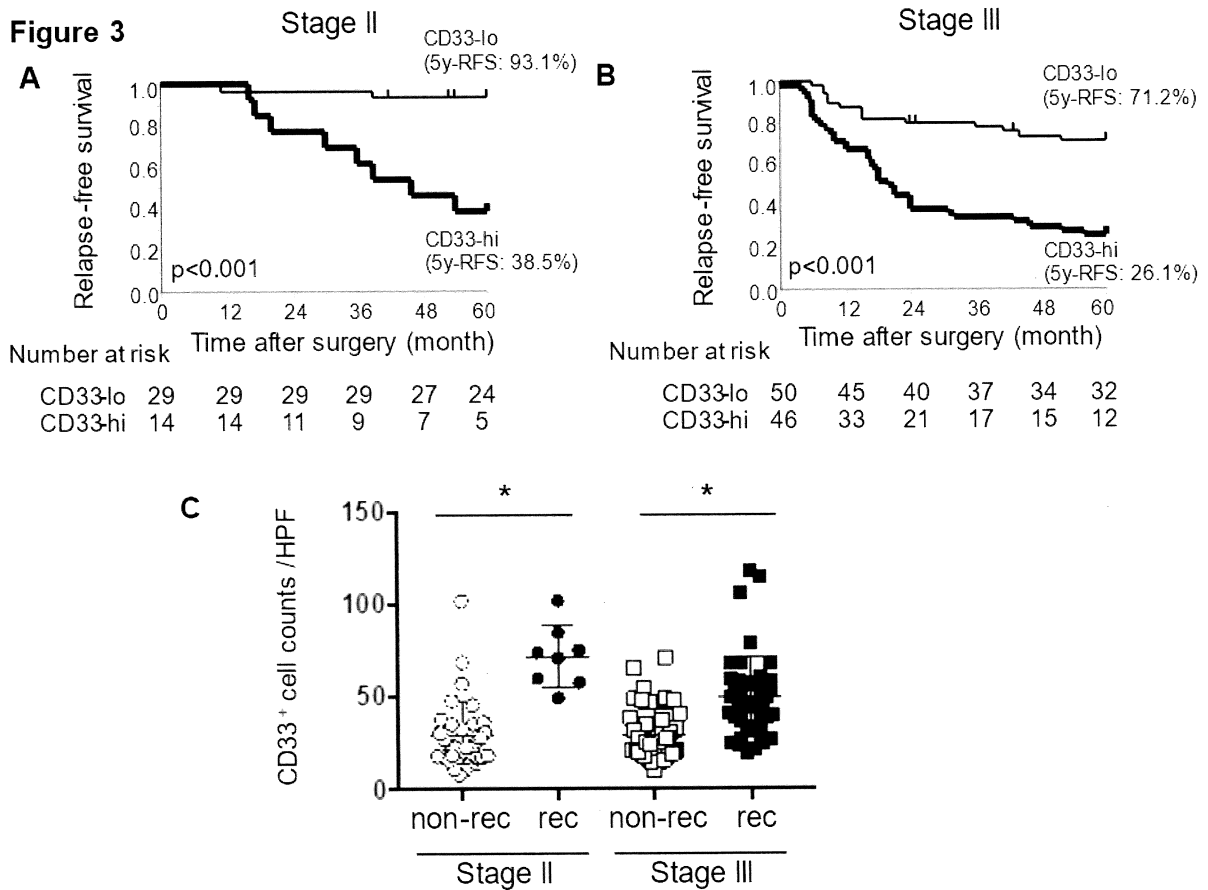


図3 A および B)

pStage II 胃癌 (A) および pStage III 胃癌 (B) における RFS の Kaplan-Meier 曲線. CD33 陽性細胞数 (hi/lo) で比較した ($p < 0.001$). C) 各 Stage における CD33 陽性細胞数と再発の有無. * $p < 0.01$.



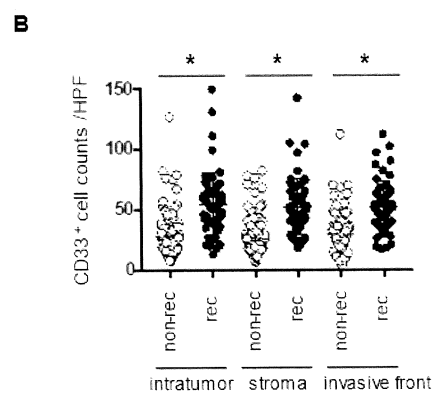
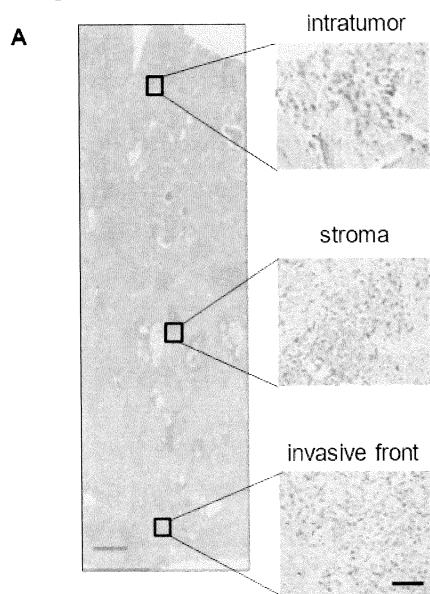
補足図 1

(A) 胃癌における CD33 免疫組織化学染色. (全体像)

青い横線, 1000 μm ; 黒い横線, 50 μm .

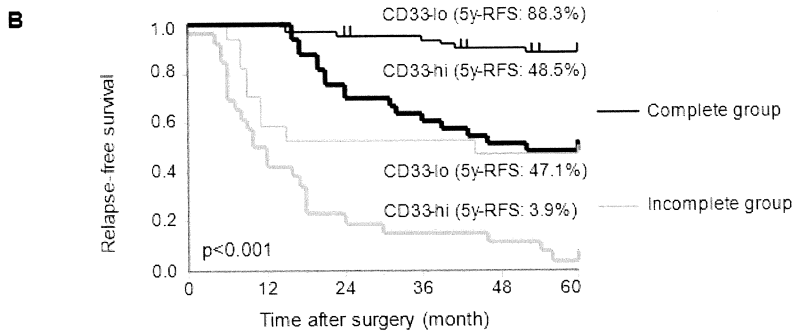
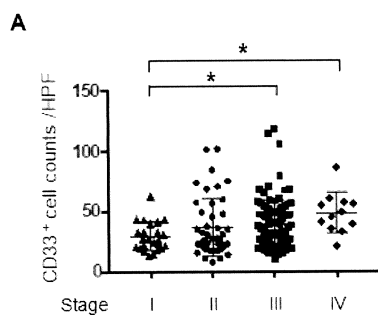
(B) 各部位 (癌部, 間質, 癌先進部) における CD33 陽性細胞数と再発の有無.

Supplemental figure 1



補足図2 (A) 各 Stage の CD33 陽性細胞数. (B) 術後 1 年の S-1 療法を完遂群 (complete), 非完遂群 (incomplete) に分けた. 完遂の有無, CD33 陽性細胞数 (hi/lo) における RFS の Kaplan-Meier 曲線.

Supplemental figure 2

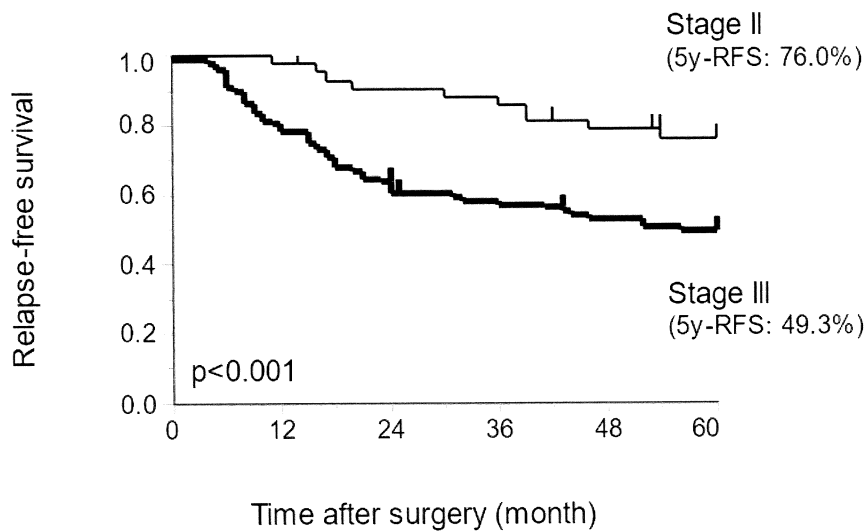


Number at risk		0	12	24	36	48	60		
CD33-lo	62	62	59	56	52	48		Complete group	
CD33-hi	34	34	25	21	18	16			

CD33-lo	17	12	10	10	9	8		Incomplete group	
CD33-hi	26	13	6	5	4	1			

補足図3 pStage II / III 胃癌における RFS の Kaplan-Meier 曲線. P 値は log-rank 検定で決定した.

Supplemental figure 3



Number at risk

Stage II	43	43	39	37	33	29
Stage III	96	77	61	53	48	44

表 1 pStage II / III 胃癌の臨床病理学的因子と予後

Table 1. Patient characteristics and prognostic analysis in stage II / III GC.

Variables	No. of patients (%)	5y-RFS (%)	Univariable		Multivariable	
			HR (95%CI)	p*	HR (95%CI)	p*
Age(years)						
< 65	58(41.7)	70.4				
≥ 65	81(58.3)	48.1	2.02(1.17-3.66)	0.011	1.70(0.39-8.29)	0.489
Gender						
Female	37(26.6)	70.3				
Male	102(73.4)	52.7	1.75(0.94-3.56)	0.077	ND	
Location						
E/U	44(31.7)	44.8				
M/L	95(68.3)	63.4	0.57(0.34-0.96)	0.037	0.50(0.29-0.89)	0.019
Histological type**						
Differentiated	49(35.3)	45.8				
Undifferentiated	90(64.7)	63.8	0.56(0.33-0.94)	0.030	0.62(0.35-1.10)	0.101
Lymphatic invasion						
ly- / +	7(5.0) / 132(95.0)	85.7 / 56.0	3.89(0.86-68.82)	0.087	ND	
ly0,1 / 2,3	43(30.9) / 96(69.1)	69.2 / 52.3	1.79(0.99-3.45)	0.054	ND	
Vascular invasion						
v- / +	13(9.4) / 126(90.6)	69.2 / 56.4	1.70(0.69-5.60)	0.271	ND	
v0,1 / 2,3	54(38.8) / 85(61.2)	62.7 / 54.2	1.28(0.76-2.25)	0.359	ND	
Depth of invasion						
T2	23(16.5)	69.3	reference			
T3	30(21.6)	66.5	1.11(0.43-3.06)	0.830		
T4a	84(60.4)	51.3	1.88(0.90-4.60)	0.098		
T4b	2(1.4)	50.0	2.59(0.14-14.68)	0.430	ND	
T2,3 / 4a,4b	53(38.1) / 86(61.9)	67.7 / 51.3	1.77(1.01-3.13)	0.040	ND	
Lymph node metastasis						
N0	21(15.1)	84.9	reference			
N1	34(24.5)	61.5	3.05(0.98-13.31)	0.054		
N2	31(22.3)	57.7	3.51(1.13-15.33)	0.029		
N3	53(38.1)	43.9	5.21(1.84-21.8)	0.001	ND	
N0,1 / 2,3	55(39.6) / 84(60.4)	70.3 / 49.2	2.06(1.16-3.68)	0.010	ND	
pStage (UICC 7th)						
II	43(30.9)	76.0				
III	96(69.1)	49.3	2.76(1.46-5.80)	0.001	3.03(1.58-6.41)	<0.001
CEA(ng/ml)						
≤ 5	125(89.9)	57.6				
> 5	14(10.1)	57.1	1.02(0.39-2.20)	0.961	ND	
CA19-9(U/ml)						
≤ 37	130(93.5)	54.6				
> 37	9(6.5)	87.5	1.79e-9	0.002	1.57e-9	0.003
CD33 cell counts						
< 37.8	79(56.8)	79.4				
≥ 37.8	60(43.2)	29.0	5.00(2.86-9.18)	<0.001	4.34(2.46-8.05)	<0.001

* Cox proportional hazard model.

** Differentiated, papillary and tubular adenocarcinoma; Undifferentiated, poorly differentiated adenocarcinoma, signet-ring cell carcinoma, and mucinous adenocarcinoma.

Abbreviations: ND, not determined; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; E, esophagus; U, upper third; M, middle third; L, lower third; 5y-RFS, recurrence-free survival.

表 2 pStage II 胃癌の臨床病理学的因子と予後

Table 2. Patient characteristics and prognostic analysis in stage II GC

Variables	No. of patients (%)	5y-RFS (%)	Univariable		Multivariable	
			HR (95%CI)	p*	HR (95%CI)	p*
Age(years)						
< 65	18(41.9)	94.4				
≥ 65	25(58.1)	62.1	7.87(1.48-145.16)	0.012	4.25(0.58-89.05)	0.218
Gender						
Female	9(20.9)	100				
Male	34(79.1)	69.4	7.66e+8(1.52-1.52)	0.018	8.05e+7	0.999
Location						
E/U	16(37.2)	55.6				
M/L	27(62.8)	88.3	0.21(0.05-0.75)	0.017	0.20(0.03-0.92)	0.055
Histological type**						
Differentiated	18(41.9)	64.4				
Undifferentiated	25(58.1)	84.0	0.42(0.11-1.46)	0.17	ND	
Lymphatic invasion						
ly- / +	7(16.3) / 36(83.7)	85.7 / 74.0	2.01(0.38-37.07)	0.47	ND	
ly0,1 / 2,3	26(60.5) / 17(39.5)	80.0 / 69.5	1.70(0.47-6.11)	0.41	ND	
Vascular invasion						
v- / +	5(11.6) / 38(88.4)	100 / 72.7	2.26e+8(0.74-0.74)	0.089	ND	
v0,1 / 2,3	21(48.8) / 22(51.2)	90.5 / 60.9	4.89(1.22-32.43)	0.023	2.04(0.45-14.82)	0.401
Depth of invasion						
T2	15(34.9)	72.7	reference			
T3	8(18.6)	50.0	2.34(0.55-9.93)	0.24		
T4a	20(46.5)	89.2	0.33(0.05-1.72)	0.19	ND	
T4b	0(0.0)	-	-	-		
T2,3 / 4a,4b	23(53.5) / 20(46.5)	64.9 / 89.2	0.24(0.04-0.97)	0.046	0.09(0.01-0.52)	0.005
Lymph node metastasis						
N0	20(46.5)	89.2	reference			
N1	19(44.2)	62.7	4.43(1.07-29.78)	0.04		
N2	4(9.3)	75.0	2.77(0.13-28.97)	0.44	ND	
N3	0(0)	-	-	-		
N0,1 / 2,3	39(90.7) / 4(9.3)	76.1 / 75.0	1.08(0.06-5.75)	0.943	ND	
CEA(ng/ml)						
≤ 5	37(86.0)	72.1				
> 5	6(14.0)	100	4.24e-9	0.063	ND	
CA19-9(U/ml)						
≤ 37	42(97.7)	75.4				
> 37	1(2.3)	100	1.46e-8	0.46	ND	
CD33 cell counts						
< 37.8	29(67.4)	93.1				
≥ 37.8	14(32.6)	38.5	11.83(2.94-78.74)	<0.001	14.44(2.78-127.96)	<0.001

* Cox proportional hazard model.

** Differentiated type consists of papillary adenocarcinoma and tubular adenocarcinoma;

Undifferentiated type consists of poorly differentiated adenocarcinoma, signet-ring cell carcinoma, and mucinous adenocarcinoma.

表 3 pStage III 胃癌の臨床病理学的因子と予後

Table 3. Patient characteristics and prognostic analysis in stage III GC

Variables	No. of patients (%)	5y-RFS (%)	Univariable		Multivariable	
			HR (95%CI)	p*	HR (95%CI)	p*
Age(years)						
< 65	40(41.7)	59.4				
≥ 65	56(58.3)	42.1	1.69(0.94-3.15)	0.080	ND	
Gender						
Female	28(29.2)	60.7				
Male	68(70.8)	44.5	1.58(0.83-3.27)	0.163	ND	
Location						
E/U	28(29.2)	38.7				
M/L	68(70.8)	53.7	0.62(0.35-1.15)	0.130	ND	
Histological type						
Differentiated	31(32.3)	35.2				
Undifferentiated	65(67.7)	56.1	0.51(0.29-0.92)	0.027	0.63(0.36-1.14)	0.126
Lymphatic invasion						
ly- / +	0(0.0) / 96(100.0)	-	-	-		
ly0,1 / 2,3	17(17.7) / 79(82.3)	52.9 / 48.5	1.08(0.53-2.49)	0.839	ND	
Vascular invasion						
v- / +	8(8.3) / 88(91.7)	50.0 / 49.4	1.22(0.49-4.04)	0.701	ND	
v0,1 / 2,3	33(34.4) / 63(65.6)	44.8 / 51.8	0.81(0.46-1.49)	0.501	ND	
Depth of invasion						
T2	8(8.3)	50.0	reference			
T3	22(22.9)	72.4	0.64(0.17-3.03)	0.539		
T4a	64(66.7)	39.7	1.89(0.68-7.81)	0.247		
T4b	2(2.1)	50.0	1.99(0.10-15.75)	0.579	ND	
T2,3 / 4a,4b	30(31.3) / 66(68.7)	69.8 / 40.0	2.57(1.30-5.67)	0.006	2.81(1.41-6.27)	0.003
Lymph node metastasis						
N0	1(1.0)	0.0	-	-		
N1	15(15.6)	60.0	reference			
N2	27(28.1)	55.1	1.05(0.41-3.02)	0.921		
N3	53(55.2)	43.9	1.41(0.63-3.76)	0.429	ND	
N0,1 / 2,3	16(16.7) / 80(83.3)	56.3 / 47.9	1.21(0.58-2.95)	0.635	ND	
CEA(ng/ml)						
≤ 5	88(91.7)	51.7				
> 5	8(8.3)	25.0	1.81(0.69-3.97)	0.208	ND	
CA19-9(U/ml)						
≤ 37	88(91.7)	44.8				
> 37	8(8.3)	100	6.23e-10	<0.001	1.66e-9	0.002
CD33 cell counts						
< 37.8	50(52.1)	71.2				
≥ 37.8	46(47.9)	26.1	3.78(2.06-7.29)	<0.001	3.71(2.02-7.20)	<0.001

* Cox proportional hazard model.

表4 pStage II / III 胃癌の臨床病理学的因子と CD33 陽性細胞数との関連

Table 4. Correlation analysis of clinicopathological characteristics and CD33 positive cell counts in stage II / III GC

Variables	No. of patients (%)	CD33-hi (%)	p*
Age (years)			
< 65	58(41.7)	22(37.9)	0.304
≥ 65	81(58.3)	38(46.9)	
Gender			
Female	37(26.6)	17(45.9)	0.703
Male	102(73.4)	43(42.2)	
Location			
E/U	44(31.7)	20(45.5)	0.717
M/L	95(68.3)	40(42.1)	
Histological type			
Differentiated	49(35.3)	22(44.9)	0.858
Undifferentiated	90(64.7)	38(42.2)	
Lymphatic invasion			
ly- / +	7(5.0) / 132(95.0)	2(28.6) / 58(43.9)	0.699
ly0,1 / 2,3	43(30.9) / 96(69.1)	17(39.5) / 43(44.8)	0.584
Vascular invasion			
v- / +	13(9.4) / 126(90.6)	4(30.8) / 56(44.4)	0.393
v0,1 / 2,3	54(38.8) / 85(61.2)	19(35.2) / 41(48.2)	0.161
Depth of invasion			
T2	23(16.5)	8(34.8)	0.757
T3	30(21.6)	12(40)	
T4a	84(60.4)	39(46.4)	
T4b	2(1.4)	1(50.0)	
T2,3 / 4a,4b	53(38.1) / 86(61.9)	20(37.7) / 40(46.5)	
Lymph node metastasis			
N0	21(15.1)	9(42.9)	0.218
N1	34(24.5)	10(29.4)	
N2	31(22.3)	17(54.8)	
N3	53(38.1)	24(45.3)	
N0,1 / 2,3	55(39.6) / 84(60.4)	19(34.5) / 41(48.8)	
CEA(ng/ml)			
≤ 5	125(89.9)	55(44.0)	0.777
> 5	14(10.1)	5(35.7)	
CA19-9(U/ml)			
≤ 37	130(93.5)	58(44.6)	0.299
> 37	9(6.5)	2(22.2)	
WBC(/μl)			
< 6000	75(54.0)	30(40.0)	0.493
≥ 6000	64(46.0)	30(46.9)	
Neut(/μl)			
< 4000	90(64.8)	40(44.4)	0.409
≥ 4000	49(35.2)	20(40.8)	
Mono(/μl)			
< 390	77(55.4)	31(40.3)	0.275
≥ 390	62(44.6)	29(46.8)	
Lymph(/μl)			
< 1600	79(56.8)	30(38.0)	0.170
≥ 1600	60(43.2)	30(50.0)	

* Fisher's exact test.

Abbreviations: WBC, white blood cell; Neut, neutrophil; Mono, monocyte; Lymph, lymphocyte.

表5 再発形式と CD33 陽性細胞数との関連

Table 5. Recurrence pattern and CD33 positive cell counts in stage II/III GC

First recurrence site	No. of patients (%)			Multivariable	
	CD33-hi	CD33-lo	p*	OR (95%CI)	p**
Local	6 (14.3)	1 (8.3)	1.000	1.00 (0.09-10.97)	0.999
Lymph node	10 (23.8)	7 (58.3)	0.035	0.17 (0.03-1.05)	0.046
Peritoneum	23 (54.8)	7 (58.3)	1.000	0.58 (0.09-3.61)	0.546
Hematogenous	19 (45.2)	1 (8.3)	0.022	9.31 (0.91-95.42)	0.020
total	42	12			

Fourteen patients had multiple recurrence sites.

* Fisher's exact test.

** Multiple logistic regression analysis

補足表 1 pStage II 胃癌の臨床病理学的因子と CD33 陽性細胞数との関連

Supplemental table 1. Clinicopathological characteristics and CD33 positive cell count in stage II GC

Variables	No. of patients (%)	CD33-hi (%)	p*
Age (years)			
< 65	18(41.9)	5(27.8)	0.744
≥ 65	25(58.1)	9(36.0)	
Gender			
Female	9(20.9)	2(22.2)	0.693
Male	34(79.1)	12(35.3)	
Location			
E/U	16(37.2)	7(31.3)	0.316
M/L	27(62.8)	7(25.9)	
Histological type			
Differentiated	18(41.9)	5(27.8)	0.744
Undifferentiated	25(58.1)	9(36.0)	
Lymphatic invasion			
ly- / +	7(16.3) / 36(83.7)	2(28.6) / 12(33.3)	1.000
ly0,1 / 2,3	26(60.5) / 17(39.5)	9(34.6) / 5(29.4)	1.000
Vascular invasion			
v- / +	5(11.6) / 38(88.4)	0(0.0) / 14(36.8)	0.156
v0,1 / 2,3	21(48.8) / 22(51.2)	5(23.8) / 9(40.9)	0.332
Depth of invasion			
T2	15(34.9)	4(26.7)	0.622
T3	8(18.6)	2(25.0)	
T4a	20(46.5)	8(40.0)	
T4b	0 (0)	0(0.0)	
T2,3 / 4a,4b	23(53.5) / 20(46.5)	6(26.1) / 8(40.0)	
Lymph node metastasis			
N0	20(46.5)	8(40.0)	0.946
N1	19(44.2)	5(26.3)	
N2	4(9.3)	1(25.0)	
N3	0 (0)	0(0.0)	
N0,1 / 2,3	39(90.7) / 4(9.3)	13(33.3) / 1(25.0)	
CEA(ng/ml)			
≤ 5	37(86.0)	14(37.8)	0.155
> 5	6(14.0)	0(0.0)	
CA19-9(U/ml)			
≤ 37	42(97.7)	14(33.3)	1.000
> 37	1 (2.3)	0(0.0)	
WBC(/μl)			
< 6000	23(53.5)	7(30.4)	1.000
≥ 6000	20(46.5)	7(35.0)	
Neut(/μl)			
< 4000	28(65.1)	11(39.3)	0.308
≥ 4000	15(34.9)	3(20.0)	
Mono(/μl)			
< 390	20(46.5)	4(20.0)	0.119
≥ 390	23(53.5)	10(43.5)	
Lymph(/μl)			
< 1600	21(48.8)	5(23.8)	0.332
≥ 1600	22(51.2)	9(40.9)	

* Fisher's exact test.

補足表 2 pStage III 胃癌の臨床病理学的因子と CD33 陽性細胞数との関連

Supplemental table 2. Clinicopathological characteristics and CD33 positive cell counts in stage III GC

Variables	No. of patients (%)	CD33-hi (%)	p*
Age (years)			
< 65	40(41.7)	17(42.5)	
≥ 65	56(58.3)	29(51.8)	0.412
Gender			
Female	28(29.2)	15(53.6)	
Male	68(70.8)	31(45.6)	0.508
Location			
E/U	28(29.2)	13(46.4)	
M/L	68(70.8)	33(48.5)	1.000
Histological type			
Differentiated	31(32.3)	17(54.8)	
Undifferentiated	65(67.7)	29(44.6)	0.388
Lymphatic invasion			
ly- / +	0(0.0) / 96(100.0)	0(0.0) / 46(47.9)	-
ly0,1 / 2,3	17(17.7) / 79(82.3)	8(47.1) / 38(48.1)	1.000
Vascular invasion			
v- / +	8(8.3) / 88(91.7)	4(50.0) / 42(47.7)	1.000
v0,1 / 2,3	33(34.4) / 63(65.6)	14(42.4) / 32(50.8)	0.521
Depth of invasion			
T2	8(8.3)	4(50.0)	
T3	22(22.9)	10(45.5)	
T4a	64(66.7)	31(48.4)	
T4b	2(2.1)	1(50.0)	0.994
T2,3 / 4a,4b	30(31.3) / 66(68.7)	14(46.7) / 32(48.5)	1.000
Lymph node metastasis			
N0	1(1.0)	1(100.0)	
N1	15(15.6)	5(33.3)	
N2	27(28.1)	16(59.3)	
N3	53(55.2)	24(45.3)	0.272
N0,1 / 2,3	16(16.7) / 80(83.3)	6(37.5) / 40(50.0)	0.420
CEA(ng/ml)			
≤ 5	88(91.7)	41(46.6)	
> 5	8(8.3)	5(62.5)	0.474
CA19-9(U/ml)			
≤ 37	88(91.7)	44(50.0)	
> 37	8(8.3)	2(25.0)	0.271
WBC(/μl)			
< 6000	52(54.2)	23(44.2)	
≥ 6000	44(45.8)	23(52.3)	0.539
Neut(/μl)			
< 4000	62(64.6)	29(46.8)	
≥ 4000	34(35.4)	17(50.0)	0.832
Mono(/μl)			
< 390	57(59.4)	27(47.3)	
≥ 390	39(40.6)	19(48.7)	1.000
Lymph(/μl)			
< 1600	58(60.4)	25(43.1)	
≥ 1600	38(39.6)	21(55.3)	0.298

* Fisher's exact test.