



Title	肝外胆管癌におけるtumor budding grade と臨床病理学的因子・予後・EMT関連タンパク発現に関する検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	荻野, 真理子
Description	配架番号 : 2511
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14048号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77936
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mariko_Ogino_abstract.pdf, 論文内容の要旨



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 荻野 真理子

学 位 論 文 題 名

肝外胆管癌における tumor budding grade と臨床病理学的因子・予後・EMT 関連タンパク発現に関する検討

(Impact of Tumor Budding Grade in Patients Who Underwent Surgical Resection for Extrahepatic Cholangiocarcinoma)

【背景と目的】

肝外胆管癌は、術後の 5 年生存率がわずか 20~40%の極めて悪性度の高い腫瘍であり、特にリンパ節転移陽性例の予後は極めて不良である。予後の改善のためには有効な補助治療の開発が急務であり、リンパ節転移を生じる癌細胞、および転移を誘導する微小環境の分子生物学的特徴を捉え、治療標的を探索することが必要である。

EMT は、上皮系の細胞がその細胞極性を失い、遊走能、運動能を獲得し、間葉系形質を持つ細胞に変化する現象で、癌においては、EMT の異常な活性化が浸潤・転移に関与していると考えられている。Tumor budding は、腫瘍先進部において個細胞性または小胞巣状の腫瘍が間質内に散らばるように浸潤する現象である。EMT の過程・形態変化と tumor budding の特徴の類似性から、tumor budding は EMT の形態学的表現型と考えられてきた。

本研究の目的は、第 1 に、肝外胆管癌において tumor budding の程度が臨床病理学的因子と関連するか、また予後予測因子となり得るかを検証し、第 2 に、tumor budding と EMT の関連を形態学的、免疫組織化学的に検討し、転移巣形成に関与する分子生物学的因子を調査して、将来新たな治療標的を探索することである。

【対象と方法】

症例は、1998 年 1 月から 2016 年 12 月の期間に、北海道大学病院消化器外科Ⅱで切除術が施行された肝外胆管癌 310 例（肝門部領域胆管癌 195 例、遠位胆管癌 115 例）を対象とした。臨床病理学的検討項目として、年齢、性別、腫瘍の局在、腫瘍の分化度、深達度、リンパ管侵襲、静脈侵襲、神経周囲浸潤、所属リンパ節転移、遠隔転移、切除断端、tumor budding の程度を検討した。

Tumor buds の計測は、標本上で、tumor buds が最も多く観察される領域、“hotspots”において 200 倍視野(0.785 mm²) で測定した。

次に、tumor buds と EMT の関係を検討するために免疫組織化学的検討を行った。上皮系マーカーとして E-cadherin、間葉系マーカーとして vimentin を用い、腺管構造を呈する腫瘍細胞と tumor buds の腫瘍細胞の染色強度を比較して H score を算出した。E-cadherin は、腺管構造部と同程度の染色強度を+2、弱陽性を+1、陰性を 0 とし、vimentin は間質細胞と同程度の染色強度を+2、弱陽性を+1、腺管構造部と同様に陰性を 0 と設定した。そして H

score=(陽性細胞の割合×染色強度)の総和を算出した。E-cadherin、vimentin それぞれの低スコア/高スコアのカットオフ値は、各々のスコアの中央値に基づき、各々70≤、10≤を高発現と設定した。E-cadherin と vimentin の H score の組み合わせにより、EMT status を以下のように分類した。E-cadherin 高スコア/vimentin 低スコアを“the epithelial status”、E-cadherin 低スコア/vimentin 低スコアと E-cadherin 高スコア/vimentin 高スコアを“the intermediate status”、そして E-cadherin 低スコア/vimentin 高スコアを“the mesenchymal status”とした。

【結果】

肝門部領域胆管癌 195 例、遠位胆管癌 115 例各々の術後生存率を層別化する tumour buds 数のカットオフ値は再帰分割分析法によって得た。肝門部領域胆管癌では、カットオフポイントは 5 と 12 の 2 つであり、tumour buds 数は次の 3 群に分けられた: low-grade, 0–4 tumour buds; intermediate-grade, 5–11 tumour buds; high-grade, ≥12 tumour buds。遠位胆管癌では、カットオフポイントは 5 の 1 つであり、tumour buds 数は次の 2 群に分けられた: low-grade, 0–4 tumour buds; high-grade, ≥5 tumour buds。

肝門部領域胆管癌、遠位胆管癌の両方において tumour budding の grade は組織学的分化度、pT 因子、リンパ管侵襲、脈管侵襲、神経周囲侵襲、所属リンパ節転移と有意に関係していた。また、肝門部領域胆管癌においては切除断端における浸潤癌の存在もまた tumour budding の grade と有意に関係していた。また肝門部領域胆管癌、遠位胆管癌ともに tumour budding の grade は、単変量解析において生存期間の短縮と関連しており、多変量解析において独立予後不良因子として選択された。

免疫組織化学的検討では、“the mesenchymal status”で有意に tumour buds 数が多かった。

【考察】

肝外胆管癌において、tumor budding の grade がリンパ・脈管侵襲およびリンパ節転移に強く関連していることが示され、tumor budding が肝外胆管癌における転移形成に寄与していることが示唆された。さらに、tumour budding の grade によって術後生存率が層別化され、そして tumour buds の多寡は肝外胆管癌の独立した予後予測因子の一つとなりうる。加えて、腫瘍先進部の tumour buds の多寡が腫瘍の EMT status と関連するという結果は、腫瘍の浸潤の過程に EMT が関与し、その過程で腫瘍が tumor buds の形態へ変化を遂げ、脈管侵襲、リンパ節転移を起こし、予後に影響する仮説を支持するものである。

【結論】

Tumour buds 数は肝外胆管癌患者のマネジメント決定を改善する新規の形態学的予後予測因子となりうる。さらに、tumour budding の多寡の程度が腫瘍先進部における EMT の程度を反映しており、腫瘍の浸潤と転移に関連していることが考えられる。

Tumour budding は将来肝外胆管癌の悪性度指標項目に含まれ、症例層別化の発展にも寄与する可能性を秘めており、さらなる多施設共同・前向き研究を行って、評価手法を検証・改良していくことが必要である。また EMT との関連が見い出せたことは、EMT プロセスの制御で腫瘍の進展を抑制する新たな薬物治療の開発を目指すために非常に重要であると考えられる。