



Title	浸潤先進部の病理学的プロファイルを用いた大腸癌新規予後層別化因子の開発に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	松井, 博紀
Description	配架番号 : 2660
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14744号
Issue Date	2021-12-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/83878">https://hdl.handle.net/2115/83878</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroki_Matsui_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 松井 博紀

### 学 位 論 文 題 名

浸潤先進部の病理学的プロファイルを用いた  
大腸癌新規予後層別化因子の開発に関する研究

(Studies on the development of the novel prognostic stratification factor in  
colorectal cancer based on the pathological profile of the invasive front)

【背景と目的】大腸癌は他の多くの癌種と同様に TNM 分類による病期診断を元に治療方針を決定している。しかし、同じ病期に分類された症例の間にも明らかな予後の相違があり、Stage II の症例に対して術後補助化学療法を施行するべきか、Stage III の症例に対する術後補助化学療法にオキサリプラチンを併用するべきか、などの臨床的疑問が生じる。すなわち、現行の TNM 分類に加え、新規予後層別化因子が必要である。腫瘍浸潤先進部の組織学的特徴は様々な癌種で予後的意義を有すると報告されている。大腸癌では、腫瘍浸潤先進部の病理組織所見に基づく予後層別化因子として、①線維性癌間質反応 (desmoplastic reaction, 以下 DR)、②Klintrup grade、③低分化胞巣 (poorly differentiated cluster, 以下 PDC) が近年注目されている。DR は腫瘍の進行に伴って出現する線維組織の増生で、主に癌関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblast, 以下 CAF) によって形成される。腫瘍中央部の DR は形態的に単調で均質であるが、腫瘍浸潤先進部の DR は多様性に富んでおり、悪性度の高い腫瘍では特異的な膠原線維が出現する。DR 分類は、腫瘍浸潤先進部に出現する膠原線維の種類に基づいており、悪性度の高い腫瘍では myxoid な間質やケロイド様コラーゲンが認められると報告されている。Klintrup grade は、腫瘍浸潤先進部での炎症細胞浸潤と腫瘍細胞破壊に基づく分類である。腫瘍浸潤先進部に炎症細胞浸潤や腫瘍細胞破壊が認められない症例は low grade、認められる症例は high grade に分類され、前者の予後が不良であると報告されている。PDC は、間質に浸潤した 5 個以上の癌細胞で構成され、腺様構造を持たない癌胞巣と定義される。PDC grade 分類は腫瘍浸潤先進部に出現する PDC の数に基づいており、その数が多いほど予後不良であると報告されている。DR 分類、Klintrup grade、PDC grade 分類はヘマトキシリン・エオジン (Hematoxylin Eosin, 以下 HE) 染色標本を用いて評価することができ、評価法が比較的簡単であるため、日常診療に取り入れやすい所見である。また、これらの所見は、HE 染色標本で腫瘍の浸潤前面を観察することで同時評価が可能である。本研究は、DR 分類、Klintrup grade、PDC grade 分類を組み合わせることで新規予後層別化因子である Invasion front grade を作成し、Stage II-III 大腸癌における予後層別化因子としての有用性を検証することを目的とした。

【対象と方法】2008 年 4 月から 2017 年 3 月に当院で根治切除が施行された Stage II-III 大腸癌 162 例の HE 染色標本を再観察し、DR 分類、Klintrup grade および PDC grade 分類を評価した。DR 分類は、腫瘍浸潤先進部に myxoid な間質を有する場合を immature、ケロ

イド様コラーゲンを有する場合を intermediate、いずれも有さない場合を mature と分類した。Klintrup grade は、腫瘍浸潤先進部の炎症細胞浸潤および腫瘍細胞破壊の程度から、スコア 0 (炎症細胞浸潤：なし、腫瘍細胞破壊：なし)、1 (炎症細胞浸潤：軽度、腫瘍細胞破壊：なし)、2 (炎症細胞浸潤：中等度、腫瘍細胞破壊：軽度)、3 (炎症細胞浸潤：高度、腫瘍細胞破壊：中等度以上) の 4 段階に半定量的に分類し、スコア 0-1 を high grade、スコア 2-3 を low grade と判定した。PDC grade 分類は、対物 20 倍視野で浸潤先進部を観察して PDC の数をカウントし、5 個未満を Grade 1、5-9 個を Grade 2、10 個以上を Grade 3 と分類した。Invasion front grade は DR 分類、Klintrup grade、PDC grade 分類を組み合わせ作成した。DR 分類は mature、intermediate をスコア 0、immature をスコア 1、Klintrup grade は high grade をスコア 0、low grade をスコア 1、PDC grade 分類は Grade 1-2 をスコア 0、Grade 3 をスコア 1 と定義し、3 つのスコアの合計が 0-1 を Grade A、2-3 を Grade B と分類した。Invasion front grade と臨床病理学的因子との関連を統計解析し、予後予測因子としての有用性を検討した。さらに、Invasion front grade が Grade A の症例 6 例と Grade B の症例 6 例の腫瘍浸潤先進部から total ribonucleic acid を抽出し、nCounter® Analysis System を用いて遺伝子発現解析を行い、Grade A と Grade B で発現に差がある遺伝子を統計学的に検討した。

【結果】 Invasion front grade は Grade A が 116 例 (71.6%)、Grade B が 46 例 (28.4%) であった。Invasion front grade の  $\kappa$  係数は検査者間が 0.81、検査者内が 0.74 で、検査者間の一致度は「非常に高い」と判定され、検査者内の一致度は「かなり高い」と判定された。Invasion front grade の Grade A、Grade B の 3 年無再発生存率はそれぞれ 90.4%、55.9% であった ( $p < 0.001$ )。Cox 比例ハザードモデルを用いた単変量解析で、Invasion front grade は、DR 分類や Klintrup grade、PDC grade 分類単独よりも再発について予後層別化能が高い因子であった (HR [95% C. I.]; 6.40 [3.01-13.61],  $p < 0.001$ , concordance index 0.712)。さらに多変量解析で、Invasion front grade は再発の独立した予後因子であった (HR [95% C. I.]; 5.30 [2.30-12.19],  $p < 0.001$ )。遺伝子発現解析では、MGP、PRELP、NR4A3、MEOX2、SFRP2、PTGIS、SPARCL1、ID4、CLU、ZFPM2、JAM3、MPDZ、LHFPL6、AEBP1、ELK3、APC の 16 遺伝子が予後不良群である Grade B で有意に発現が上昇し、MMP12、COL7A1、WARS1、PGK1 の 4 遺伝子が予後良好群である Grade A で有意に発現が上昇していた。

【考察】 Invasion front grade を構成する DR 分類、Klintrup grade、PDC grade 分類はいずれもルーチンに作成される HE 染色標本で評価可能な所見である。また、Invasion front grade は、 $\kappa$  係数の値から再現性の高い所見であり、Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析から強力な予後層別化因子であることが示されており、臨床的有用性の高い病理所見であると考えられる。DR は CAF、Klintrup grade は腫瘍免疫、PDC は EMT に関連した病理所見である。Invasion front grade は腫瘍進展の鍵となるそれらの因子を包含した病理所見であるため予後を強力に層別化できたと考えられた。また、遺伝子発現解析から Invasion front grade の予後層別化に寄与する遺伝子発現 signature が同定された。今回同定された 20 遺伝子について、多くの症例で発現量を検討することによって大腸癌術後再発予測における多遺伝子発現アッセイの開発につながる可能性を秘めている。

【結論】 DR 分類、Klintrup grade および PDC grade 分類を組み合わせ作成した新規予後層別化因子である Invasion front grade は Stage II-III 大腸癌の予後を強力に層別化できる。