

【7】

氏 名	おお の かず や 大 野 和 也
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第624号
学位授与の日付	平成26年3月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (臨床病態・分子病理学)
学位論文題目	Diagnosis of desmoplastic reaction by immunohistochemical analysis, in biopsy specimens of early colorectal carcinomas, is efficacious in estimating the depth of invasion (早期大腸癌の生検組織において免疫染色を用いた間質反応の診断は壁深達度の推定に有用である)
論文審査委員	(主査) 教授 正 和 信 英 (副査) 教授 加 藤 広 行 教授 窪 田 敬 一

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

早期大腸癌を粘膜 (mucosa : M) 癌、粘膜下層 (submucosa : SM) 浸潤距離 1000 μ m未満をSM1癌、同1000 μ m以上を SM2癌とし、SM浸潤度とリンパ節転移に関連性があることが報告されている。この結果に基づき、我が国ではリンパ節転移のほとんど無いM/SM1癌 (Group A) は内視鏡的摘除、10~15%のリンパ節転移がみられるSM2癌 (Group B) は外科手術適応とされた。また内視鏡所見に基づく肉眼形態が非有茎性である早期大腸癌の生検組織をヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin-eosin : HE) 染色で評価し、間質反応 (desmoplastic reaction : DR) の診断とSM浸潤度に関連性があることが知られている。しかしながら、この研究では少数のDR診断困難例が存在した。

【目 的】

非有茎性早期大腸癌の生検組織において、免疫染色を用いたDRの診断がHE染色による診断と比べ、Group AとGroup Bの識別能を向上させるかを検討した。

【対象と方法】

1989年から2004年に獨協医科大学病院及び関連施設で生検診断し、内視鏡的摘除または外科手術が施行された早期大腸癌49症例51病変を評価した。先に示した研究結果に倣い本研究でも内視鏡所見における非有茎性病変を対象とした。切除組織の病理診断に基づいて病変をGroup AとGroup Bの2群に分けた。生検組織にHE染色と α -smooth muscle actin (α SMA) およびdesminによる免疫染色を

施行した。DR陽性は免疫染色で癌周囲間質の α SMA陽性かつdesmin陰性と定義し、Group A およびGroup B内の陽性率を調べた。

研究は盲検法で実施され、精度を高めるため連結可能匿名化法が用いられた。この研究で用いられた検体は診断や治療のために得られた生検組織および外科手術材料である。当研究は大腸癌研究会 (JSCCR) プロジェクト研究として同倫理委員会で承認され、検体使用に関しては全ての患者から同意が得られた。

なお、名義変数の分析はChi-square testもしくはFisher's exact testを、連続変数の比較はnonparametric two-sample Mann-Whitney U-testを行った。全ての検定は両側検定で行われ、 $P < 0.05$ を有意とした。

【結 果】

51病変中、非有茎性病変は38病変 (74.5%)、有茎性病変は13病変 (25.5%) であった。本研究の対象である前者の内訳はDR陽性群21病変 (55.3%)、陰性群17病変 (44.7%) で、両群間の年齢、性差、腫瘍径、存在部位、組織型に統計学的有意差は認められなかった。先の 38 病変の生検組織を免疫染色で評価した結果、DR陽性群は全21病変 (100%) がGroup Bであった。DR陰性群は14病変 (82.4%) がGroup Aであった。生検組織におけるDRの診断がGroup AとGroup Bを識別する感度、特異度、陽性適中率、陰性的中率および正確度はそれぞれ87.5 %、100%、100%、82.4%、92.1%であった。

【考 察】

DRは癌の浸潤に従い生じる癌細胞周囲の繊維化反応であり、癌細胞が固有筋層を超えて浸潤する際に認められる頻度が高いとされてきた。既に申請者らはJSCCRの多施設共同研究でSM2癌であるGroup Bの生検組織でもDRの発現頻度が高いことを実証し、非有茎性早期大腸癌は治療前の生検診断によりSM浸潤度を予測し得ることを示した。生検組織のDRの診断がGroup AとGroup Bを識別する感度、特異度、陽性的中率、陰性適中率は、後ろ向き研究で64.8%、65.2%、91.9%、23.3%、前向き研究で68.6%、92.0%、94.6%、59.0%であったのに対し、本研究ではそれぞれ87.5%、100%、100%、82.4%と著しい向上が認められた。特にDR陽性群が全例Group Bであったことは治療選択の観点から特筆すべき結果であった。一方、Group Bでありながら生検組織でDR陰性と診断された3例は、切除組織で病変を評価すると全てDRが認められた。この不一致が生じた原因は、生検組織が腫瘍辺縁部の不適切部位から採取されたサンプリングエラーと判明した。即ち適切な部位から生検採取がなされていれば、Group B全例が治療前にSM2癌と診断し得た可能性があった。

【結 論】

早期大腸癌の生検組織において免疫染色を用いてDRを診断することはGroup AとGroup Bの識別に有用であった。

論文審査の結果の要旨

【論文概要】

早期大腸癌の一般的な治療方針は、粘膜固有層（M）癌及び粘膜下層（SM）浸潤距離 $<1000\mu\text{m}$ のSM1癌はリンパ節転移がほとんどないため内視鏡下切除、SM浸潤距離 $\geq 1000\mu\text{m}$ のSM2癌は10～15%にリンパ節転移があるため外科手術が選択されることから、生検でSM浸潤度が評価できれば治療選択に有用である。申請者の研究グループの先行研究では、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色が用いられたが、間質反応（DR）陽性と判定する際に必要な筋線維芽細胞の同定困難であった例が約30%存在した。そのような点を踏まえ、申請論文では α -smooth muscle actinとdesminによる免疫染色で、前者が陽性、かつ、後者が陰性を示す筋線維芽細胞を確実に同定することでDR診断を行った場合の非有茎性早期大腸癌のSM浸潤度の識別能を検討している。対象は、獨協医科大学病院及び関連施設にて生検診断後に内視鏡的摘除または外科的切除が施行された早期大腸癌51病変のうち非有茎性病変38病変である。M・SM1癌14例全例DR陰性、SM2癌24例中21例（87.5%）はDR陽性、3例（12.5%）はDR陰性であったが、DR陰性のSM2癌の切除標本では全例DR陽性で、その乖離の原因は病変辺縁部からの生検採取と判明した。免疫染色を用いたDR診断が、M・SM1癌とSM2癌を識別する感度、特異度、陽性・陰性的中率はいずれも約90%以上で、HE染色を用いたDR診断よりも良好であることから、免疫染色により生検組織のDR診断の標準化が可能であると考察されている。

【研究方法の妥当性】

対象症例は全て患者へのインフォームドコンセントが得られ、連結可能匿名化法で検討され、大腸癌研究会のプロジェクト研究として同倫理委員会で承認済みである。適切な対象群の設定と客観的な統計解析を行っており、本研究方法は妥当である。

【研究結果の新奇性・独創性】

申請者の研究グループの先行研究では、HE染色でのDR診断不一致例もあったが、申請論文では免疫染色による高い精度のDR判定を証明しており、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、免疫染色を用いたDR診断による非有茎性早期大腸癌のM・SM1癌とSM2癌の良好な識別能を証明した結論は論理的な矛盾はなく、早期大腸癌の治療選択における内視鏡診断学、病理学など関連領域における知見を踏まえても妥当である。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、内視鏡診断において非有茎性早期大腸癌のSM浸潤度の判定困難例においても、免疫染色を用いた生検組織のDR診断により、SM浸潤度の判定が可能であることを示した。直接浸潤がSM2の大腸癌において、非連続的脈管侵襲によりSM以深に腫瘍がスキップして進展する例が約1%あることから、SMまでの切除しかできない内視鏡切除材料の評価では、腫瘍の遺残を見逃す可能性もある。このような症例に対し、生検組織のDR診断によりSM2癌を正診することで外科切除を第一選択できれば、医療効率の観点からも意義深いことと考える。

【申請者の研究能力】

申請者は、早期大腸癌の診断理論と治療経験を積んだ上で研究計画を立案した後、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に掲載されており、申請者の研究能力を評価できる。

【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く、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）

International Journal of Molecular Sciences

14 : 13129-13136, 2013