
原 著

進行大腸癌の発育先進部における間質線維化反応の臨床的意義

橋 本 喜 文

新潟大学大学院医歯学総合研究科
 消化器・一般外科学分野（第一外科）
 （指導：若井俊文教授）

Clinical Significance of Desmoplastic Reaction at Advancing Margin in Patients with Advanced Colorectal Cancer

Yoshifumi HASHIMOTO

*Division of Digestive and General Surgery,
 Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
 (Director: Prof. Toshifumi WAKAI)*

要 旨

【緒言】間質線維化反応（Desmoplastic Reaction：以下DR）とは，間質で線維芽細胞などが増生する状態を指し，癌が浸潤する際に発育先進部において認められる．早期大腸癌において，DRは粘膜下層浸潤の有無を判定する際の指標として用いられてきた．一方，進行大腸癌においては，発育先進部におけるDRが予後予測因子となるとの報告が散見される．本研究の目的は，進行大腸癌の発育先進部におけるDRの臨床的意義を明らかにすることである．

【方法】2006年1月から2011年12月までの間に当科でR0切除されたpT3以深StageⅡ/Ⅲ大腸癌のうち，家族性大腸腺腫症および炎症性腸疾患合併症例を除外した173例を対象とした．DRの診断は，病理組織診断時に切除検体から作製された全てのHE標本を観察して行われた．DRは原発巣の壁深達度が漿膜下層以深に及ぶ領域を観察して診断し，細い膠原線維が多層性に形成される成熟型（Mature：以下DR1），癌発育先進部の間質中に好塩基性の太い膠原線維の束からなるケロイド様線維が認められる中間型（Intermediate：以下DR2），やや好酸性の粘液様間質で囲まれたケロイド様線維が不規則に認められる未熟型（Immature：以下DR3）に分類した．そして，DRと臨床病理学的因子との関連について解析し，DRと無再発生存率との関連を検討した．さらに，診断者間の一致度を評価するため，二人の診断医が独立してDRを評価した．診断の一致度は， κ 統計量を用いて評価した．

Reprint requests to: Yoshifumi HASHIMOTO
 Division of Digestive and General Surgery,
 Niigata University Graduate School of
 Medical and Dental Sciences,
 1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
 Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
 新潟大学大学院医歯学総合研究科
 消化器・一般外科学分野（第一外科） 橋 本 喜 文

【結果】対象173例中DR1が87例(50.3%)、DR2が65例(37.6%)、DR3が21例(12.1%)であった。DR3は、静脈侵襲あり($P = 0.026$)、リンパ節転移あり($P = 0.003$)、簇出G3($P = 0.012$)、および低分化胞巣G3($P < 0.001$)との間に統計学的に有意な関連を認めた。無再発生存率に関する単変量解析では、簇出G3($P = 0.034$)、DR3($P = 0.003$)で有意に予後が不良であった。多変量解析では、DR3がハザード比1.539(95%信頼区間: 1.146 – 2.066)であり、独立した予後不良因子であった($P = 0.004$)。DR診断の κ 統計量は0.448であり、診断の再現性に関しては中等度の一致であった。

【結論】進行大腸癌において、DR3はR0切除後の独立した予後不良因子であり、再発高リスク群を抽出する指標になる可能性がある。

キーワード：大腸癌，間質線維化反応，Desmoplastic Reaction，簇出，低分化胞巣

緒 言

大腸癌の発育先進部における病理所見は、大腸癌R0切除後のリンパ節転移や無再発生存率に関連した重要な因子である。つまり、大腸癌の発育先進部において観察される簇出¹⁾²⁾や低分化胞巣³⁾⁴⁾は、上皮間葉転換の表現型とされ⁵⁾⁶⁾、癌の進展と活動性を示す指標と考えられる。一方、Tumor-infiltrating lymphocytes⁷⁾やCrohn-like lymphoid reaction⁸⁾は、生体の免疫反応であり、癌の進展に対する防御の程度を示す指標であると考えられる。このように、大腸癌の発育先進部で

は、癌の進展と活動性、および免疫反応による防御の両者を同時に観察することができる。

大腸癌の発育先進部における間質線維化反応(Desmoplastic Reaction: 以下DR)は、間質で線維芽細胞などが増生した状態を指し⁹⁾、早期大腸癌における粘膜下層浸潤の有無を判定する際に有用である¹⁰⁾⁻¹²⁾。しかし、DRが癌の進展と活動性を示す指標であるか、それとも免疫反応による防御の程度を示す指標であるかについてはこれまで明らかになっていない。さらに、進行大腸癌におけるDRの臨床的意義に関しては、これまでに予後不良因子であるとの報告が散見されるもの

表1 対象173例の臨床病理学的特徴

年齢(歳)	中央値(範囲)	70(26-90)
性別	男:女	106:67
腫瘍の局在	結腸:直腸	103:70
腫瘍径(mm)	中央値(範囲)	47(14-120)
深達度	pT3:pT4	146:27
組織型	tub1/tub2:por/muc	159:14
リンパ管侵襲	なし:あり	115:58
静脈侵襲	なし:あり	114:59
リンパ節転移	なし:あり	110:63
pStage	II:III a:III b	110:43:20
簇出	G1:G2:G3	92:40:41
低分化胞巣	G1:G2:G3	88:34:51
DR	DR1:DR2:DR3	87:65:21

tub1, well differentiated tubular adenocarcinoma; tub2, moderately differentiated tubular adenocarcinoma; por, poorly differentiated adenocarcinoma; muc, mucinous adenocarcinoma; DR, Desmoplastic Reaction.

の⁶⁾¹³⁾、一定の見解が得られていない。

本研究の目的は、進行大腸癌の発育先進部におけるDRの臨床的意義を明らかにすることである。

対象と方法

1. 対 象

2006年1月から2011年12月までの間に当科でR0手術が施行されたpT3以深Stage II/Ⅲ大腸癌のうち、家族性大腸腺腫症および炎症性腸疾患

合併症例を除外した173例を対象とした(表1)。術後観察期間の中央値は62か月(範囲：3-106か月)であった。

2. DR, 簇出, 低分化胞巢の定義

本研究では、大腸癌発育先進部の病理所見として、DR、簇出、および低分化胞巢を評価した。原発巣を含む切除腸管を10%ホルマリンで固定し、5mmスライスで長軸方向に全割した。DRの診断は、病理組織診断時に切除検体から作製され

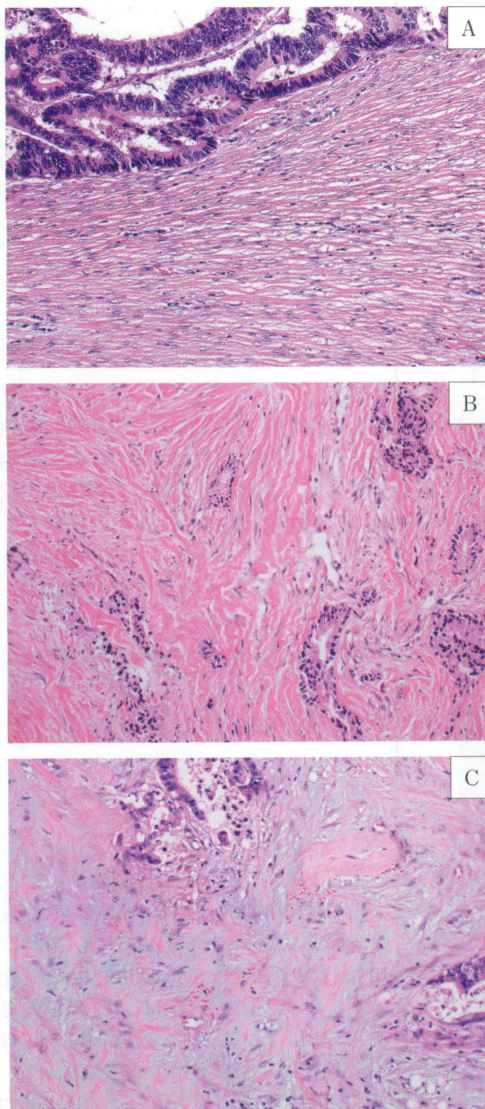


図1 間質線維化反応
(Desmoplastic Reaction : DR)

DRは、癌の深達度が漿膜下層以深に及ぶ領域を観察し、ケロイド様線維や粘液様間質が認められず、細い膠原線維が多層性に形成される成熟型(Mature : DR1)、癌発育先進部の間質中に好塩基性の太い膠原線維の束からなるケロイド様線維が認められる中間型(Intermediate : DR2)、やや好酸性の粘液様間質で囲まれたケロイド様線維が不規則に認められる未熟型(Immature : DR3)に分類した。

A : DR1 (HE染色, ×40). B : DR2 (HE染色, ×40). C : DR3 (HE染色, ×40).

たすべてのHE標本を観察して行われた。癌の深達度が漿膜下層以深に及ぶ領域を観察し、Uenoらの基準⁶⁾¹³⁾に従ってDRを分類した。すなわち、ケロイド様線維や粘液様間質が認められず、細い膠原線維が多層性に形成される成熟型(Mature:以下DR1)、癌発育先進部の間質中に好塩基性の太い膠原線維の束からなるケロイド様線維が認められる中間型(Intermediate:以下DR2)、やや好酸性の粘液様間質で囲まれたケロイド様線維が不規則に認められる未熟型(Immature:以下DR3)と定義した(図1)。なお、DR診断は他のすべての臨床病理学的情報を秘匿して行われた。

簇出は、癌発育先進部間質に浸潤性に存在する単個または5個未満の構成細胞からなる癌胞巣と定義した(図2)¹⁴⁾。簇出が最も高度な領域を選択して20×10倍視野で観察し、簇出の個数をカウントした。そして、簇出の個数が4個以下であ

る場合をGrade 1 (G1)、5個以上9個以下である場合をGrade 2 (G2)、10個以上である場合をGrade 3 (G3)と分類した¹⁴⁾。

低分化胞巣は、5個以上の癌細胞からなる比較的大型の腺腔形成の乏しい癌胞巣と定義した(図3)³⁾⁴⁾。低分化胞巣が最も高度な領域を選択して20×10倍視野で観察し、低分化胞巣の個数をカウントした。そして、低分化胞巣の個数が4個以下である場合をGrade 1 (G1)、5個以上9個以下である場合をGrade 2 (G2)、10個以上である場合をGrade 3 (G3)と分類した³⁾⁴⁾。

3. DR診断の再現性

大腸癌発育先進部に認められるDR、簇出、および低分化胞巣について、診断者間の一致度を測定するため、二人の診断医が独立してDR、簇出、および低分化胞巣を評価した。診断の一致度は、

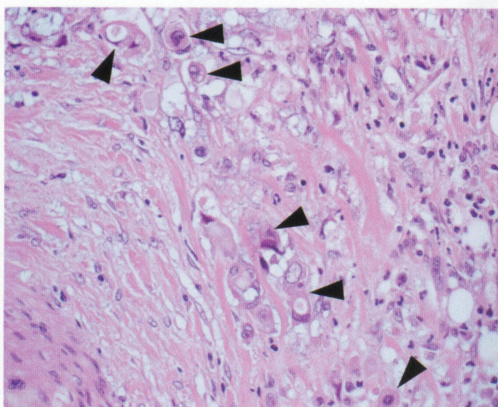


図2 簇出

簇出は、癌発育先進部間質に浸潤性に存在する単個または5個未満の構成細胞からなる癌胞巣と定義した。簇出が最も高度な領域を選択して20×10倍視野で観察し、簇出の個数をカウントした。そして、Grade 1 (簇出の個数が4個以下)、Grade 2 (5個以上9個以下)、Grade 3 (10個以上)に分類した。

矢頭は簇出 (HE染色, ×40)を示す。

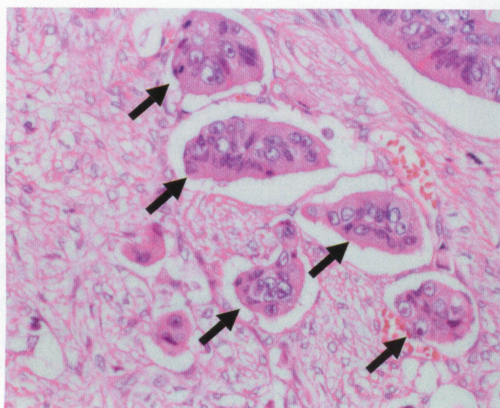


図3 低分化胞巣

低分化胞巣は、5個以上の癌細胞からなる比較的大型の腺腔形成の乏しい癌胞巣と定義した。低分化胞巣が最も高度な領域を選択して20×10倍視野で観察し、低分化胞巣の個数をカウントした。そして、Grade 1 (低分化胞巣の個数が4個以下)、Grade 2 (5個以上9個以下)、Grade 3 (10個以上)に分類した。

矢印は低分化胞巣 (HE染色, ×40)を示す。

表2 Desmoplastic Reaction と臨床病理学的特徴との関連

		DR1/DR2 (n = 152)	DR3 (n = 21)	P 値
腫瘍の局在	結腸	92	11	0.487
	直腸	60	10	
腫瘍径	50mm 以上	70	13	0.244
	50mm 未満	82	8	
深達度	pT3	129	17	0.747
	pT4	23	4	
組織型	tub1/tub2	139	20	0.999
	por/muc	13	1	
リンパ管侵襲	なし	104	11	0.216
	あり	48	10	
静脈侵襲	なし	105	9	0.026
	あり	47	12	
リンパ節転移	なし	103	7	0.003
	あり	49	14	
簇出	G1/G2	121	11	0.012
	G3	31	10	
低分化胞巣	G1/G2	115	7	< 0.001
	G3	37	14	

tub1, well differentiated tubular adenocarcinoma; tub2, moderately differentiated tubular adenocarcinoma; por, poorly differentiated adenocarcinoma; muc, mucinous adenocarcinoma; DR, Desmoplastic Reaction.

κ 統計量を用いて評価した¹⁵⁾.

4. 統計解析

DR と臨床病理学的特徴との関連は、Fisher の直接確率法を用いて解析した。DR を含む臨床病理学的特徴について無再発生存率を Kaplan-Meier 法で算出し、log-rank 検定を用いて生存曲線の比較を行った。さらに、log-rank 検定で $P < 0.10$ であった臨床病理学的因子について、Cox の比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行った。統計ソフトは SPSS Statistics 22 (SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan) を使用し、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

1. DR と臨床病理学的特徴

DR3 は、静脈侵襲あり ($P = 0.026$)、リンパ節

転移あり ($P = 0.003$)、簇出 G3 ($P = 0.012$)、および低分化胞巣 G3 ($P < 0.001$) との間に統計学的に有意な関連を認めた (表2)。

2. 5年無再発生存率

無再発生存率に関する単変量解析では、簇出 G3 ($P = 0.034$)、DR3 ($P = 0.003$) が有意に予後不良な因子であった (表3)。DR3 の術後成績 (5年無再発生存率 31.3%) は、DR1/DR2 (5年無再発生存率 64.6%) と比較して、有意に不良であった ($P = 0.003$) (図4)。多変量解析では、DR3 のみがハザード比 1.539 (95% 信頼区間: 1.146-2.066) であり、独立した予後不良因子であった ($P = 0.004$) (表3)。

3. DR 診断の再現性

DR、簇出、低分化胞巣診断の κ 統計量は、各々 0.448, 0.449, 0.646 であった。すなわち、大腸

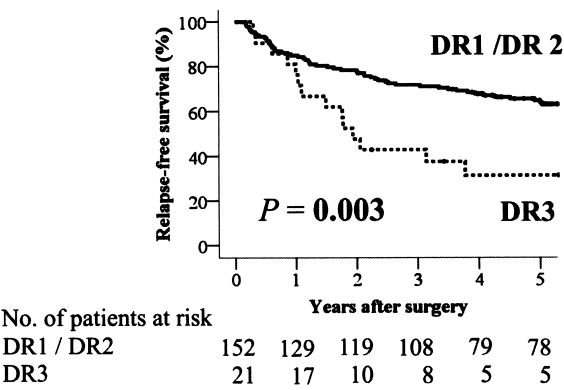


図4 間質線維化反応（Desmoplastic Reaction：DR）別無再発生存曲線

表3 臨床病理学的特徴と5年無再発生存率との関連

		単変量解析		多変量解析	
		5年無再発生存率 (%)	P 値	ハザード比 (95% 信頼区間)	P 値
腫瘍の局在	結腸	64.1	0.146		
	直腸	51.4			
腫瘍径	50mm 以上	55.4	0.297		
	50mm 未満	62.2			
深達度	pT3	58.9	0.910		
	pT4	59.3			
組織型	tub1/tub2	57.2	0.158		
	por/muc	78.6			
リンパ管侵襲	なし	58.9	0.998		
	あり	58.6			
静脈侵襲	なし	61.3	0.275		
	あり	54.2			
リンパ節転移	なし	61.8	0.392		
	あり	54.0			
簇出	G1/G2	64.7	0.034		
	G3	47.4			
低分化胞巢	G1 / G2	65.1	0.055		
	G3	49.7			
DR	DR1/DR2	64.6	0.003	1	0.004
	DR3	31.3			

tub1, well differentiated tubular adenocarcinoma; tub2, moderately differentiated tubular adenocarcinoma; por, poorly differentiated adenocarcinoma; muc, mucinous adenocarcinoma; DR, Desmoplastic Reaction.

癌発育先進部の病理所見の中で DR の診断一致度は中等度であり、簇出と同程度の診断の再現性が認められた。

考 察

我々は、今回の検討で、1) DR3 は進行大腸癌において無再発生存率に関する独立した予後不良因子であること、2) DR の診断一致度は中等度であり、同じく進行大腸癌の発育先進部で観察される簇出と同程度の診断の再現性が認められること、を明らかにした。今回の検討により、DR は早期大腸癌のみならず、進行大腸癌においても臨床的意義を有する可能性が示唆された。

大腸癌の発育先進部における DR の形成には、癌により活性化された線維芽細胞が関与しているとされる。つまり、癌により活性化された線維芽細胞は、細胞外マトリックス、細胞増殖因子、そしてプロテアーゼの産生および活性化機構を介して、癌細胞の増殖および浸潤に対して促進的に機能する⁶⁾¹⁶⁾。また、癌により活性化された線維芽細胞は、物理的な境界となり癌組織への T リンパ球の侵入を妨げ、癌に対する免疫反応を阻害する可能性がある¹⁷⁾。つまり、DR は癌の進展において促進的に機能すること、そして免疫反応による防御を阻害することにより、再発や予後に関連する可能性がある。

DR、簇出、そして低分化胞巣などの大腸癌の発育先進部における病理所見は、それぞれが予後を予測する重要な因子である¹⁾⁻⁸⁾。これまでに大腸癌の発育先進部における簇出や低分化胞巣などの病理所見は、早期癌ではリンパ節転移と関連があること¹⁾³⁾、進行癌では R0 切除後の無再発生存率と関連があること²⁾⁴⁾、が報告されている。しかし、臨床上はこれらの複数の病理所見の中から、最も有用なものを選択して評価することが重要である。我々は、今回の検討で、進行大腸癌の発育先進部において、DR、簇出、そして低分化胞巣を評価し、多変量解析を用いて比較検討を行った。そして、DR3 が進行大腸癌における無再発生存率に関する独立した予後不良因子であるこ

とを示した。

今回の検討で、DR 診断の再現性に関する κ 統計量は 0.448 であり、中等度の一致が認められたが、低分化胞巣の 0.646 と比較すると不良であった。大腸癌の発育先進部の病理診断において、低分化胞巣の κ 統計量は 0.51³⁾ との報告があるが、この結果と比較しても決して十分な値とは言えない。したがって、今後 DR を臨床応用していくためには、病理診断における再現性を高めていく必要があると考えられる。

本研究には、単施設の後向き研究であること、症例数が限られていること、DR 診断についての再現性が十分ではなかったことなどの制限がある。しかし、本研究は、進行大腸癌の発育先進部における複数の病理所見を評価し、多変量解析から DR の臨床的意義を示した初めての報告である。

結 論

進行大腸癌において、DR3 は R0 切除後の独立した予後不良因子であり、再発高リスク群を抽出する指標になる可能性がある。進行大腸癌においては、DR の診断をルーチン化するか否かについては、診断の再現性を含めて今後さらなる検討が必要である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野教授 若井俊文先生、助教 島田能史先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Aida S, Hase K, Matsukuma S, Kanai T, Kurihara H, Ozawa K, Yoshimura K and Bekku S: Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 127: 385-394, 2004.
- 2) Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, El Zimaity H, Fléjou JF, Hansen TP, Hartmann A, Kakar S, Langner

- C, Nagtegaal I, Pappa G, Riddell R, Ristimäki A, Sheahan K, Smyrk T, Sugihara K, Terris B, Ueno H, Vieth M, Zlobec I and Quirke P: Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol* 2017 May 26. doi: 10.1038/modpathol.2017.46.
- 3) Ueno H, Hase K, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Yoshii S, Kudo SE, Tanaka M, Akagi Y, Suto T, Nagata S, Matsuda K, Komori K, Yoshimatsu K, Tomita Y, Yokoyama S, Shinto E, Nakamura T and Sugihara K: Novel risk factors for lymph node metastasis in early invasive colorectal cancer: a multi-institution pathology review. *J Gastroenterol* 49: 1314-1323, 2014.
 - 4) Ueno H, Hase K, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Tanaka M, Miyake O, Masaki T, Shimada Y, Kinugasa Y, Mori Y, Kishimoto M, Kameoka S, Sato Y, Matsuda K, Nakadoi K, Shinto E, Nakamura T and Sugihara K: Site-specific tumor grading system in colorectal cancer: multicenter pathologic review of the value of quantifying poorly differentiated clusters. *Am J Surg Pathol* 38: 197-204, 2014.
 - 5) Koelzer VH, Zlobec I and Lugli A: Tumor budding in colorectal cancer-ready for diagnostic practice? *Hum Pathol* 47: 4-19, 2016.
 - 6) Ueno H, Shinto E, Kajiwara Y, Fukazawa S, Shimazaki H, Yamamoto J and Hase K: Prognostic impact of histological categorisation of epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer. *Br J Cancer* 111: 2082-2090, 2014.
 - 7) Shia J, Ellis NA, Paty PB, Nash GM, Qin J, Offit K, Zhang XM, Markowitz AJ, Nafa K, Guillem JG, Wong WD, Gerald WL and Klimstra DS: Value of histopathology in predicting microsatellite instability in hereditary nonpolyposis colorectal cancer and sporadic colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 23: 1407-1417, 2003.
 - 8) Ueno H, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Shinto E, Kajiwara Y, Nakanishi K, Kato K, Maekawa K, Miyai K, Nakamura T, Yamamoto J and Hase K: Objective criteria for Crohn-like lymphoid reaction in colorectal cancer. *Am J Clin Pathol* 139: 434-441, 2013.
 - 9) Sis B, Sarioglu S, Sokmen S, Sakar M, Kupelioglu A and Fuzun M: Desmoplasia measured by computer assisted image analysis: an independent prognostic marker in colorectal carcinoma. *J Clin Pathol* 58: 32-38, 2005.
 - 10) Hirose M, Fukui H, Igarashi Y, Fujimori Y, Katake Y, Sekikawa A, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Ajioka Y, Ueno H, Hase K, Ohkura Y, Kashida H, Togashi K, Nishigami T, Matsui T, Yao T, Wada R, Matsuda K, Watanabe T, Ochiai A, Sugai T, Sugihara K and Fujimori T: Detection of desmoplastic reaction in biopsy specimens is useful for predicting the depth of invasion of early colorectal cancer: a Japanese collaborative study. *J Gastroenterol* 45: 1212-1218, 2010.
 - 11) Kimura R, Fujimori T, Ichikawa K, Ajioka Y, Ueno H, Ohkura Y, Kashida H, Togashi K, Yao T, Wada R, Watanabe T, Ochiai A, Sugai T, Sugihara K and Igarashi Y: Desmoplastic reaction in biopsy specimens of early colorectal cancer: a Japanese prospective multicenter study. *Pathol Int* 62: 525-531, 2012.
 - 12) Sugihara Y, Kudo SE, Miyachi H, Wakamura K, Mori Y, Misawa M, Hisayuki T, Kudo T, Hayashi T, Hamatani S, Okoshi S and Okada H: In vivo detection of desmoplastic reaction using endocytoscopy: A new diagnostic marker of submucosal or more extensive invasion in colorectal carcinoma. *Mol Clin Oncol* 6: 291-295, 2017.
 - 13) Ueno H, Shinto E, Shimazaki H, Kajiwara Y, Sueyama T, Yamamoto J and Hase K: Histologic categorization of desmoplastic reaction: its relevance to the colorectal cancer microenvironment and prognosis. *Ann Surg Oncol* 22: 1504-1512, 2015.
 - 14) Watanabe T, Muro K, Ajioka Y, Hashiguchi Y, Ito Y, Saito Y, Hamaguchi T, Ishida H, Ishiguro M, Ishihara S, Kanemitsu Y, Kawano H, Kinugasa Y, Kokudo N, Murofushi K, Nakajima T, Oka S, Sakai Y, Tsuji A, Uehara K, Ueno H, Yamazaki

- K, Yoshida M, Yoshino T, Boku N, Fujimori T, Itabashi M, Koinuma N, Morita T, Nishimura G, Sakata Y, Shimada Y, Takahashi K, Tanaka S, Tsuruta O, Yamaguchi T, Yamaguchi N, Tanaka T, Kotake K and Sugihara K: Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2016 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*. 2017 Mar 27. doi: 10.1007/s10147-017-1101-6.
- 15) Kundel HL and Polansky M: Measurement of observer agreement. *Radiology* 2: 303-308, 2003.
- 16) Halvorsen TB and Seim E: Association between invasiveness, inflammatory reaction, desmoplasia and survival in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 42: 162-166, 1989.
- 17) Lieubeau B, Heymann MF, Henry F, Barbieux I, Meflah K and Grégoire M: Immunomodulatory effects of tumor-associated fibroblasts in colorectal-tumor development. *Int J Cancer* 17: 629-636, 1999.

(平成 29 年 6 月 27 日受付)
