

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 田口 貴博
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1103 号
学位授与の日付 令和5年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 大腸 de novo 癌の臨床病理学的・分子病理学的特徴

論文審査委員 主査 教授 西條 康夫
副査 教授 寺井 崇二
副査 准教授 梅津 哉

博士論文の要旨

背景と目的

大腸癌の組織発生に関しては①adenoma-carcinoma sequence、②serrated neoplasia pathway、③炎症性発癌 (inflammatory carcinogenesis) が広く受け入れられている。Adenoma-carcinoma sequence では腺腫を介して大腸癌が発生し、APC、KRAS、TP53 等の遺伝子変異が関連している。Serrated neoplasia pathway では過形成性ポリープや sessile serrated lesion (SSL) 等の鋸歯状病変を前癌病変とした発癌経路で、BRAF 変異、Microsatellite instability (MSI)、CpG island methylator phenotype (CIMP) 等が発癌に関与している。炎症性発癌は炎症性腸疾患に生じた粘膜内腫瘍である dysplasia を介した発癌で、発癌初期の TP53 変異が特徴とされている。

一方、これらの前癌病変を伴わず、大腸粘膜から直接癌が発生する大腸 de novo 発癌も想定されている。大腸 de novo 癌の特徴として、これまでの既報では肉眼的に平坦・陥凹型が多く、分子病理学的特徴として KRAS 変異が少ないとの報告がある。しかしながら、詳細な臨床病理学的及び分子病理学的特徴については完全には解明されていない。本研究では大腸 de novo 癌の臨床病理学的及び分子病理学的特徴を明らかにすることを目的とする。

方法

2006 年から 2021 年に新潟大学臨床病理学分野で病理診断がなされた外科的または内視鏡的に切除された大腸粘膜下層浸潤癌を研究対象とした。大腸 de novo 癌 (DN) を径 10 mm 以下で、粘膜内部が腺腫等の前癌病変を伴わず、全て癌からなる病変と定義した。比較対象として病変内に腺腫成分を伴う腺腫由来癌 (Adenoma-carcinoma sequence: ACS) として径 10 mm 以下の腺腫由来癌 (Small adenoma-carcinoma sequence: S-ACS) と径 10 mm を超える腺腫由来癌 (Large adenoma-carcinoma sequence: L-ACS) とを無作為に抽出した。

肉眼所見、組織標本からそれぞれの肉眼形態、粘膜内増殖様式、組織型、深達度、脈管侵襲、簇出の組織学的検討を行った。粘膜内増殖様式については粘膜内腫瘍部が周囲の辺縁粘膜よりも明らかに高いものを Polypoid growth type (PG type) とし、粘膜内腫瘍部が辺縁過形成性粘膜と同等かそれより薄いものを Non-polypoid growth type (NPG type) とした。

それぞれの代表切片から癌領域を顕微鏡下でマニュアルダイセクションし、DNA を抽出し、KRAS、NRAS の exon2-4、BRAF の exon15、TP53 の exon5-8 についてサンガーシークエンスによる変異解析を行った。また、それぞれの DNA から MSI、CIMP の解析を行った。

DN、S-ACS、L-ACS それぞれの臨床病理学的・分子病理学的特徴について統計学的に比較検討した。統計解析には SPSS version 28 を用いた。

結果

検索対象から DN42 例、S-ACS20 例、L-ACS18 例を得た。

臨床病理学的特徴として、DN、ACS とともに肉眼型は type 0-I 型 (隆起型) が最も多かったが (52.4%、76.3%)、DN では ACS 全体と比較して平坦・陥凹型が有意に多かった (47.6% vs. 23.7%) (P=0.026)。粘膜内増殖様式は DN では ACS 全体と比較して NPG type が多く (57.1% vs. 10.5%) (P<0.001)、DN、S-ACS、L-ACS の 3 群比較でも DN は有意に NPG type が多かった (57.1% vs. 20.0%、0%) (P<0.001)。その他 SM 浸潤度、組織型、リンパ管侵襲、静脈侵襲、簇出のいずれも DN と ACS 全体での比較、DN、S-ACS、L-ACS の 3 群比較で有意差は見られなかった。

KRAS 変異について、DN は S-ACS、L-ACS と比較して有意に KRAS 変異が少なく (19.0% vs. 50.0%、50.0%) (P=0.014)、NRAS を含めた RAS 変異全体で見ても有意差を認めた (19.0% vs. 50%、55.6%) (P=0.007)。また、PG type に限った検討においても DN では ACS と比較して有意に RAS 変異が少ないことが示された (16.7% vs. 62.5%、55.6%) (P=0.013)。BRAF、TP53、MSI、CIMP については DN と ACS で有意差は見られなかった。

考察

DN は ACS と比較して type 0-II (表面型) の頻度が高いものの、最も多いのは type 0-I (隆起型) であった (52.4%)。一方、粘膜内増殖様式は DN の 57.1% が NPG type であり、その割合は S-ACS、L-ACS に比べ有意に高かった (P<0.001)。肉眼型が type 0-I でも、その約 1/3 (36.4%) は NPG type であり、これらは type 0-II の粘膜内癌として発生し、癌の粘膜下層浸潤に伴い肉眼形態を type 0-I に変化させた可能性が考えられる。これらのことから、DN はその発生初期段階では平坦・陥凹型の形態を呈することものが多いと推定されるが、PG type を示す例も存在することから、既報のように必ずしもその肉眼形態は平坦・陥凹型に限られるものではないと考えられる。

RAS 変異について、既報では KRAS codon 12、13、61 のみを対象としているものが多いが、検索対象を KRAS・NRAS の codon 12、13、59、61、117、146 まで広げた。DN では RAS 変異率が ACS と比較して有意に低く (P=0.007)、既報と同様の結果であった。本研究で特筆すべきことは、DN では PG type とされたものも、NPG type と同様に RAS 変異率が低値であったことである (16.7%、20.8%)。これまでの研究では、DN は平坦・陥凹型 (NPG type) で、RAS 変異率が低く、ACS は隆起型 (PG type) で RAS 変異率が高いとされてきた。本研究結果は、RAS 変異の点からも、DN は必ずしも隆起型 (PG type) に限定されるものではないことを示したものである。

TP53 変異については DN で 27/42 例 (64.3%)、ACS で 23/38 例 (60.5%) に変異を認め、両者の間に有意差は見られなかった。この結果から TP53 変異は腺腫の癌化と同様に、de novo 発癌に関わる遺伝子異常と考えられる。

BRAF、MSI、CIMP については DN、ACS とともに少数例のみ陽性であり、両者の間に有意差は見られなかった。Serrated neoplasia pathway に関与するこれらの分子病理学的特徴については de novo 発癌とは関連がないと考えられた。しかし、DN の 1 例が BRAF 変異陽性、CIMP-high、MSI-H であり、少数例ながら、本研究で de novo 癌として選択した病変の中に、初期病変として発生した鋸歯状病変の癌化例が含まれている可能性は残された。

審査結果の要旨

大腸 de novo 癌 (DN) は、前がん病変を伴わず、直接大腸粘膜から発生するとされるが、その臨床病理学的及び分子病理学的に十分解析されてはいない。そこで、申請者は、粘膜下層浸潤癌のうち、径 10mm 以下で前癌病変を伴わないものを DN と定義し、腺腫癌化例 (ACS) と比較検討した。臨床病理学的特徴として、DN、ACS とともに肉眼型は type 0-I 型 (隆起型) が最も多かったが、DN は平坦・陥凹型が有意に多かった。粘膜内浸潤では、NPG type が多かったが、SM 浸潤度、組織型、リンパ管侵襲、静脈侵襲、簇出のいずれでも、差はなかった。遺伝子解析では、RAS 変異が有意に少なかったが、BRAF、TP53、MSI、CIMP については、有意差は見られなかった。本研究は、DN と ACS を病理学のおよび分子生物学的に詳細に解析し、DN の発がんメカニズムや進展様式に新たな知見を加えたことより、十分に学位論文としての価値があると判断する。