

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 岡村 拓磨  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第 561 号  
学位授与の日付 平成 25 年 9 月 20 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 大腸粘膜下層浸潤癌における簇出 (budding) の組織学的評価

論文審査委員 主査 味岡 洋一  
副査 若井 俊文  
副査 青柳 豊

### 博士論文の要旨

【緒言】大腸粘膜下層浸潤癌 (SM 癌) における粘膜下層の間質中に存在する癌の小胞巣である簇出はリンパ節転移危険因子であると報告されており、内視鏡的粘膜切除後の病理診断で SM 癌かつ簇出高度陽性と診断された症例では追加切除が推奨されている。簇出の検出は、通常の HE 染色では困難なことがあり、免疫染色の施行により簇出の検出自体は容易になるが、免疫染色による簇出評価の判定基準は確立されていない。本研究の目的は、HE 染色および免疫染色を用いて判定した簇出個数とリンパ節転移との関連を解析し、免疫染色における簇出評価の判定基準を立案することである。

【方法】1981 年から 2008 年にリンパ節郭清を伴う外科切除が施行された大腸 SM 癌 310 例を対象とした。病理組織学的リンパ節転移は 31 例 (10%) に認められた。病変の浸潤最深部を含む連続切片を作製し、HE 染色および上皮性サイトケラチン CAM5.2 免疫染色を行った。簇出は、癌発育先進部の間質中に存在する単個ないしは 5 個未満の癌胞巣を簇出と定義し、簇出が最頻出する SM 浸潤部を選定し、 $20 \times 10$  倍 1 視野当たりの簇出個数を算定した。染色別に ROC 曲線を作製し、リンパ節転移予測の正確度が最も高い簇出個数の閾値を決定した。

【結果】HE 染色, CAM5.2 免疫染色を用いて評価した簇出検出個数の平均±標準誤差は、各々  $3.5 \pm 0.2$ ,  $8.4 \pm 0.5$  であり、CAM5.2 免疫染色を用いて評価した方が有意に簇出検出個数は増加した ( $p < 0.001$ )。リンパ節転移陰性であった 279 例における HE 染色, CAM5.2 免疫染色を用いて評価した簇出検出個数は各々  $3.3 \pm 0.2$ ,  $8.1 \pm 0.5$  であったのに対し、リンパ節転移陽性であった 31 例では各々  $5.7 \pm 0.8$ ,  $11.6 \pm 1.5$  であり、リンパ節転移の有無別で検討しても CAM5.2 免疫染色で検出される簇出個数は HE 染色と比較して有意に増加した (各々  $p < 0.001$ )。ROC 曲線から簇出高度陽性と判定する簇出個数の閾値は HE 染色, CAM5.2 免疫染色で各々 5, 8 となり、リンパ節転移予測の正確度は各々 73.2%, 59.7% であり、HE 染色を用いて評価した簇出判定基準の方がリンパ節転移予測の正確度が高かった。

【考察】HE 染色, CAM5.2 染色を用いた簇出検出個数は、CAM5.2 免疫染色を用いた方が有意に増加した。過去の研究でも本研究と同様に、免疫染色を用いて評価することにより簇出検出個数は有意に増加することが示されていた。HE 染色では、単個から少数個の癌細胞を、幼弱な線維芽細胞の増生や、種々の炎症細胞浸潤に取り囲まれた癌の発育先進部の間質中で検出することは、時に困難である。一方、

CAM5.2 免疫染色は上皮性サイトケラチンに対する染色であり、CAM5.2 免疫染色を用いることで間質中に存在する癌巣である簇出を検出することは容易になり、簇出検出個数が増加すると考えられる。ただし、CAM5.2 免疫染色は形質細胞も染色するため、簇出を評価する際には CAM5.2 免疫染色陽性細胞から形質細胞を除外する必要がある。

リンパ節転移予測の正確度を基盤とした ROC 曲線を作製し、Youden Index を用いて簇出検出個数の閾値を決定した。HE 染色における簇出検出個数の閾値は、大腸癌研究会の多施設共同研究でリンパ節転移予測の有用性が検討され明らかとなった閾値（簇出検出個数 5 個）と同じ結果であり、HE 染色における簇出評価の判定基準の有用性を再確認できた。CAM5.2 免疫染色における簇出高度陽性と判定する簇出個数の閾値は、簇出検出個数 8 個と算定された。ただし、リンパ節転移との関連では HE 染色を用いて評価した簇出判定基準の方が、リンパ節転移予測の正確度が高かった。CAM5.2 免疫染色で簇出高度陽性と判定される症例で、リンパ節転移を有する頻度が高くない、すなわち検査の偽陽性が多いことが問題点である。CAM5.2 免疫染色は細胞骨格を認識しているため、免疫応答によりすでに生物学的活性を失っている癌細胞の細胞骨格も簇出として検出している可能性が考えられる。CAM5.2 免疫染色で検出される間質中の癌細胞の中で増殖能を有する細胞、アポトーシスに陥っている細胞がどの程度存在するか検討することが、今後の課題である。

【結語】リンパ節転移予測の正確度を基盤とした大腸 SM 癌における簇出評価の判定基準は、HE 染色では 5 個以上、CAM5.2 免疫染色では 8 個以上の簇出検出個数をもって簇出高度陽性と定義できる。ただし、リンパ節転移予測の正確度は HE 染色を用いて簇出を検出した方が高い。

#### 審査結果の要旨

大腸粘膜下層浸潤癌（SM癌）における粘膜下層の癌小胞巣（簇出）はリンパ節転移危険因子として報告されているが、簇出の検出は通常の HE 染色標本では困難なことがある。他方、免疫染色により簇出の検出は容易になるが、その評価判定基準は確立されていない。本研究ではリンパ節郭清を伴う外科切除大腸 SM 癌 310 例を対象とし、HE 染色および上皮性サイトケラチン CAM5.2 免疫染色を用いて判定した簇出個数とリンパ節転移との関連を解析し、免疫染色による簇出評価の判定基準の立案を試みた。その結果、リンパ節転移予測の正確度を基盤とした大腸 SM 癌における簇出評価の判定基準は、HE 染色では 5 個以上、CAM5.2 免疫染色では 8 個以上の簇出検出個数をもって簇出高度陽性と定義されたが、ROC 曲線を用いた検討では、HE 染色を用いた免疫染色による判定に比べ、高いリンパ節転移予測正確度を示した。

以上のことから本研究は、免疫染色を用いた簇出評価の判定基準を確立したとともに、HE 染色による簇出判定がリンパ節転移予測因子としてより有用であることを明らかにした点で学位論文としての価値を認める。