

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08704

研究課題名(和文) 消化管における胎児消化管上皮類似癌の組織分類の意義と悪性度に関わる因子の解析

研究課題名(英文) Analysis of significance of histological classification of adenocarcinoma with enteroblastic differentiation in the digestive tract, especially in association with its aggressiveness.

研究代表者

八尾 隆史 (Yao, Takashi)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：20243933

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：胎児消化管類似癌(AED)に分類された胃癌51例(2.2%)が抽出され、その臨床病理学的解析により胃AEDは高悪性度の癌であることが確認された。さらに、肝様腺癌は充実型増殖を示す胃AEDとして包括することの妥当性も示唆された。胃AEDではTP53遺伝子変異が高頻度であり、HER2過剰発現も高頻度であることが判明し、さらにSMAD4も関連遺伝子のひとつであることが示された。大腸癌でもAEDの存在が確認され、高悪性度の癌であることも判明したが、組織像と胎児腸管マーカーとの関連を含めた組織分類は今後の課題である。これらの解析結果は胃癌・大腸癌の今後の治療戦略に有用であると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃の胎児消化管類似癌(AED)は高悪性度の癌であり、TP53遺伝子変異とHER2過剰発現が高頻度であり、SMAD4も関連性のある遺伝子のひとつであることが示された。大腸癌でもAEDの存在と高悪性度の癌であることが確認された。これらの解析結果は胃癌・大腸癌の今後の治療戦略に有用であると思われる。

研究成果の概要(英文)：From 2273 cases of gastric adenocarcinoma, 51 cases (2.2%) of gastric adenocarcinoma with enteroblastic differentiation (AED) were selected for this study. By the clinicopathological analysis, it was confirmed that gastric AED was highly aggressive. Furthermore, it was also suggested that hepatoid adenocarcinoma should be included as a gastric AED showing solid growth. In gastric AED, TP53 gene mutation was found to be more frequent, and HER2 overexpression was more frequent than that in normal cancer. Furthermore, SMAD4 was considered to be one of the associated genes. The presence of AED was also confirmed in colorectal cancer, and it was also revealed that it is a highly aggressive, but the histological classification including the relationship between histological features and fetal gut markers is an issue for the future. The results of these analysis may be useful for future treatment strategies for gastric and colorectal cancers.

研究分野：Pathology

キーワード：胃癌 大腸癌 胎児消化管類似癌 TP53 HER2 SMAD4 MSI 高悪性度

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

これまで HE 組織像において弱好酸性から淡明な細胞質からなり肝細胞癌に類似した像を示す低分化充実型腺癌のうちで AFP 陽性となるものは肝様腺癌として扱われてきた。そして肝様腺癌は AFP 産生胃癌の代表的組織型として広く知られているが、AFP 産生胃癌には胎児消化管上皮類似癌 (AED) も散在すること報告されていたが、その臨床病理学的特徴などは不明であった。そして、肝様腺癌の一部には淡明な細胞質を有し胎児消化管上皮に類似した腺癌成分や通常型腺癌成分を伴う症例も存在し (Kinjo T, et al. Am J Surg Pathol 2012) さらに AFP 以外の胎児腸管のマーカーである glypican 3 と SALL4 も肝様腺癌のマーカーとして有用であることも判明し (Ushiku T, et al. Cancer Sci 2009, Ushiku T, et al. Am J Surg Pathol 2010) 肝様腺癌と AED との関連が深いことが示唆されてきた。

2016 年、我々のグループの Murakami は、胎児腸管に類似した淡明な細胞質を有し胎児腸管のマーカー (AFP, glypican 3, SALL4) が発現する胃癌を AED として 29 例を抽出し、その臨床病理学的特徴を初めて報告し (Murakami T, et al. Gastric Cancer 2016) 胃癌取扱い規約・第 15 版(2017 年)の組織分類・特殊型の主項目に掲載された。しかしながら、AED の頻度は不明で、その悪性度に関わる因子の解析も行われていない。また、大腸では大腸癌では AED という名称では 1 例の報告があるのみで、その頻度や臨床病理学的特徴は不明である。さらに、胎児腸管マーカーの発現と AED や肝様腺癌以外の組織像を示す腺癌の臨床病理学的特徴や組織発生、悪性度との関係の解析および組織分類の意義の整理は不十分であり、包括的な解析が必要であった。

### 2. 研究の目的

『消化管における胎児消化管上皮類似癌 (AED) の組織分類の意義と悪性度に関わる因子の解析』を研究課題とし、その臨床病理学的特徴や病態の解析を行うことを目的とした。とくに、胃癌においては肝様腺癌との関係と高悪性度に関わる因子の抽出や今後の治療薬開発に有用となるような分子生物学的異常の同定を、大腸癌においてはまずは AED の存在や頻度の確認から臨床病理学的特徴や病態の把握を目標とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) AED の症例抽出

外科的に切除された胃癌のホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いて、胎児腸管のマーカー (AFP, glypican 3, SALL4) の免疫染色を施行し、これらのマーカーのうち少なくとも一つが陽性なもののうち、「組織学的に粘液産生がなくグリコゲンを含む淡明な細胞質からなる腺癌」を AED に分類し、それ以外のものは組織像から肝様腺癌あるいは通常型腺癌の分類に準じて分類する。

大腸に関しても、外科的に切除された大腸癌のホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いて、胎児消化管上皮のマーカー (AFP, Glypican 3, SALL4) の免疫染色施行し、いずれか一つのマーカーが陽性のものを抽出した。

#### (2) 臨床病理学的特徴

一般的な臨床病理学的特徴を明らかにする。とくに、悪性度の評価とそれに関連した因子の解析を重視した。さらに、肝様腺癌は広義には AED に含まれるが、独立した疾患概念として存在意義があるかの検証も行った。

#### (3) 分子生物学的解析

ホルマリン固定パラフィン包埋組織より腫瘍部および非腫瘍部の DNA を抽出し、次世代シーケンサー (NGS) を用いた網羅的遺伝子変異解析を行った。胃 AED ではとくに *TP53* に関しては Sanger 法による遺伝子変異解析を追加し、その不活性化機構の解析も行った。さらに、*SMAD4* 変異およびメチル化解析も行った。大腸 AED では、同様の解析に加え MSI の解析も行った。

#### 4. 研究成果

まず、外科的に切除された胃癌 2273 症例から AED 51 症例が収集され、発生頻度が 2.2% であることが判明した。胃 AED は高頻度の静脈侵襲、リンパ管侵襲、リンパ節転移を認め、肝転移も一般型胃癌より高頻度であることが示され、高悪性度の癌であることが再確認された。さらに充実型増殖を示すタイプはかつて肝様腺癌に分類されたものが含まれるが、充実型成分や AFP 発現の有無と予後や臨床病理学的特徴の差はみられなかったことから、かつて肝様腺癌とされていたものは、充実型増殖を示す GAED の一亜型に分類するのが妥当であることが示唆された。また、*TP53* 遺伝子変異が高頻度であり、通常型癌と比較して HER2 過剰発現も有意に高頻度であることも判明した (Akazawa Y et al, Hum Pathol 2018)。

さらに、胃 AED において *TP53* のプロモーターのメチル化は 18%、LOH は 37.2% に認め、胃 AED の *TP53* の不活性化機構は *TP53* の変異に加えて、*TP53* の LOH やメチル化が原因の一部と考えられた。また、メチル化関連タンパク TET1 と 5-ヒドロキシメチルシトシン (5-hmC) の発現低下・減弱はそれぞれ 56.9%、54.9% に認め、これらの減弱を認めた群は保持群と比べて有意に予後が悪い傾向であることも示された (Yatagai N et al. Virchow Arch 2019)。

さらに、胃 AED では *SMAD4* に関しては、その変異は認めなかったものの LOH が高頻度に見られたことから、胃 AED において *SMAD4* は疾患感受性のある遺伝子のひとつと考えられた。さらに、*SMAD4* の免疫染色の陰性化やメチル化は胃 AED の高悪性度化の獲得に寄与している可能性も示唆された (Yatagai N, et al. Hum Pathol, 2019)。

大腸癌においては、2014 年～2018 年に切除された大腸癌 1666 例のうち HE で AED を疑い免疫染色施行し診断された 5 例 (0.3%) では、全例で脈管侵襲を認め、3 例で遠隔転移 (肝転移 2 例、肺転移 1 例) を認め、高悪性度であることが示された (Murakami T, et al, 2020)。

そして、研究期間中に遭遇した症例において免疫染色施行することにより AED 成分を伴う大腸癌として報告することができた (Ogiwara S, et al. Am J Gastroenterol 2019)。

大腸での AED の頻度は低いことが予想されたので、988 例の大腸癌に対してティッシュマイクロアレイ法を用いて胎児消化管上皮のマーカー (AFP, Glypican 3, SALL4) の免疫染色施行し、いずれか一つのマーカーが陽性となった 39 例 (4%) が抽出され、すでに胎児消化管類似癌と診断されていた 3 例を加えた 42 例での臨床病理学的および分子生物学的解析を行った。AED に特徴的な淡明な細胞質の有無に関わらず、胎児消化管上皮のマーカーの大腸癌は悪性度が高いことが判明した。分子生物学的には通常の大腸癌と比較して *TP53* の変異が高頻度で、HER2 陽性の頻度はやや高く、MSI には差はなかった (Yamashiro Y, et al Histopathol in press)。

大腸においても AED は存在することが示されたが、組織像として胎児消化管上皮に類似しないものでも胎児消化管上皮のマーカー陽性の癌は高悪性度であることが判明し、今後の組織型分類に関しては更なる検討が必要であることも示された。

胃および大腸の AED の臨床病理学的特徴が明らかになり、さらに遺伝子異常の一部が判明し、これらの解析結果は胃癌・大腸癌の今後の治療戦略に有用であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akazawa Y, Saito T, Hayashi T, Yanai Y, Tsuyama S, Akaike K, Suehara Y, Takahashi F, Takamochi K, Ueyama H, Murakami T, Watanabe S, Nagahara A, Yao T.	4. 巻 78
2. 論文標題 Next-generation sequencing analysis for gastric adenocarcinoma with enteroblastic differentiation: emphasis on the relationship with hepatoid adenocarcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hum Pathol	6. 最初と最後の頁 79-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2018.04.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yatagai N, Saito T, Akazawa Y, Hayashi T, Yanai Y, Tsuyama S, Ueyama H, Murakami T, Watanabe S, Nagahara A, Yao T.	4. 巻 474
2. 論文標題 TP53 inactivation and expression of methylation-associated proteins in gastric adenocarcinoma with enteroblastic differentiation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Virchows Arch	6. 最初と最後の頁 315-324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-018-2508-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yatagai N, Saito T, Akazawa Y, Hayashi T, Yanai Y, Tsuyama S, Murakami T, Ueyama H, Watanabe S, Nagahara A, Yao T.	4. 巻 88
2. 論文標題 Frequent loss of heterozygosity of SMAD4 locus and prognostic impacts of SMAD4 immunohistochemistry in gastric adenocarcinoma with enteroblastic differentiation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hum Pathol	6. 最初と最後の頁 18-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2019.03.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami T, Yao T, Yatagai N, Yamashiro Y, Saito T, Sakamoto N, Nagahara A.	4. 巻 76
2. 論文標題 Colorectal adenocarcinoma with enteroblastic differentiation: a clinicopathological study of five cases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histopathol	6. 最初と最後の頁 325-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/10.1111/his.13973	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogiwara S, Furihata M, Fukami K, Yamashita A, Yao T, Osada T.	4. 巻 114
2. 論文標題 Hepatoïd adenocarcinoma with enteroblastic differentiation in the sigmoid colon: lesions from a rare case.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 684-685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/ 10.14309/ajg.0000000000000176	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashiro Y, Saito T, Hayashi T, Murakami T, Yanai Y, Tsuyama S, Suehara Y, Takamochi K, Yao T.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Molecular and clinicopathological features of colorectal adenocarcinoma with enteroblastic differentiation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histopathol	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.14158.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	齋藤 剛  (Saito Tsuyoshi)  (80439736)	順天堂大学・医学部・准教授    (32620)	