

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462007

研究課題名(和文) 蛍光免疫組織化学を用いた大腸pSM癌における簇出の生物学的評価及びその意義

研究課題名(英文) Biological evaluation and significance of tumor budding using fluorescence immunohistochemistry in pT1b colorectal cancer

研究代表者

野上 仁 (NOGAMI, Hitoshi)

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：10547566

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)：本研究の目的は、「CAM5.2免疫染色における簇出評価の判定基準を立案すること」、および「HE染色および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、どちらがリンパ節転移予測の有用性が高いか明らかにすること」であった。本研究より、CAM5.2免疫染色における簇出評価の判定基準は、対物20倍1視野に8個以上の簇出が認められることと算出された。また、HE染色を用いて評価した簇出が、リンパ節転移予測の有用性が高いと結論付けられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to propose an optimal cut-off value for tumor budding detected by IHC staining for predicting lymph node metastasis in pT1 CRC, and to clarify the clinical significance of tumor budding detected by IHC staining compared to that detected by HE staining.

The optimal cut-off values of tumor budding detected by HE and CAM5.2 staining for predicting lymph node metastasis were 5 and 8, respectively. Based on these cut-off values, tumor budding detected by CAM5.2 staining is inferior to HE staining for predicting lymph node metastasis in pT1 CRC.

研究分野：消化器外科学

キーワード：大腸癌 簇出 粘膜下層浸潤癌 リンパ節転移 免疫染色 内視鏡的粘膜切除術

1. 研究開始当初の背景

近年、大腸粘膜内癌に対する治療法である内視鏡的粘膜切除術の普及に伴い、内視鏡切除標本の病理診断で粘膜下層浸潤癌 (pSM 癌) と診断される症例が増加している。大腸 pSM 癌では予後不良因子であるリンパ節転移が約 10% の症例に認められるため、pSM 癌の治療の原則はリンパ節郭清を伴う腸切除である。しかし、リンパ節転移リスクが極めて低い pSM 癌が存在することも事実であり、そのような症例に対して結果的には過剰治療となる追加切除を可及的に減じるために内視鏡切除後の追加治療の適応基準に関する研究が行われ、所属リンパ節転移のリスク因子が報告されてきた。その結果、日本の大腸癌治療ガイドライン (2010 年度版) では、組織学的検索で SM 浸潤度 1000 μm 以上の粘膜下層浸潤、脈管侵襲陽性、低分化腺癌 / 印環細胞癌 / 粘液癌、簇出高度陽性のうち一因子でも認められれば、追加治療としてリンパ節郭清を伴う外科切除を考慮するとされている。

簇出とは、癌の発育先進部から離れた間質中に存在する単個ないしは 5 個未満の癌細胞からなる小胞巣である。癌の発育先進部は、線維芽細胞の増生や炎症細胞浸潤に取り囲まれて多彩な組織所見を呈しており、簇出を正確に検出することは必ずしも容易ではない。しかしながら、上皮性サイトケラチンに対する CAM5.2 免疫染色を施行することにより、間質中に存在する癌の小胞巣である簇出を検出することは、比較的容易になる。大腸 SM 以深癌を対象とした検討で、免疫染色を用いると HE 染色より検出される簇出の個数が有意に増加したとする報告があり、HE 染色と CAM5.2 免疫染色では簇出高度陽性の判定に乖離がある可能性がある。

大腸 SM 癌の検討では、上皮性サイトケラチンに対する免疫染色を用いて評価した簇出判定がリンパ節転移と関連するという報告がある。一方、免疫染色を用いて評価した簇出判定は HE 染色での簇出判定よりリンパ節転移の予測に有用でないとする報告も認められる。CAM5.2 免疫染色を用いて評価した簇出判定がリンパ節転移の予測に有用であるか否かの評価が定まっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「CAM5.2 免疫染色における簇出評価の判定基準を立案すること」、および「HE 染色および 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、どちらがリンパ節転移予測の有用性が高いか明らかにすること」である。

3. 研究の方法

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 × 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。他の病理学的因子とともにリンパ節転移との関連を統計学的に検討した。

4. 研究成果

対象症例は 265 例で、リンパ節転移は 30 例 (11.3%) に認められた。年齢の中央値は 68 歳 (32 - 88 歳) で、男性 158 例、女性 107 例であった。腫瘍の局在は右側結腸 100 例、左側結腸 86 例、直腸 79 例であった。腫瘍径は中央値 24 mm (5 - 100 mm) であった。

HE 染色、CAM5.2 免疫染色で判定した簇出個数の中央値はそれぞれ 3、7 であり、CAM5.2 免疫染色で判定した簇出個数が有意に多かった (図 1)。

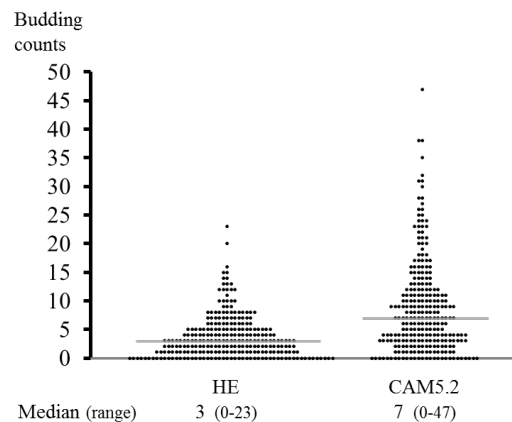


図 1 染色別の簇出個数の比較

HE 染色、CAM5.2 免疫染色で判定された簇出個数とリンパ節転移から作製された ROC 曲線の AUC はそれぞれ 0.678、0.672 であった。リンパ節転移予測のための最適なカットオフ値は HE 染色、CAM5.2 免疫染色でそれぞれ 5、8 と算定された (図 2)。

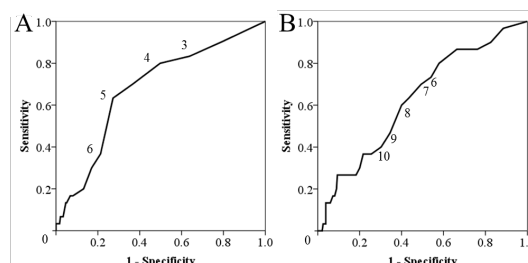


図 2 染色別の簇出個数の ROC 曲線

HE染色を用いて評価した簇出高度陽性(簇出個数5個以上)におけるリンパ節転移予測の感度,特異度はそれぞれ63.3%,72.8%であり,CAM5.2染色を用いて評価した簇出高度陽性(簇出個数8個以上)におけるリンパ節転移予測の感度,特異度は63.3%,56.6%で,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。

他の病理学的因子を含め,リンパ節転移予測の単変量解析を行ったところ,組織型,HE染色を用いて評価した簇出高度陽性,CAM5.2免疫染色を用いて評価した簇出高度陽性,リンパ管侵襲陽性が,リンパ節転移と有意に関連にしていた(表1)。

**病理学的因子とリンパ節転移との関連
(単変量解析)**

組織型, HEの簇出, CAM5.2の簇出, **ly**がリンパ節転移と関連

Factor	Lymph node metastasis		p
	Positive (n = 20)	Negative (n = 235)	
Differentiation			
G1/G2	27	231	0.03
G3/rmc	3	4	
Depth of invasion			
< 5mm 1000 μm	0	17	0.23
≥ 5mm 1000 μm	30	218	
Tumor budding count (HE)			
< 5	11	171	< 0.001
≥ 5	19	64	
Tumor budding count (CAM5.2)			
< 8	11	133	0.04
≥ 8	19	102	
Lymphatic invasion			
absent	23	214	0.02
present	7	21	
Venous invasion			
absent	26	210	0.32
present	4	20	

検定は Fisherの直接確率法

表1 病理学的因子とリンパ節転移との関連(単変量解析)

単変量解析で有意であった因子と,リンパ節転移との関連を多変量解析すると,組織型(OR,6.21;95%CI,1.16-33.33;P=0.03)とHE染色を用いて評価した簇出高度陽性(OR,4.91;95%CI,1.64-14.66;P=0.004)が有意に関連していた(表2).CAM5.2免疫染色を用いて評価した簇出高度陽性は,統計学的に有意なリンパ節転移予測因子ではなかった(OR,1.31;95%CI,0.44-3.91;P=0.63)。

**病理学的因子とリンパ節転移との関連
(多変量解析)**

組織型, HEの簇出がリンパ節転移と関連

Factor	OR	Lower 95% CI	Upper 95% CI	p
Differentiation				
G1/G2	6.21	1.16	33.33	0.03
G3/rmc				
Tumor budding count (HE)				
< 5	4.91	1.64	14.66	0.004
≥ 5				
Tumor budding count (CAM5.2)				
< 8	1.31	0.44	3.91	0.63
≥ 8				
Lymphatic invasion				
absent	1.37	0.46	4.09	0.57
present				

検定は ロジスティック回帰分析

表2 病理学的因子とリンパ節転移との関連(多変量解析)

2人の診断者が独立して簇出を診断し,診断の再現率(カッパ値)を算出したところHE染色で0.71,CAM5.2免疫染色で0.84であった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者,研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1件)

Okamura T, Shimada Y, Nogami H, Kameyama H, Kobayashi T, Kosugi S, Wakai T, Ajioka Y, Tumor Budding Detection by Immunohistochemical Staining is Not Superior to Hematoxylin and Eosin Staining for Predicting Lymph Node Metastasis in pT1 Colorectal Cancer, Dis Colon Rectum, 査読有, 59巻, 2016, 396-402.

〔学会発表〕(計 1件)

岡村拓磨, 味岡洋一, 島田能史, 若井俊文, 口演,大腸粘膜下層浸潤癌における簇出(budding)の組織学的評価, 第69回日本大腸肛門病学会学術集会 パシフィコ横浜(神奈川・横浜), 2014.11.7

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

野上 仁(NOGAMI, Hitoshi)
新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員
研究者番号:10547566

(2)研究分担者

若井 俊文 (WAKAI, Toshifumi)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：50372470

島田 能史 (SHIMADA, Yoshifumi)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号：20706460

味岡 洋一 (AJIOKA, Yoichi)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：80222610

小杉 伸一 (KOSUGI, Shin-ichi)
新潟大学・医歯学総合病院・特任教授
研究者番号：90401736

小林 隆 (KOBAYASHI, Takashi)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号：40464010

永橋 昌幸 (NAGAHASHI, Masayuki)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号：30743918

(3)連携研究者

(4)研究協力者