様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　２ 年　 ９ 月　 ８ 日現在

機関番号：７２６０２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2019
課題番号：１６Ｋ０８６６１

研究課題名（和文）診断・治療への応用を目指した胃癌の層別化-中分化腺癌の病理・分子解析

研究課題名（英文）Pathological and molecular analysis for moderately differentiated adenocarcinoma of the stomach

研究代表者
河内　洋（Kawachi, Hiroshi）

公益財団法人がん研究会・有明病院　病理部・部長

研究者番号：２０４０１３７５

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）：中分化腺癌の成分を多く含む腫瘍群のうち(1)複数組織型混在胃癌（混合型）、(2)EBV群、(3)MSI群について以下の結果を得た。
(1)混合型は44.5%を占め、リンパ節転移率は23.5%と他に比して高い傾向にあった。(2)EBV群は7.9%を占め、リンパ節転移率は4.2%で、非EBV群(21.9%)に比して有意に低く、多変量解析でも非EBVは独立したリンパ節転移危険因子となった。特に、脈管侵襲陰性のEBV群に転移は無く、粘膜下層深部浸潤癌であっても局所切除のみで根治する可能性がある。(3)MSI群は7.5%を占め、リンパ節転移陽性率は23.1%であり、非MSI群との間に有意差はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
早期胃癌の治療方針を決めるにあたり、高分化、中分化、低分化といった病理組織学的な分化度の判定は現在重要な因子の一つである。ただし、中間的組織像を示す中分化腺癌の判定はしばしば難しく問題となっていた。今回の研究で、中分化腺癌の成分を含む一部の腫瘍群、特にEBV群の場合、分化度の判定を一切行うことなく、脈管侵襲の判定を加えるだけで内視鏡治療の適応が決められる可能性があることがわかった。現在行われている病理組織学的評価に基づく治療方針決定の現状に加え、近年確立されつつある分子分類の要素を臨床応用することが可能でとなれば、個々の患者にとって、より適切な治療方針を選択することに貢献できると期待される。

研究成果の概要（英文）：Among tumor groups including predominant moderately differentiated adenocarcinoma, following three groups were mainly evaluated.
(1)Gastric adenocarcinoma with mixed histology group: this group account for 44.5% and the frequency of lymph node metastasis is relatively high compared with other groups. (2)EBV group account for 7.9% and the frequency of lymph node metastasis is significantly higher than non-EBV group. Non-EBV status is an independent risk factor for lymph node metastasis. Moreover, there is no case with lymph node metastasis in the tumors of EBV group without lymphovascular invasion, suggesting that EBV group without lymphovascular invasion can be treated local resection only such as endoscopic submucosal dissection. (3)MSI group account for 7.5% and the frequency of lymph node metastasis is relatively high and there is no significant difference between MSI group and non-MSI group.

研究分野：人体病理学

キーワード：胃癌　中分化腺癌　病理　免疫染色　EBV　リンパ節転移

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

胃癌の病理学的分類は、本邦では中村・菅野の分類と呼ばれる分化型・未分化型の２大別分類[1]が、世界的にはLauren分類と呼ばれるIntestinal type、Diffuse typeの２大別分類[2]がよく知られる。一方、日本胃癌学会による胃癌取扱い規約分類[3]やWHO分類[4]では、組織構築や細胞所見に基づく、管状腺癌、乳頭腺癌、印環細胞癌等の組織型に、高分化、中分化、低分化といった分化度を加味した分類が用いられているが、実臨床では２大別分類に対応させて診断・治療方針の決定が行われることが多い。対応させる際「中分化腺癌」は分化型に含められることになっているが、この群は胃癌の中で最も組織学的不均一性（tumor heterogeneity）が認められ、症例によっては未分化型に近い組織像を伴っていることも多い。その場合は「分化・未分化混在型」と呼ばれ中間的グループとして扱われることがあり、またさらにそれらを分化型優位、未分化型優位などと細分類することもしばしば行われ、２大別分類への収斂がしばしば難しい状況は広く認識され問題と考えられていた。

一方、近年の分子生物学的研究の成果から、2014年にThe Cancer Genome Atlas Research Networkのグループは、胃癌をEBV-CIMP (EBV)、MSI-hypermutated (MSI)、Genomically stable (GS)、 Chromosome instability (CIN)の4型に分類するMolecular phenotypeの概念を提唱した（TGCA分類）[5]。この概念と病理学的分類にはある程度の相関は確認されているが、不明な点も多く、概念の臨床応用が課題となっていた。

２．研究の目的

本研究では、病理組織像とMolecular phenotypeを組み合わせて中分化腺癌の層別化を行い、各群の臨床病理学的特徴を明らかにし、各群別の診断・治療方針の指針を示すことを目的とした。

３．研究の方法

研究者所属施設において切除され保管されている早期胃癌のホルマリン固定パラフィン包埋標本のうち、外科的に切除された粘膜下層浸潤癌（pT1b癌）894例と、内視鏡的に切除された粘膜内癌32例を用いた。保存されていたHE染色標本を見直し、病理組織学的評価（組織分化度ならびに特徴的構造異型、粘膜内成分と粘膜下成分の組織学的所見、リンパ管侵襲、静脈侵襲、潰瘍合併の有無、粘膜下層浸潤度、腫瘍内・腫瘍周囲リンパ球浸潤）を行った。また、中分化腺癌の中でも細胞異型度が低く、「手繋ぎ型」と呼ばれる特徴的な分岐吻合腺管構造を示す横這型胃癌（Crawling-type adenocarcinoma、 CTAC）[6]であるか否かについても評価した。

Molecular phenotypeに関しては、免疫染色とin situ hybridizationを組み合わせてTGCA分類に近似した群分けが可能とされるSetiaらの方法（Setia分類）を用いて行った。組織学的評価結果と、Setia分類との関連を検討した。また粘膜内癌32例については、胃底腺細胞への分化傾向を示すもの（胃底腺型）が16例、通常型とされる腸型形質を示すものが16例含まれていたが、病理組織学的評価、免疫組織化学的評価に加えて、microRNA microarrayを用いてmicroRNAの発現を調べ、階層的クラスタリングにより両者の差異を検討した。

４．研究成果

中分化腺癌の成分を多く含むことが確認された腫瘍群のうち、(1)複数の組織型が混在する胃癌、(2)EBV群、(3)MSI群の3群に注目して以下の結果を得た。また、副次的検討を行い、(4)胃底腺型腺癌について以下の結果を得た。

(1)複数の組織型が混在する胃癌に対する検討

外科手術例898例のうち、高分化～中分化腺癌と低分化腺癌の成分の双方を含む胃癌（以下混合型）を抽出し検討した。混合型は400例と全体の44.5%を占めていた。Setia分類との対応では、EBV群71例のうちで混合型は42例（73%）、MSI群67例のうちで混合型は42例（67%）を占め、両者において混合型は主たる組織型であることがわかった。また、Molecular phenotypeとは異なるが初年度に主に解析を行った横這型癌（crawling-type adenocarcinoma、 CTAC）に注目すると、CTAC 52例中、混合型の占める割合は45例（87%）ときわめて高かった。リンパ節転移については、混合型のリンパ節転移率は23.5%（400例中94例）と他の純粋型（494例中92例、18.6%）に比して高い傾向にあった。特に粘膜内と粘膜下層の双方に混合組織型を認める場合のリンパ節転移率は32.1%とより高く、リンパ節転移の点で悪性度の高い群として抽出された。

(2)EBV群における臨床病理学的特徴とリンパ節転移に関する検討

外科手術例 898 例のうち、EBV 群は 71 例（7.9%）を占めており、非 EBV 群に比して有意に男性に多く、胃近位側に多く、隆起型を示すことが多く、潰瘍合併率が低く、粘膜下層深部側への浸潤が多かった。EBV 群のリンパ節転移率は 4.2%で、非 EBV 群(21.9%)に比して有意に低く、多変量解析でも非 EBV は独立したリンパ節転移危険因子となった。特に、脈管侵襲陰性の EBV 群では転移症例は無く、粘膜下層深部浸潤癌であっても脈管侵襲陰性であれば局所切除のみで根治する可能性があると考えられた。

(3)MSI 群におけるリンパ節転移頻度とリンパ節転移危険因子に関する検討

外科手術例 898 例のうち、MSI 群は 67 例(7.5%)を占めており、非 MSI 群に比して有意に高齢で、胃遠位側に多く、隆起型がやや多く、潰瘍合併率が低く、分化型成分を含むものがより多く、脈管侵襲陽性率がより高いことが示された。リンパ節転移陽性率は 23.1%であり、非 MSI 群(20.4%)との間に有意な差は認められなかった。

(4)粘膜内癌に対する microRNA 解析

胃底腺型では通常型腺癌に比して、miR-548q の発現が有意に高く、miR-135b の発現が有意に低いことがわかった。通常型胃癌と区別される特徴があり、とりわけ低悪性度であることを支持する所見であった。

＜引用文献＞

[1] Nakamura K, Sugano H, Takagi K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. Gan. 1968;59:251-8.
[2] Laurén P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histoclinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand. 1965;64:31-49.
[3] Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. Gastric Cancer. 2011;14:101-12.
[4] Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al. WHO classification of tumours of the digestive system. 4th ed. Lyon: IARC press; 2010.
[5] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. Nature. 2014;513:202-9.
[6] Okamoto N, Kawachi H, Yoshida T, et al. ‘Crawling- type’ adenocarcinoma of the stomach: a distinct entity preceding poorly differentiated adenocarcinoma. Gastric Cancer 2013;16:220-232.

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計6件（うち査読付論文　5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 Osumi H, Kawachi H, Yoshio T, Ida S, Yamamoto N, Horiuchi Y, Ishiyama A, Hirasawa T, Tsuchida T, Hiki N, Takeuchi K, Fujisaki J.	４．巻 54
２．論文標題 Epstein-Barr virus status is a promising biomarker for endoscopic resection in early gastric cancer: proposal of a novel therapeutic strategy.	５．発行年 2019年
３．雑誌名 J Gastroenterol	６．最初と最後の頁 774-783
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-019-01562-0	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 Osumi H, Kawachi H, Murai K, Kusafuka K, Inoue S, Kitamura M, Yoshio T, Kakusima N, Ishihara R, Ono H, Yamamoto N, Sugino T, Nakatsuka S, Ida S, Nunobe S, Bando E, Omori T, Takeuchi K, Fujisaki J	４．巻 22
２．論文標題 Risk stratification for lymph node metastasis using Epstein-Barr virus status in submucosal invasive (pT1) gastric cancer without lymphovascular invasion: a multicenter observational study.	５．発行年 2019年
３．雑誌名 Gastric Cancer	６．最初と最後の頁 1176-1182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10120-019-00963-7	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 Osumi H, Fujisaki J, Omae M, Shimizu T, Yoshio T, Ishiyama A, Hirasawa T, Tsuchida T, Yamamoto Y, Kawachi H, Yamamoto N, Igarashi M.	４．巻 20
２．論文標題 Clinicopathological features of Siewert type II adenocarcinoma: comparison of gastric cardia adenocarcinoma and Barrett's esophageal adenocarcinoma following endoscopic submucosal dissection.	５．発行年 2017年
３．雑誌名 Gastric Cancer	６．最初と最後の頁 663-670
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10120-016-0653-x	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 河内洋	4．巻 52
2．論文標題 横這型胃癌・手つなぎ型腺管癌	5．発行年 2017年
3．雑誌名 胃と腸	6．最初と最後の頁 702
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Osumi H, Kawachi H, Yoshio T, Fujisaki J	4．巻 32
2．論文標題 Clinical Impact of Epstein-Barr Virus Status on the Incidence of Lymph Node Metastasis in Early Gastric Cancer	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Dig Endosc	6．最初と最後の頁 316-322
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/den.13584	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 Tsugeno Y, Nakano K, Nakajima T, Namikawa K, Takamatsu M, Yamamoto N, Fujisaki J, Nunobe S, Kitagawa M, Takeuchi K, Kawachi H	4．巻 Publish Ahead of Print
2．論文標題 Histopathologic Analysis of Signet-ring Cell Carcinoma In Situ in Patients With Hereditary Diffuse Gastric Cancer	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Am J Surg Pathol	6．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000001511	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5件（うち招待講演　1件／うち国際学会　3件）

1．発表者名 Hiroshi Kawachi
2．発表標題 miRNA expression profile of gastric fundic gland-type neoplasm
3．学会等名 11th Joint Meeting of the British Division of the International Academy of Pathology and the Pathological Society of Great Britain & Ireland（国際学会）
4．発表年 2018年

１．発表者名 Hiroshi Kawachi
２．発表標題 Classification of gastric carcinoma: heterogeneity and recent advances
３．学会等名 The XI Ecuadorian National Congress of Pathology（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2018年

１．発表者名 Hiroshi Kawachi
２．発表標題 Histopathologic diagnosis and problems in gastric carcinoma with mixed histology
３．学会等名 The 91st Annual Meeting of Japanese Gastric Cancer Association
４．発表年 2019年

１．発表者名 小林真季、河内洋、高松学、長野裕子、城間翔、平澤俊明、山本智理子、藤崎順子、石川雄一
２．発表標題 miRNA expression profile of gastric fundic gland-type adenocarcinoma
３．学会等名 第90回日本胃癌学会総会
４．発表年 2018年

１．発表者名 Kato Y, Kawachi H, Kobayashi M, Yamamoto N, Ishikawa Y.
２．発表標題 Anastomosing/crawling-type adenocarcinoma of the stomach.
３．学会等名 31th International Congress of the International Association of Pathology and 28th Congress of the European Society of Pathology（国際学会）
４．発表年 2016年

〔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	山本　智理子 (Yamamoto Noriko) (10280629)	公益財団法人がん研究会・がん研究所　病理部・副部長 (72602)	
研究分担者	小林　真季 (Kobayashi Maki) (20599972)	公益財団法人がん研究会・がん研究所　病理部・研究員 (72602)	