

令和元年6月10日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08655

研究課題名(和文)大腸癌肝転移におけるがん微小環境の解明と組織評価への応用に関する研究

研究課題名(英文) Analysis of cancer associated microenvironment in colorectal liver metastasis and application of histopathological assessment

研究代表者

石田 和之 (ISHIDA, KAZUYUKI)

岩手医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40444004

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)：(1) 大腸癌肝転移巣では化学療法、分子標的薬を施行した群では組織所見が非化学療法群とはそれぞれ異なっており、分子標的薬の有無によっても組織所見は変化していた。(2) 癌関連線維芽細胞の免疫組織学的発現状態は大腸癌の原発巣と比較してリンパ節・肝転移巣において低下する傾向があり、肝転移巣における非化学療法群と化学療法群の間では癌関連線維芽細胞の発現状態に大きな差は見出せなかった。(3) 化学療法後の大腸癌肝転移巣におけるCT画像による形態学的評価は、組織学的に壊死の性質の変化、粘液の有無、腫瘍の生残率によって説明が可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌肝転移の治療の主体は手術療法であり、切除された肝転移巣に対する病理学的評価は予後を予測する因子となることが報告されている。近年では肝転移巣の切除前に化学療法を行う機会が増加しており、今回の研究により、術前化学療法(分子標的治療薬を含む)を行った際の組織学的評価方法が確立された。さらに、大腸癌の原発巣と転移巣の違い、術前化学療法の有無による癌関連線維芽細胞の発現状態が明らかになった。加えて、詳細な組織学的所見に基づいて画像診断に反映されている所見を明らかにしたことで、更なる画像診断の精度向上、予後の推測に寄与するものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：(1) We showed histological findings for every representative chemotherapy regimen including molecular target drug for colorectal liver metastases (CRLM) to clarify the effects of preoperative chemotherapy.

(2) The immunohistological expression status of cancer-associated fibroblasts was lower in metastases of lymph node and liver than in primary colorectal lesions. In addition, there was no difference in immunohistological expression status between CRLM with chemotherapy group and without chemotherapy group.

(3) Morphologic appearance of CRLM after preoperative chemotherapy on contrast-enhanced CT scans was correlated with detailed histologic findings and the histologic tumor response regarding necrosis.

研究分野：病理診断

キーワード：大腸癌肝転移 術前化学療法 病理診断 癌関連線維芽細胞 画像診断

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大腸癌の再発形式として最も頻度が高いのは肝転移であり、肝転移を制御することは大腸癌の予後を期待する上で非常に重要である。大腸癌肝転移の治療の主体は手術療法であり、近年では切除された肝転移巣を病理学的に評価する機会が増加している。大腸癌肝転移巣に対する術前療法の組織学的評価に基づく奏効率の判定は、無病再発率や生存率などの予後を反映することが知られているが、その評価方法は十分なコンセンサスは得られていない。組織所見を評価する上で線維化、壊死、残存する腫瘍細胞をどのように解釈するかがポイントとなる。しかし、特に癌細胞の周囲にみられる間質の評価は困難であり、その機序も理解されていないのが現状である。近年ではがん間質細胞について免疫組織化学的検索が可能となり、病理学的アプローチが可能となった。がん間質と炎症に伴う反応性の間質反応とを区別することが可能となれば、より客観的な組織評価方法が構築できるものと考えられる。さらに、形態学的変化を画像所見により捉える試みが近年では行われ、画像所見による形態学的評価は大腸癌肝転移患者の予後を推測することが知られている。しかし、その画像所見がどのような組織所見を反映しているかは明らかにされておらず、がん間質も含めた組織学的視点により説明することで、画像所見の意味することが明確となり画像診断の進歩に貢献できると考えられる。

### 2. 研究の目的

大腸癌肝転移巣の組織像および癌間質の特徴を、化学療法の有無、原発と転移の視点から明らかにする。さらに、間質も含めた組織所見の評価が術前治療奏功の有無を推測するための画像診断にどのように関連しているかについて検討する。

### 3. 研究の方法

(1) 大腸癌の原発巣、リンパ節転移巣、肝転移の外科的切除検体を対象とした。  
(2) 大腸癌肝転移巣において、a. 術前化学療法 (FOLFOX or FOLFIRI) 群, b. 術前化学療法 + 分子標的薬投与 (FOLFOX or FOLFIRI+BV) 群, c. 非化学療法群との間で組織所見を比較した。  
(3) リンパ節転移陽性大腸癌と肝転移陽性大腸癌において、原発巣、リンパ節転移巣、肝転移巣の癌関連線維芽細胞の免疫組織学的マーカーの発現状況を比較した。原発巣、リンパ節、肝転移巣ともいずれも線維芽細胞増生のみみられる腫瘍先進部を用い、-SMA, CD10, S100A4, D2-40, FAP の免疫染色を行った。  
(4) 術前化学療法が行われた大腸癌肝転移巣における CT morphologic appearance (CT 形態学的評価) と組織所見とを比較した。組織評価には(1)(2)で明らかになった組織評価の基準を用い、複数の病理専門医が臨床情報、画像診断結果を知ることなく評価した。また、画像診断は肝胆膵領域を専門とする複数の放射線専門医が CT morphologic criteria に準じて画像所見を評価した。

### 4. 研究成果

(1) 大腸癌肝転移巣では術前療法群 (a+b) は非化学療法群 (c) に対して、infarct-like necrosis (梗塞様壊死), three zonal change (腫瘍、線維化、壊死の三層構造), cholesterol clefts (コレステリン結晶) が多くみられた。さらに、術前化学療法 + 分子標的薬投与群 (b) は、c 群に対して usual necrosis (腫瘍壊死) の頻度が減少し、infarct-like necrosis, three zonal change, cholesterol clefts は c 群だけでなく a 群に対しても、その頻度が増加していた。すなわち、化学療法、分子標的薬を施行した群では組織所見が非化学療法群とはそれぞれ異なっていた。さらに、infarct-like necrosis, three zonal change, cholesterol clefts, foamy macrophage (泡沫状組織球) のうち 3 つ以上の組織所見が認められた場合には、有意に化学療法の効果が高かった。  
(2) 大腸癌の原発巣とリンパ節あるいは肝転移巣における免疫組織学的な癌関連線維芽細胞の発現状態は、-SMA が原発とリンパ節・肝転移で同等である一方で、D2-40, S100A4 は肝転移巣で低下し、CD10 はリンパ節転移、肝転移巣で低下していた。また、肝転移巣における非化学療法群と化学療法群との間では癌関連線維芽細胞の発現状態に大きな差は見出せず、dangerous halo (周囲肝組織への圧排性浸潤所見) の有無など組織所見との関連も明らかではなかった。  
(3) CT 画像診断における morphologic appearance のうち overall attenuation の所見が heterogeneous mixed homogenous と変化するにつれて組織学的に mucous lake (粘液湖) が増加し、usual necrosis infarct-like necrosis へ変化していた。特に、腫瘍壊死から化学療法の効果による梗塞様壊死への性質の変化を捉えている点が重要と考えられた。Tumor-liver interface は ill-defined variable sharp の順に、infarct-like necrosis が増加し、腫瘍細胞の生残率が低下していた。すなわち、梗塞様壊死を腫瘍が消失したと解釈する新たな組織学的効果判定方法を反映していた。Peripheral rim enhancement の present partially resolved completely resolved への変化は、腫瘍細胞の生残率の減少を反映しており、特に完全奏功かどうかを最も反映していた。組織学的に完全奏功かどうかは予後を推測する上で重要であり、画像診断においてこの所見は予後を推測する重要な因子であった。一方で、間質増生の所見と関連する dangerous halo は、CT morphologic appearance の評価方法から推測することは困難であり、今後の検討課題と考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 19 件)

1. Ishida K, Yamashita R, Osakabe M, Uesugi N, Yamada N, Nitta H, Fujishima F, Motoi F, Suzuki H, Shimamura H, Noda Y, Sawai T, Unno M, Sasano H, Sasaki A, Sugai T. Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition Proteins in Pancreatic Anaplastic (Undifferentiated) Carcinoma. *Pancreas*. 2019 Jan;48(1):36-42. doi: 10.1097/MPA.0000000000001199. 査読有.
2. Ishida K, Tamura A, Kato K, Uesugi N, Osakabe M, Eizuka M, Hasegawa Y, Nitta H, Otsuka K, Sasaki A, Ehara S, Sugai T. Correlation between CT morphologic appearance and histologic findings in colorectal liver metastasis after preoperative chemotherapy. *Abdom Radiol (NY)*. 2018;43(11):2991-3000. doi: 10.1007/s00261-018-1588-y. 査読有.
3. Sugai T, Eizuka M, Fujita Y, Kawasaki K, Yamamoto E, Ishida K, Yamano H, Suzuki H, Matsumoto T. Molecular Profiling Based on KRAS/BRAF Mutation, Methylation, and Microsatellite Statuses in Serrated Lesions. *Dig Dis Sci*. 2018;63(10):2626-2638. doi: 10.1007/s10620-018-5167-4. 査読有.
4. Sasaki K, Sugai T, Ishida K, Osakabe M, Amano H, Kimura H, Sakuraba M, Kashiwa K, Kobayashi S. Analysis of cancer-associated fibroblasts and the epithelial-mesenchymal transition in cutaneous basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, and malignant melanoma. *Hum Pathol*. 2018;79:1-8. doi: 10.1016/j.humpath.2018.03.006. 査読有.
5. Kakisaka K, Suzuki Y, Fujiwara Y, Abe T, Yonezawa M, Kuroda H, Ishida K, Sugai T, Takikawa Y. Evaluation of ballooned hepatocytes as a risk factor for future progression of fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2018;53(12):1285-1291. doi: 10.1007/s00535-018-1468-9. 査読有.
6. Kakisaka K, Endo K, Sugimoto R, Ishida K, Sugai T, Takikawa Y. Budd-Chiari Syndrome and Esophageal Achalasia: Unrecognized Intrahepatic Cholangiocarcinoma Invading Multiple Organs. *Intern Med*. 2018;57(15):2197-2201. doi: 10.2169/internalmedicine.0448-17. 査読有.
7. Fujiwara Y, Kuroda H, Abe T, Ishida K, Oguri T, Noguchi S, Sugai T, Kamiyama N, Takikawa Y. The B-Mode Image-Guided Ultrasound Attenuation Parameter Accurately Detects Hepatic Steatosis in Chronic Liver Disease. *Ultrasound Med Biol*. 2018;44(11):2223-2232. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.06.017. 査読有.
8. Oikawa SI, Shiga K, Saito D, Katagiri K, Ikeda A, Tuchida K, Miyaguchi J, Ishida K, Sugai T. Association between contrast-enhanced ultrasonography and histopathological findings of the metastatic lymph nodes of patients with head and neck cancer: A preliminary study. *Oncol Lett*. 2018 Apr;15(4):4171-4176. doi: 10.3892/ol.2018.7835. 査読有.
9. Endo K, Kuroda H, Kakisaka K, Oikawa T, Sawara K, Ishida K, Sugai T, Takikawa Y. Hepatic Angiomyolipoma Staining in the Post-vascular Phase of Contrast-enhanced Ultrasound Due to the Presence of Macrophages. *Intern Med*. 2018;57(9):1247-1251. doi: 10.2169/internalmedicine.9697-17. 査読有.
10. Yamada N, Sugai T, Eizuka M, Tsuchida K, Sugimoto R, Mue Y, Suzuki M, Osakabe M, Uesugi N, Ishida K, Otsuka K, Matsumoto T. Tumor budding at the invasive front of colorectal cancer may not be associated with the epithelial-mesenchymal transition. *Hum Pathol*. 2017;60:151-159. doi: 10.1016/j.humpath.2016.10.007. 査読有.
11. Sugai T, Habano W, Takagi R, Yamano H, Eizuka M, Arakawa N, Takahashi Y, Yamamoto E, Kawasaki K, Yanai S, Ishida K, Suzuki H, Matsumoto T. Analysis of molecular alterations in laterally spreading tumors of the colorectum. *J Gastroenterol*. 2017;52(6):715-723. doi: 10.1007/s00535-016-1269-y. 査読有.
12. Uesugi N, Sugai T, Sugimoto R, Eizuka M, Fujita Y, Sato A, Osakabe M, Ishida K, Koeda K, Sasaki A, Matsumoto T. Clinicopathological and molecular stability and methylation analyses of gastric papillary adenocarcinoma. *Pathology*. 2017;49(6):596-603. doi: 10.1016/j.pathol.2017.07.004. 査読有.
13. Tsuchida K, Sugai T, Uesugi N, Ishida K, Matsuura K, Sato I, Shiga K, Sato H. Expression of cell cycle-related proteins in oropharyngeal squamous cell carcinoma based on human papilloma virus status. *Oncol Rep*. 2017;38(2):908-916. doi: 10.3892/or.2017.5720. 査読有.
14. Sugai T, Yamada N, Eizuka M, Sugimoto R, Uesugi N, Osakabe M, Ishida K, Otsuka K, Sasaki A, Matsumoto T. Vascular Invasion and Stromal S100A4 Expression at the Invasive Front of Colorectal Cancer are Novel Determinants and Tumor Prognostic Markers. *J Cancer*. 2017;8(9):1552-1561. doi: 10.7150/jca.18685. 査読有.
15. Kawasaki K, Eizuka M, Nakamura S, Endo M, Yanai S, Akasaka R, Toya Y, Fujita Y, Uesugi N, Ishida K, Sugai T, Matsumoto T. Association between white opaque substance under magnifying colonoscopy and lipid droplets in colorectal epithelial neoplasms. *World J Gastroenterol*. 2017 Dec 21;23(47):8367-8375. doi:10.3748/wjg.v23.i47.8367. 査読有.

16. Takahashi Y, Sugai T, Habano W, Ishida K, Eizuka M, Otsuka K, Sasaki A, Takayuki Matsumoto, Morikawa T, Unno M, Suzuki H. Molecular differences in the microsatellite stable phenotype between left-sided and right-sided colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2016;139(11):2493-2501. doi: 10.1002/ijc.30377. 査読有.
17. Kuroda H, Abe T, Kakisaka K, Fujiwara Y, Yoshida Y, Miyasaka A, Ishida K, Ishida H, Sugai T, Takikawa Y. Visualizing the hepatic vascular architecture using superb microvascular imaging in patients with hepatitis C virus: A novel technique. *World J Gastroenterol*. 2016;22(26):6057-64. doi: 10.3748/wjg.v22.i26.6057. 査読有.
18. Kakisaka K, Ishida K, Kataoka K, Suzuki Y, Yanai S, Kuroda H, Sugai T, Matsumoto T, Takikawa Y. Reversible sclerosing cholangitis with ulcerative colitis. *Pathol Int*. 2016;66(7):404-408. doi: 10.1111/pin.12427. 査読有.
19. Ishida K, Sasano H, Moriya T, Takahashi Y, Sugimoto R, Mue Y, Murakami K, Fujishima F, Nakamura Y, Morikawa T, Motoi F, Suzuki T, Unno M, Sugai T. Immunohistochemical analysis of steroidogenic enzymes in ovarian-type stroma of pancreatic mucinous cystic neoplasms: Comparative study of subepithelial stromal cells in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Pathol Int*. 2016;66(5):281-287. doi: 10.1111/pin.12406. 査読有.

〔学会発表〕(計 32 件)

1. 上杉 憲幸. 粘膜下層浸潤大腸癌における癌関連線維芽細胞および上皮間葉転換関連蛋白発現の免疫組織化学的検討. 第 15 回日本消化管学会. 2019.
2. 永塚 真. SNP array を用いた大腸腺腫、粘膜内癌における分子学的変化 (Molecular alterations in colorectal adenomas and intramucosal adenocarcinomas defined by SNP arrays). 第 77 回日本癌学会総会. 2018.
3. 佐藤 綾香. 大腸進行癌における microRNA 発現の解析. 第 107 回日本病理学会総会. 2018.
4. 佐々木 孝輔. 皮膚悪性腫瘍における癌関連線維芽細胞および上皮間葉転換の解析. 第 107 回日本病理学会総会. 2018.
5. 山田 範幸. 大腸粘膜下層癌におけるリンパ節転移関連因子の解析. 第 107 回日本病理学会総会. 2018.
6. 野坂 大喜. p53 遺伝子変異および p53 splice variant が大腸癌関連遺伝子発現へ及ぼす影響. 第 107 回日本病理学会総会. 2018.
7. 深川 大輔. 卵巣癌における癌関連線維芽細胞および EMT 関連蛋白の免疫組織化学的検討. 第 107 回日本病理学会総会. 2018.
8. 杉本 亮. 腺管分離法を用いた大腸癌の予後因子の検討. 第 107 回日本病理学会総会. 2018.
9. 長谷川 康. 生体肝移植術後早期にタクロリムスによる TMA を発症した一例. 第 54 回日本移植学会総会. 2018.
10. 永塚 真. SNP array を用いた大腸腺腫、粘膜内癌における分子学的変化. 第 14 回日本消化管学会. 2017.
11. 上杉 憲幸. 大腸粘膜下層浸潤癌における癌関連線維芽細胞および上皮間葉転換関連蛋白の免疫組織化学的検討. 第 14 回日本消化管学会. 2017.
12. Ishida K. Correlation between CT morphologic appearance and histologic findings in colorectal liver metastasis with preoperative chemotherapy. Sponsored Symposium: Multidisciplinary therapy for Metastatic Liver tumor of colon cancer. 2nd Eastern and Western Association Liver Tumors (EWALT); 2017; Sendai, Japan.
13. 石田 和之. 腹腔鏡下スリーブ状胃切除時の肝生検組織でみられる indeterminate NASH の臨床病理学的特徴. 第 35 回日本肥満症治療学会学術集会. 2017.
14. 石田 和之. 膝未分化癌(退形成癌)の発生機序に関する免疫組織学的検討. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
15. 大腸 SSA/P における BRAF V600E 遺伝子変異抗体を用いた免疫組織学的解析. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
16. 佐々木 孝輔. 皮膚悪性腫瘍における癌関連線維芽細胞と上皮間葉転換の免疫組織学的検討. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
17. 深川 大輔. 卵巣癌における癌関連線維芽細胞、腫瘍関連マクロファージおよび EMT 関連蛋白の免疫組織化学的検討. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
18. 上杉 憲幸. 大腸粘膜下層浸潤癌における癌関連線維芽細胞および上皮間葉転換関連蛋白の免疫組織化学的検討. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
19. 高橋 弥生. 大腸癌における copy number alteration を用いた層別化解析. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
20. 永塚 真. Sessile serrated adenoma/polyp、SSA/P 癌化例、MSI 陽性大腸癌における分子発現解析. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
21. 熊谷 優里. 大腸癌原発巣とリンパ節転移巣における癌間質の免疫組織学的検討. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
22. 小泉 薫. 大腸鋸歯状腺腫における臨床病理、分子病理学的検討. 第 106 回日本病理学会総

- 会. 2017.
23. 高橋 弥生. 発生部位別に基づいた大腸 MSS(Microsatellite stable)型癌の臨床病理学的及び分子病理学的特徴の解析. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
24. 石田 和之. 化学療法後の大腸癌肝転移巣における CT 所見と病理所見との対比. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
25. 永塚 真. 発生部位に基づいた sessile serrated adenoma/polyp の臨床病理学的及び分子病理学的検討. 第 106 回日本病理学会総会. 2017.
26. 石田 和之. 組織はこんな構築です(肝,胆道を中心に). 肝臓の線維化 ~病理学的見地から~. 日本超音波医学会 第 89 回学術集会. 2016.
27. 和田 直樹. 小腸移植中央病理診断・遠隔システムについて. 第 54 回日本移植学会総会. 2016.
28. 川島 和哉. 大腸癌病期診断のリンパ節転移における point spread function 補正を用いた PET/CT の有用性. 第 78 回日本核医学会北日本地方会. 2016.
29. 加藤 健一. 大腸癌肝転移に対する術前化学療法後の PET および組織学的効果判定の検討. 第 78 回日本核医学会北日本地方会. 2016.
30. 石田 和之. 超音波診断に役立つ甲状腺乳頭癌リンパ節転移の病理像. 第 39 回乳腺甲状腺超音波医学会学術集会. 2016
31. 石田 和之. リンパ節の超音波像に影響を与える病理像. 第 39 回乳腺甲状腺超音波医学会学術集会. 2016.
32. 石田 和之. 術前療法後大腸癌肝転移巣の病理診断 ~組織像,画像との対比~. 第 21 回日本外科病理学会学術集会(ランチョンセミナー);2016;大宮.

〔図書〕(計 件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 菅井 有  
ローマ字氏名: SUGAI TAMOTSU  
所属研究機関名: 岩手医科大学  
部局名: 医学部  
職名: 教授  
研究者番号(8桁): 20187628

### (2)研究協力者

研究協力者氏名:  
ローマ字氏名:

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。