

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460428

研究課題名(和文) 高齢者胃癌の組織学的多様性に対応する遺伝子変化の関連解析

研究課題名(英文) Association of histological diversity and genetic alteration of gastric cancer in the elderly

研究代表者

新井 富生 (ARAI, Tomio)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：20232019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者は組織学的多様性を示す胃癌が多い。胃癌は加齢とともに、遺伝子のスイッチに相当するメチル化によって生じるマイクロサテライト不安定性を示す癌が増加する。胃癌のなかでも充実型低分化腺癌が最も高率にこの変化を示す腫瘍であった。この充実型低分化腺癌は80歳以上女性の幽門部に多く発生し、分化型成分を高率に併存した。胃癌ではKRAS遺伝子変異、BRAF遺伝子変化の比率は低いものの、充実型低分化腺癌では他の胃癌より高率であった。これらの臨床病理像、遺伝子変異から、充実型低分化腺癌は特異な組織型であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Gastric cancer in the elderly shows histological diversity. Gastric cancer with microsatellite instability (MSI) increases with advancing age and solid-type poorly differentiated adenocarcinoma (por1) is histological type which demonstrates the highest proportion of MSI. Pathologically, the por1 cancer is closely related with older age, female predominance, lower third location and concomitant glandular component. Although gastric cancer infrequently shows KRAS and BRAF mutations, the por1 cancer demonstrated rather higher proportion of the mutations. Thus, these results suggest that the por1 cancer is a peculiar type of histology, especially in the elderly women.

研究分野：病理学

キーワード：胃癌 高齢者 ミスマッチ修復遺伝子 マイクロサテライト不安定性

1. 研究開始当初の背景

胃癌の発癌経路は大腸癌に比べ、未だ解明されていない点が多い。胃癌は組織型に基づき分化型癌・未分化型癌の2つに大別されるが、現在までこの組織分類に沿った発癌経路が研究されてきた。しかし胃癌の中には組織学的多様性を示す腫瘍が少なからず存在し、従来の組織分類と発癌経路を一对一で関連づけることには無理がある。そうした中、胃癌をマイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability, MSI) の状態で分類する方法が提案され、胃癌の発生過程は大腸癌と同様に分子病理学的に染色体不安定性経路とMSI経路とに分類する方法が考案された。

一方、高齢者胃癌の臨床病理学的特徴として下部発生、多発癌の増加があげられる。さらに、早期癌では分化型癌が約90%を占めるが進行とともに低分化腺癌成分の占める比率が増加し、約50%を占めるに至ると組織学的多様性を示すことが明らかにされている。このような特徴を示す胃癌はMSIを示すこと、特異な遺伝子変化や臨床病理像を示すことが予測される。

現在まで胃癌の組織型とMSIについての研究として、乳頭腺癌と充実型低分化腺癌との関連が報告されている。乳頭腺癌についてはミスマッチ修復遺伝子を始めとする特定の癌関連遺伝子のメチル化の関与を明らかにした報告がある (Guo RJ, *et al.* Pathol Int 2001; Song JP, *et al.* Int J Oncol 2002)。一方、充実型低分化腺癌については低分化腺癌に分類されているものの、臨床的に肝転移率が高いなど分化型腺癌の転移・増殖様式を示すことが知られている (Adachi Y, *et al.* Cancer 1992)。しかし、遺伝子変化についての研究報告は少ない (Jiao *et al.* Mod Pathol 2006)。したがって、乳頭腺癌と充実型低分化腺癌に関して、MSI以外の遺伝子変化を比較検討する必要がある。

欧米では胃癌の診断はLauren分類 (intestinal typeとdiffuse type)で行うことが多く、日本の分類に準ずるWHO分類を使用している医療機関・研究機関は限定的である。したがって、乳頭腺癌、充実型低分化腺癌ともに、その臨床病理像や遺伝子変化については大部分日本の研究機関からの報告である。組織分類と遺伝子変化と腫瘍増殖を考慮した研究はほとんどされていないのが現状である。

2. 研究の目的

MSIを示す胃癌は、加齢に伴い増加すること、基本的に分化型腺癌で発生し進行とともに未分化型癌に移行すること、加齢にともない特定の遺伝子 (ミスマッチ修復遺伝子の一つであるMLH1遺伝子) のプロモーター領域にメチル化がみられることが知られている。そこで、「MSIを示す分化型胃癌の一部は増殖とともに充実型低分化腺癌に移行する」という仮説をたて、これを証明することを本研究の目的とする。また、病理組織学的に相互の移行像を確認するだけでなく、その増殖様式・生物学的態度を明らかにする。さらに、遺伝子変化に注目し、MSIの比率が高いと予測されている乳頭腺癌、充実型低分化腺癌の発生機序を解明し、治療戦略の一助にすることも目的の一つである。

3. 研究の方法

(1) 高齢者胃癌におけるマイクロサテライト不安定性

高齢者胃癌の連続切除例を用い、MSIと年齢、臨床病理学的事項との関連を検討した。対象は東京都健康長寿医療センターで治療のために外科的に切除された胃癌420例464病変 (男性223例、女性197例、年齢分布51~96歳、中央値78歳) である。ホルマリン固定パラフィン包埋された検体からDNAをフェノール・クロロホルム法で抽出し、BAT25、BAT26の二つのモノヌクレオチドマーカーを用い、MSIを検討した。胃癌の組織型は日本の胃癌取扱い規約の分類を用いた。

(2) 高齢者胃癌に好発する充実型低分化腺癌の解析

高齢者に発生した未分化型進行胃癌78例 (充実型低分化腺癌31例、非充実型低分化腺癌22例、印環細胞癌25例; 男性42例、女性36例、年齢分布58~99歳、中央値77歳) を対象とした。通常の臨床病理学的事項に加え、ミスマッチ修復系蛋白質発現、粘液形質、p53発現を免疫組織学的に、KRAS遺伝子変異 (コドン12、コドン13)、BRAF遺伝子変異 (V600E) を polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法を用い検討した。また、特殊な充実型低分化腺癌である Epstein-Barr ウイルス (EBV) 関連胃癌との異同を検討するために、EBV感染について *in situ* hybridization 法で検討した。

4. 研究成果

(1) マイクロサテライト不安定性と臨床病理学的事項との関連

MSI の比率は 65 - 74 歳 8.5%、75 - 84 歳 18.4%、85 - 99 歳 35.3%であり、加齢とともに有意に増加した。MSI を示す胃癌の特徴は、高齢、女性、幽門部発生との関連がみられた。組織型では、充実型低分化腺癌 (43.0%)、乳頭腺癌 (32.5%) で有意に高率であった (表 1)。MSI を示す早期癌では分化型成分が優位であったが、MSI を示す進行癌では差がなかった。また、早期癌と進行癌とで分化型、未分化型、混合型と MSI の頻度を検討した結果、早期癌では有意に分化型癌の成分との関連がみられた (P=0.02、表 2)。

表 1 組織型と MSI との関連

組織型	MSI 頻度
高分化管状腺癌	10.5% (13/124)
中分化管状腺癌	14.3% (19/133)
乳頭腺癌	32.5% (13/40)
充実型低分化腺癌	43.0% (34/79)
非充実型低分化腺癌	0% (0/41)
印環細胞癌	2.8% (1/36)
粘液癌	18.2% (2/11)

表 2 MSI と組織型、進行度との関連

組織型	MSI	MSS	P 値
早期癌 (pT1)			
分化型	25	139	0.02
未分化型	11	33	
混合型	0	28	
進行癌 (pT2-4)			
分化型	15	63	0.95
未分化型	14	56	
混合型	17	63	

(2) 充実型低分化腺癌の臨床病理学的、分子病理学的検討

充実型低分化腺癌では MSI が 52%、MLH1 蛋白質発現減弱が 58%に認められ (図 1)、非充実型低分化腺癌・印環細胞癌と比較し有意に高率であった (p < 0.0001)。EBV 感染は充実型低分化腺癌の 2 例に認められるのみであった。

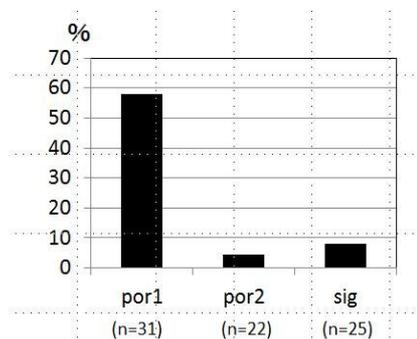


図 1 未分化型胃癌における MLH1 蛋白質発現異常の比率

por1、充実型低分化腺癌；por2、非充実型低分化腺癌；sig、印環細胞癌

KRAS 変異は 11 例、BRAF 変異は 3 例にみられたが、組織別に差は認められなかった。MSI を示す充実型低分化腺癌は、高齢、女性、幽門部発生、MLH1 蛋白質発現減弱、p53 陰性との関連が認められた。また、MSI 示す充実型低分化腺癌は粘膜内または辺縁部に分化型成分を併存する率が有意に高かった (p = 0.02)。KRAS 遺伝子 (コドン 12、コドン 13)、BRAF 遺伝子の変異については、充実型低分化腺癌では KRAS 遺伝子変異が 31 例中 5 例 (16.1%)、BRAF 遺伝子変異が 31 例中 1 例 (3.8%) にみられ (表 3)、胃癌で報告されているこれらの遺伝子変異の頻度 (KRAS 4.2%、BRAF 0.14%) より高率であった。

表 3 分子病理学的結果のまとめ

検討項目	por1	por2	sig	P 値
MSI の状態				
MSI	16	1	1	<0.0001
MSS	15	21	24	
KRAS				
野生型	26	20	21	NS
変異型	5	2	4	
BRAF				
野生型	30	21	24	NS
変異型	1	1	1	

MSI, microsatellite instability ; MSS, microsatellite stable ; por1, 充実型低分化腺癌 ; por2, 非充実型低分化腺癌 ; sig, 印環細胞癌

高齢者胃癌は MSI と関連する腫瘍の占める割合が増加し、早期癌では乳頭腺癌、進行癌では充実型低分化腺癌との関連性が強いことが明らかになった。また、MSI を示す癌は早期癌では腺腔形成を示す分化型癌として発生し、進行とともに組織学的多様性を増し、低分化成分が出現することが示唆された。

このような特徴を示す代表的な腫瘍である充実型低分化腺癌は腺腔形成に乏しいという点で非充実型低分化腺癌、印環細胞癌と類似しているが、臨床病理学的、分子病理学的観点からは異なる腫瘍と考えられた。この遺伝子変異は組織型に関連する現象であるのか否かは今後さらに明らかにすべき課題と考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

新井富生, 松田陽子, 濱保英樹, 関敦子, 野中敬介, 相田順子, 田久保海誉 ; 食道胃接合部癌の病理学的特徴. 胃と腸 査読無, 50 巻, 2015, 1109 - 1117

新井富生, 松田陽子, 相田順子, 田久保海誉. 高齢者がんの臨床病理学的特徴. 日本臨床 査読無, 73 巻, 2015, 1409 - 1417

Lin SJ, Gagnon-Bartsch JA, Tan IB, Earle S, Ruff L, Pettinger K, Ylstra B, van Grieken N, Rha SY, Chung HC, Lee JS, Cheong JH, Noh SH, Aoyama T, Miyagi Y, Tsuburaya A, Yoshikawa T, Ajani JA, Boussioutas A, Yeoh KG, Yong WP, So J, Lee J, Kang WK, Kim S, Kameda Y, Arai T, Zur Hausen A, Speed TP, Grabsch HI, Tan P. Signatures of tumour immunity distinguish Asian and non-Asian gastric adenocarcinomas. Gut 査読有, 64 巻, 2015, 1721-31

DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308252

Sakurai U, Lauwers GY, Vieth M, Sawabe M, Arai T, Yoshida T, Aida J, Takubo K. Gastric high-grade dysplasia can be associated with submucosal invasion: evaluation of its prevalence in a series of 121 endoscopically resected specimens. Am J Surg Pathol 査読有, 38 巻, 2014, 1545-1550.

DOI: 10.1097/PAS.0000000000000274

Parlayan C, Ikeda S, Sato N, Sawabe M, Muramatsu M, Arai T. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in miR-146a and miR-196a2 on the prevalence of cancer in elderly Japanese: a case-control study. Asian Pac J Cancer Prev 査読有, 15 巻, 2014, 2101-2107

DOI: 10.7314/APJCP.2014.15.5.2101

新井富生, 櫻井うらら, 津山直子, 田久保海誉. 最新胃癌学 - 基礎と臨床の最新研究動向 - 分子生物学 DNA 修復遺伝子. 日本臨床 査読無, 72 巻増刊号 1, 2014, 100-104

Arai T, Sawabe M, Honma N, Aida J, Kanazawa N, Kuroiwa K, Takubo K. Frequent microsatellite instability in papillary and solid-type, poorly differentiated adenocarcinoma of the stomach. Gastric Cancer 査読有, 6 巻, 2013, 505-512

DOI: 10.1007/s10120-012-0226-6

[学会発表](計 7 件)

Arai T, Matsuda Y, Aida J, Takubo K.

Frequent microsatellite instability and absent MLH1 expression in solid-type poorly differentiated adenocarcinoma of the stomach. 9th Asia Pacific IAP Congress, Brisbane (Australia), 2015.6.4-7

新井富生, 松田陽子, 濱保英樹, 本間尚子, 相田順子, 田久保海誉. 高齢者胃充実型低分化腺癌の臨床病理学的特徴. 第 104 回日本病理学会総会, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市), 2015.5.1

Arai T, Matsuda Y, Hamayasu H, Honma N, Aida J, Takubo K. Risk classification of polyps and cancer: Impact of pathology to determine the prognosis. International colorectal cancer club (ICRCC), Ulm (Germany), 2014.10.9-10
Arai T, Kinoshita M, Shirahata H, Hamashima Y, Suzuki A, Matsuda Y, Aida J, Takubo K, Grabsch HI. Immunohistochemical detection of trastuzumab binding in gastric cancer: comparison with conventional HER2 immunohistochemistry. 26th Congress of the European Society of Pathology, London (UK), 2014.9.1

新井富生: 日本臨床腫瘍学会・日本癌学会・日本血液学会合同シンポジウム: 高齢者がんの特徴と治療. 高齢者がんの臨床病理学的特徴. 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市), 2014.7.17

Arai T. Cell differentiation in neuroendocrine tumors in gastrointestinal tract: where do neuroendocrine cells come from? *In*: Symposium I. Experience of GEP-NET in Asia-Pacific Area. The 8th Asia-Pacific International Academy of Pathology Congress, Busan (South Korea), 2013.9.7
新井富生, 櫻井うらら, 本間尚子, 相田順子, 沢辺元司, 田久保海誉. 胃乳頭腺癌と充実型低分化腺癌は高頻度にマイクロサテライト不安定性を示す. 第 102 回日本病理学会総会, さっぽろ文芸館 (北海道・札幌市), 2013.6.6

[図書](計 8 件)

新井富生, 神山隆一. 老化. スタンダード病理学 第4版, 文光堂, 東京, pp 136-143, 2015

新井富生. その他の癌 (絨毛癌・未分化

癌). 腫瘍病理鑑別診断アトラス 胃癌
第2版, 東京, pp129-132, 2015

新井富生. 乳頭腺癌. 腫瘍病理鑑別診断
アトラス 胃癌 第2版, 東京, pp48-53,
2015

新井富生. 第11章 老化. シンプル病
理学 改訂第7版, 南江堂, 東京, pp
129-142, 2015

新井富生: 第9章 血管. 下 正宗, 長
嶋洋治 (編) 正常画像と比べてわかる病
理カラーアトラス 第2版, 羊土社, 東
京, pp 140-15, 2015

新井富生: 第8章 心臓. 下 正宗, 長
嶋洋治 (編) 正常画像と比べてわかる病
理カラーアトラス 第2版, 羊土社, 東
京, pp 128-145, 2015

新井富生: 第1章 食道. 下 正宗, 長嶋
洋治 (編) 正常画像と比べてわかる病理
カラーアトラス 第2版, 羊土社, 東京,
pp 16-27, 2015.

田久保海誉, 相田順子, 新井富生. 第8
章 消化器疾患各論 1 食道疾患 1
8 食道悪性腫瘍 腺癌 病理. 浅香正博,
菅野健太郎, 千葉 勉編: カラー版消化
器病学 基礎と臨床. 西村出版, 東京,
pp592-595, 2013

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ttaggg-rtgp.org>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新井 富生 (ARAI, Tomio)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療セ
ンター (東京都健康長寿医療センター研究
所)・東京都健康長寿医療センター研究
所・研究員

研究者番号: 20232019

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

泉山 七生貴 (IZUMIYAMA, Naotaka)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療セ
ンター (東京都健康長寿医療センター研究
所)・東京都健康長寿医療センター研究
所・助手

研究者番号: 10158751