

# 大腸癌肝転移症例におけるCD133発現の免疫組織学的検討

著者	岸川 純子
学位授与年月日	2016-10-26
URL	<a href="http://doi.org/10.15083/00075379">http://doi.org/10.15083/00075379</a>

## 論文の内容の要旨

論文題目：大腸癌肝転移症例における CD133 発現の免疫組織学的検討

氏名：岸川 純子

### 【背景】

大腸癌の罹患者数は増加傾向にあり、2013 年には世界で 700,000 人以上が死亡している。転移を伴う大腸癌の生存率は低率であるが、肝転移が根治切除不能であった症例の 3 年生存率は 5%である一方で、根治切除が可能であった肝転移症例は 63%と良好である。近年では化学療法の進歩により、肝転移切除不可能な症例の約 40%の患者が手術可能となりうることも報告されている。一方で転移巣切除後の大腸癌症例に対し、一律に術後補助化学療法が必要であるとする証拠は示されていないが、この中からハイリスク群を同定し、術後補助化学療法の適応とすることは、さらなる大腸癌肝転移症例の予後改善につながると期待される。

癌の進展や再発については、腫瘍形成能をもつ癌幹細胞が大きな役割を担っているという癌幹細胞説が以前より提唱されている。膜タンパクである CD133 は、そのリガンドは未だ明らかになっていないものの、細胞実験で APC 遺伝子の発現抑制や Wnt 経路との相関が示唆されており、大腸癌をはじめ胃癌や肺癌など多くの癌腫で癌幹細胞マーカーである可能性が示唆されている。大腸癌原発巣における CD133 発現についてはこれまでいくつかの報告がなされており、これらをまとめたメタアナリシスでは大腸癌原発巣における CD133 の発現が全生存率の低下と関連することが示された。その一方、転移巣における CD133 発現についてはこれまで報告がなかったものの、2014 年にはじめて肝転移巣における CD133 発現についての論文が報告され、この中で CD133 発現が陽性である症例が有意に予後良好であり、これまでの大腸癌原発巣についての論文とは異なる結果であることが示され、肝転移に関して更なる検討が必要であることを示唆している。

そこで本研究では、東京大学医学部附属病院で根治手術が施行された大腸癌同時性肝転移症例を対象とし、切除検体を用いて免疫組織学的に原発巣・肝転移巣双方における CD133 発現について検討を行うことにより、(1) 肝転移巣における CD133 発現頻度、(2) CD133 発現と臨床病理学的因子および予後との相関について、そして (3) CD133 の発現は予後マーカーとしての可能性を持つかどうか

かについて明らかにすることを目的とした。

## 【対象および方法】

### 症例と免疫染色

1998 年より 2008 年までに東京大学医学部附属病院で根治手術が施行された大腸癌同時性肝転移症例 88 例を検討対象とした。また、①1991 年より 1995 年までに根治手術を施行された遠隔転移を伴わない 224 症例、また②内視鏡的に切除された大腸ポリープ 114 症例についても検討した。大腸癌の原発巣については最深部の 1 切片を用いて、また大腸癌肝転移症例全例のすべての入手可能な全同時性肝転移巣について各 1 切片を用いて CD133 発現を免疫組織学的に評価した。このうち肝再発を来たして 2 回目の肝切除が施行された 27 例については、2 回目の入手可能な全肝切除検体における CD133 発現についても検討を追加した。また大腸ポリープについては、各病変から中央部の 1 切片を染色に用いた。これらに対し、抗 CD133 抗体 (AC133; Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA) を 1:100 に希釈して免疫染色を行った。

### 免疫染色の評価

CD133 の評価には、5%をカットオフ値として 2 人の医師が臨床所見の不明な状態で施行した。さらに病理医によっても評価を施行し、乖離を  $\kappa$  値で評価した、

### 統計解析

CD133 の発現と臨床病理学的因子の相関の解析には、カイ 2 乗検定、フィッシャーの正確確率検定、Student の t 検定を使用した。全生存率、無再発生存率の評価には Kaplan-Meier 法 (Log-rank test)、およびボンフェローニの方法を用いた。各生存率に関わる因子についての多変量解析には Cox の比例ハザードモデルを用いた。以上の解析は JMP Pro 10 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いて行い、P 値が 0.05 未満となった場合を有意とした。

## 【結果】

### 大腸癌における CD133 発現率

大腸癌肝転移 88 症例中、原発巣における CD133 発現陽性症例 (pCD133+) は 44 例 (50.0%)、陰性症例 (pCD133-) は 44 例 (50.0%) であった。また肝転移巣における CD133 発現陽性症例 (mCD133+) は 50 例 (56.8%)、陰性症例 (mCD133-) は 38 例 (43.2%) であった。すべての同時性肝転移を合計すると、268 個の肝転移中、113 個 (42.2%) が CD133 陽性であった。これらの評

価における  $\kappa$  値は 0.76 であり、良好な一致が得られた。また、原発巣における CD133 発現と、肝転移巣における CD133 発現との間には相関が認められた ( $p < 0.001$ )。

また、対照群①において各 Stage における CD133 陽性症例は、Stage I で 19 例 (44.2%)、Stage II で 38 例 (40.4%)、Stage III で 38 例 (41.4%) であり、Stage IV を加えて比較すると各 Stage 間で有意差を認めなかった ( $p = 0.57$ )。

### 大腸癌における CD133 発現と臨床病理学的因子の相関

原発巣・肝転移巣いずれにおける CD133 発現も、各臨床病理学的因子との相関は認めなかった。対照群①では、他臓器転移を伴わない大腸癌症例における CD133 発現は静脈侵襲と有意な相関を認めた ( $p = 0.037$ )。対照群②では、異型度およびポリープ径が CD133 発現と相関した ( $p = 0.01$ ,  $p = 0.03$ )。

### 大腸癌における CD133 発現と生存率の相関

大腸癌肝転移症例では、原発巣における CD133 発現は生存率との相関を認めなかったが、肝転移においては 5 年無再発生存率はそれぞれ 24.0%、11.0% ( $p = 0.043$ )、全生存率はそれぞれ 63.0%、37.1% ( $p = 0.014$ ) であり、mCD133 陽性症例で有意に良好であった。

### CD133 発現と再発形式

肝転移再発率については、mCD133+症例は mCD133-症例と比較して有意差を認めなかった ( $p = 0.57$ )。しかし肝以外の臓器における再発については、mCD133-症例が mCD133+症例と比較して有意に高い再発率を示した ( $p < 0.001$ )。詳細な検討では、特に肝以外の遠隔転移再発および局所再発について CD133 陰性症例が有意に高い再発率を示した ( $p = 0.47$ ,  $p = 0.010$ )。さらに肝転移再発に対して根治切除を行った 27 例についてさらに免疫組織学的検討を加えたところ、mCD133+症例では 2 回目肝切除を施行された 11 例中 10 例が生存中であるのに対し、mCD133-症例では 16 例中 4 例の生存にとどまった。

pCD133 についても同様に再発形式ごとの検討を行ったところ、mCD133 と同様に、肝転移再発率については pCD133+症例は pCD133-症例と比較して有意差を認めなかった ( $p = 0.97$ )。しかし肝以外の臓器における再発については、pCD133-症例が pCD133+症例と比較して有意に高い再発率を示した ( $p = 0.003$ )。

### 大腸癌肝転移術後の予後予測因子の検討

無再発生存率に関しては、リンパ管侵襲 (risk ratio [RR]: 1.95)、肝転移数 (RR: 1.84)、肝転移

最大径 (RR: 2.05)、および肝転移における CD133 発現陰性 (RR: 1.86) が互いに独立した有意な無再発生存率予測因子として認められた。全生存率については、組織型が高・中分化型腺癌以外 (RR: 3.45)、および肝転移における CD133 発現陰性 (RR: 2.08) が互いに独立した有意な無再発生存率予測因子として認められた。

### 【考察】

本研究にて、大腸癌肝転移治癒切除症例において、肝転移巣での CD133 発現が全生存率のみならず無再発生存率についても独立した予後因子であることが示された。また CD133 陽性症例は陰性症例と比較して肝以外の術後再発が有意に少ないことが示された。さらに、肝転移再発症例の肝切除検体についての免疫組織学的検討からは、mCD133 陰性症例が予後不良である理由として、①mCD133 陰性症例では肝以外の臓器における再発や腹膜播種再発が多く、再手術にもちこめなかった可能性があること、②再手術に持ち込めた場合にも、その後再発する症例が多い傾向にあったこと、の2つの機序が考えられる。また、再発形式ごとの検討により、肝から他臓器への転移は CD133 陰性病変で有意に多いことが示唆された。

これらの結果は、CD133 陽性細胞が癌幹細胞という従来の見解と異なり、mCD133 陰性細胞の悪性度の高さを示唆する結果である。肝における CD133 の発現や幹細胞性については細胞生物学的な裏付けが今後の課題である一方で、これまでの見解とは逆の結果ながら、mCD133 は予後マーカーとしては有用であるともいえる。

以上の結果から、肝転移切除検体において CD133 陰性である症例については、再発ハイリスク症例として術後補助化学療法の適応とすることや、肝以外の遠隔転移や局所再発のサーベイランスを重点的に行うことなどが、実臨床への応用として考えられる。

### 【結論】

大腸癌肝転移における CD133 発現を検討し、以下の結論を得た。

- 1) 大腸癌原発巣と肝転移巣における CD133 発現は相関した。
- 2) 大腸癌肝転移症例の肝転移巣における CD133 陰性症例は有意に予後不良であり、特に肝以外の臓器への再発が多かった。
- 3) 肝転移巣における CD133 発現陰性は独立した予後不良マーカーとなる可能性が示唆された。

本研究が発端となり、大腸癌転移のメカニズムがさらに解明され研究が発展することを期待する。