

博士論文

大腸癌の microsatellite status 別に評価した、術後ポリープ発生に  
についての検討

瀧山 亜希

大腸癌の microsatellite status 別に評価した、術後ポリープ発生に  
についての検討

東京大学大学院医学系研究科 医学博士課程 外科学専攻

指導教員 野澤宏彰准教授

瀧山 亜希

## 目次

略語一覽.....	2
要旨 .....	3
序文 .....	4
背景 .....	6
目的 .....	16
方法 .....	17
結果 .....	26
考察 .....	38
結論 .....	47
謝辞 .....	49
引用文献.....	50

## 略語一覽

AHR: adjusted hazard ratio

APC: adenomatous polyposis coli

BMI: body mass index

CA 19-9: carbohydrate antigen 19-9

CEA: carcinoembryonic antigen

CS: colonoscopy

FAP: familial adenomatous polyposis

IPTW: inverse probability of treatment weighting

LS: Lynch syndrome

MMR: mismatch repair

MSI: microsatellite instability

MSS: microsatellite stable

SD: standard deviation

SSA/P: sessile serrated adenoma/polyp

TSA: traditional serrated adenoma

## 要旨

本研究では、大腸癌に対して外科的切除がなされた症例を対象に、その原発巣の *microsatellite status* の違いによる術後の大腸ポリープ発生のリスクの差異を、傾向スコアを用いて臨床病理学的因子を調整して解析した。その結果、*microsatellite* 不安定性 (*microsatellite instability*; MSI) を有する群は、有さない MSS (*microsatellite stable*) 群と比べて直腸での大腸ポリープ発生リスクが高く、また全大腸における *tubular adenoma* の発生リスクが高いことを見出した。

## 序文

大腸癌は死亡数の多い悪性疾患であり、本邦の 2015 年の人口動態死亡統計によれば、その死亡数は 49,699 人と肺癌に次いで第二位である<sup>1</sup>。大腸癌の一次スクリーニング検査としては便潜血検査が行われ、陽性反応を示した症例には二次検査として下部消化管内視鏡 (colonoscopy、以下 CS) が施行される。CS では大腸癌のスクリーニングだけでなく、その前駆病変である adenoma を発見・治療することが可能であり、これにより大腸癌の罹患リスクが減少する可能性が報告されている<sup>2</sup>。大腸ポリープや大腸癌の既往がなく、便潜血検査や自覚症状を機に CS を受けた 9,112 人の症例の報告では、422 人 (4.6%) に進行癌を認め、2,632 人 (28.9%) に tubular adenoma が発見された<sup>2</sup>。このように、CS による adenoma の発見率は低くはない。特に、大腸癌術後の症例では 17-35% に tubular adenoma が発見されたという報告もあることから<sup>3-5</sup>、術後のサーベイランス CS においても大腸ポリープを発見し、その種類を診断し治療することは重要であると考えられる。

一般に大腸癌の罹患歴は異時性大腸癌発生のリスク因子とされている<sup>6-8</sup>。特に遺伝性大腸癌の症例は異時性大腸癌のハイリスク群であることが知られており、これらの症例は背景粘膜に大腸癌発癌に関するリスクを有している<sup>9</sup>。しかし非遺伝性大腸癌の症例では、背景粘膜のリスク因子を明らかにした報告はない。そこで本研究では、

非遺伝性大腸癌の背景粘膜にも異時性大腸癌やその前駆病変である大腸ポリープの発生リスクを有する症例がある可能性を考え、大腸癌原発巣の特徴と術後に発生したポリープの特徴の関連を検討した。

## 背景

大腸癌を生殖細胞系列における遺伝子変異の有無で分類すると、遺伝性大腸癌と非遺伝性(散発性)大腸癌に二分される。遺伝性大腸癌の代表疾患として、生殖細胞系列に *APC* (adenomatous polyposis coli) 遺伝子変異を有する常染色体優性遺伝形式をとる家族性大腸腺腫症 (familial adenomatous polyposis; FAP) と、主にミスマッチ修復 (mismatch repair; MMR) 遺伝子変異を有する常染色体優性遺伝形式をとるリンチ症候群 (Lynch syndrome; LS) の 2 疾患が知られている。FAP における大腸癌は、放置すれば 60 歳頃までにほぼ 100%発生するため、大腸全摘術もしくは結腸全摘術による予防的大腸切除が推奨される<sup>9</sup>。LS も後述するように高率に大腸癌を発症する遺伝性疾患であるが、LS における予防的大腸切除については有用性に関するコンセンサスがなく推奨されていない<sup>9</sup>。また LS に発生した大腸癌に対する術式も、散発性大腸癌と同等の術式とする場合が多い<sup>9</sup>。

一方で散発性大腸癌では、発癌経路に関する Wnt、TGF- $\beta$ 、PI3K、RAS/RAF、p53 などのシグナル伝達経路に関わる遺伝子の変異が報告されている<sup>10</sup>。しかし散発性大腸癌における異時性大腸癌およびその前駆病変の発生に関連する遺伝学的因子についてのリスクはまだ明らかではない。

大腸癌の発癌過程は代表的な 2 種類の pathway が知られており、その概略を図 1



に示す。Traditional pathway は、*APC* 変異に起因して発生する tubular adenoma を前駆病変とし、さらに *p53* 変異や染色体不安定性などの遺伝子変異が蓄積することにより大腸癌を生じる経路で、全大腸癌の約 7 割を占めるとされる<sup>11,12</sup>。他方の経路である serrated pathway は serrated adenoma である sessile serrated adenoma/polyp (SSA/P) または TSA (traditional serrated adenoma) を前駆病変とした発癌経路である。SSA/P は *BRAF* 変異に関連して発生し、TSA は *BRAF* 変異または *KRAS* 変異に関連して発生する可能性が指摘されている<sup>13,14</sup>。最終的に発生した大腸癌は、microsatellite 不安定性 (microsatellite instability; MSI) の有無に基づき microsatellite 不安定性を有する MSI 癌と MSS (microsatellite stable) 癌に分類される<sup>11,12</sup>。

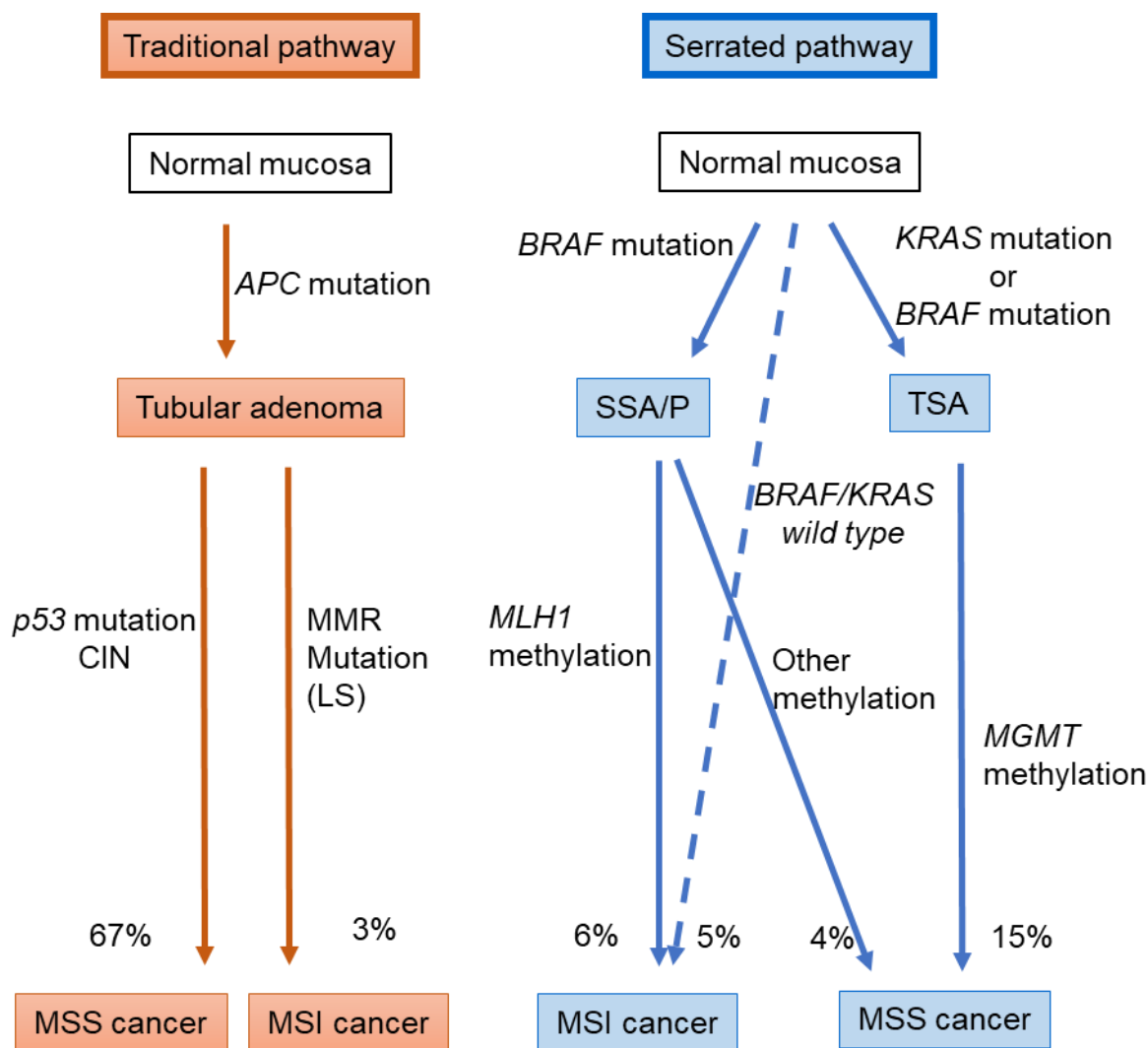


図 1 大腸癌発癌に関する代表的な 2 つの pathway

Traditional pathway では tubular adenoma を前駆病変とし、LS の場合は MSI 癌が、それ以外では MSS 癌が発生するとされる。Serrated pathway では SSA/P から MSI 癌または MSS 癌が、TSA から MSS 癌が発生すると考えられている。ただし前駆病変が不明で *BRAF/KRAS* とも野生型の MSI 癌も 5%程度あるとされる。各々の経路が全大腸癌に占める割合の推定値を%で示した<sup>12</sup>。

SSA/P: sessile serrated adenoma/polyp, TSA: traditional serrated adenoma, MGMT: methylguanine methyltransferase, CIN: chromosomal instability, MMR: mismatch repair, LS: Lynch syndrome, MSI: microsatellite instability, MSS: microsatellite stable

Microsatellite とは、DNA に存在する 1～数塩基の繰り返し配列であり、MMR タンパク質の機能の影響を受けることが知られている。主な MMR タンパク質には MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 があり、MSH2 と MSH6、あるいは MLH1 と PMS2 からなる二量体の複合体を形成することで DNA 複製エラーのうち塩基のミスマッチ（誤対合、誤挿入、欠失）に対する修復機能を発揮する（図 2）。いずれかの MMR タンパク質が機能を失うことでその修復機能が失われ、塩基の欠失や挿入により異常な繰り返し配列が生じた microsatellite ではそのまま複製が行われ（図 3）、変異を有した microsatellite となる。このようにして MMR タンパク質の異常が microsatellite の変異として反映される。Microsatellite に変異を有する状態を microsatellite instability (MSI) と呼ぶ。一方、MMR タンパク質が正常に機能し microsatellite の反復回数に変異がない状態を MSS と呼ぶ。Microsatellite status とは、microsatellite の不安定性に関する状態をさす。欧米での全大腸癌における MSI 癌の割合は 14-20%程度とされている<sup>12,15,16</sup>。この中で traditional pathway を介する LS の大腸癌は全大腸癌のわずかに 2-4%程度とされており<sup>17,18</sup>、MSI 癌の大部分は serrated pathway における体細胞系列の MLH1 上流のメチル化によると考えられている。一方の MSS 癌については、tubular adenoma 経路が 67%、serrated adenoma 経路が 19%程度と推定されている（図 1）。以上から、MSS 癌の主な前駆病変は tubular adenoma、MSI 癌の主な前駆病変は SSA/P とされている。

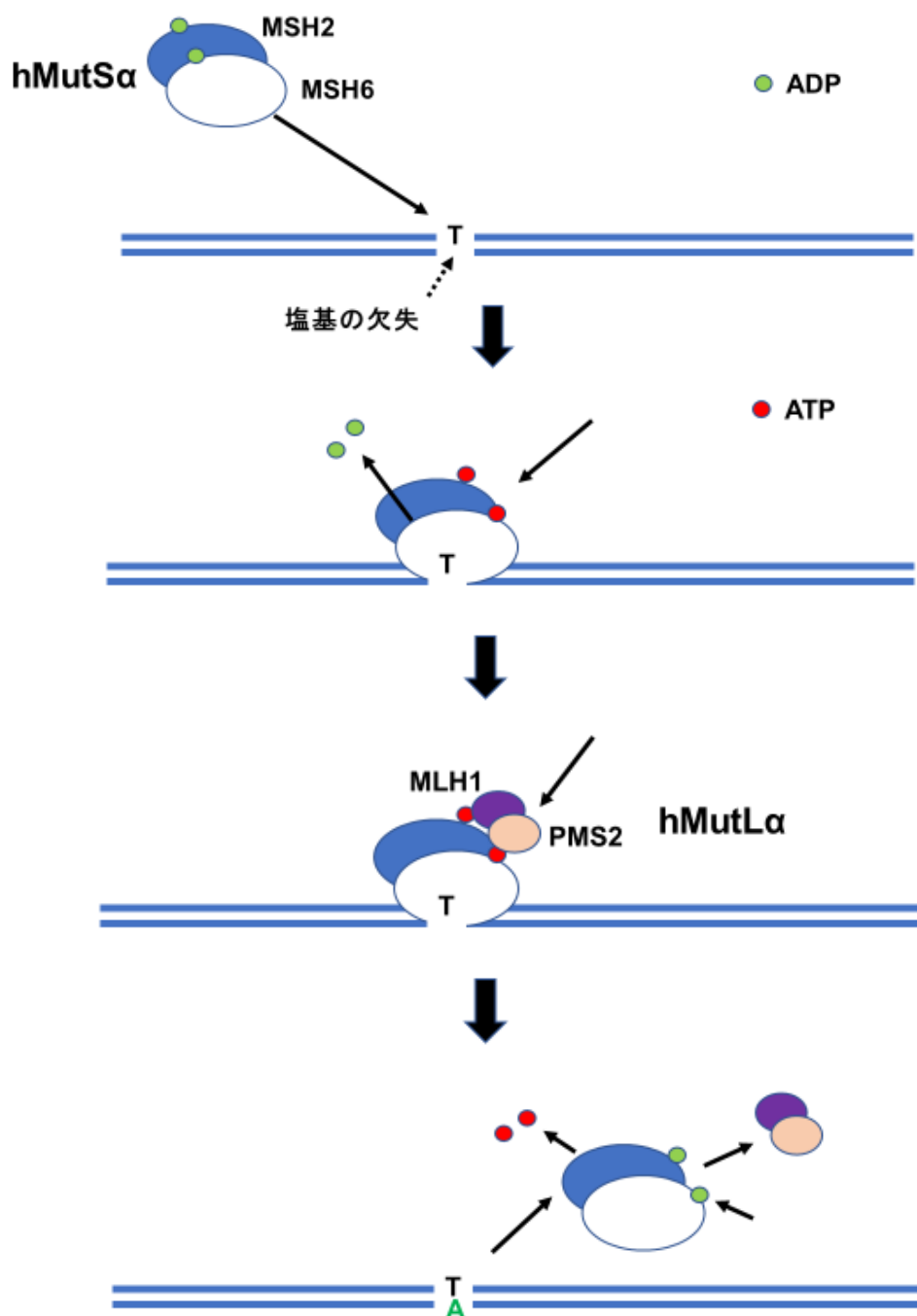


図2 MMR タンパク質の DNA 複製エラーに対する修復機構のシェーマ (Grady らの図を改変<sup>19)</sup>)

DNA の複製エラー部位(図の例では塩基の欠失部)を MSH2・MSH6 の二量体 (hMutSα) が認識して DNA に結合し、ADP を ATP に変換する。ATP を目印に MLH1・PMS2 の二量体 (hMutLα) が hMutSα に結合し、点変異や挿入の複製エラーでは異常な DNA の切除ののちに、DNA の再合成による修復を行う。修復が終了すると MMR タンパク質は ATP を ADP に変換して DNA からリリースされる。

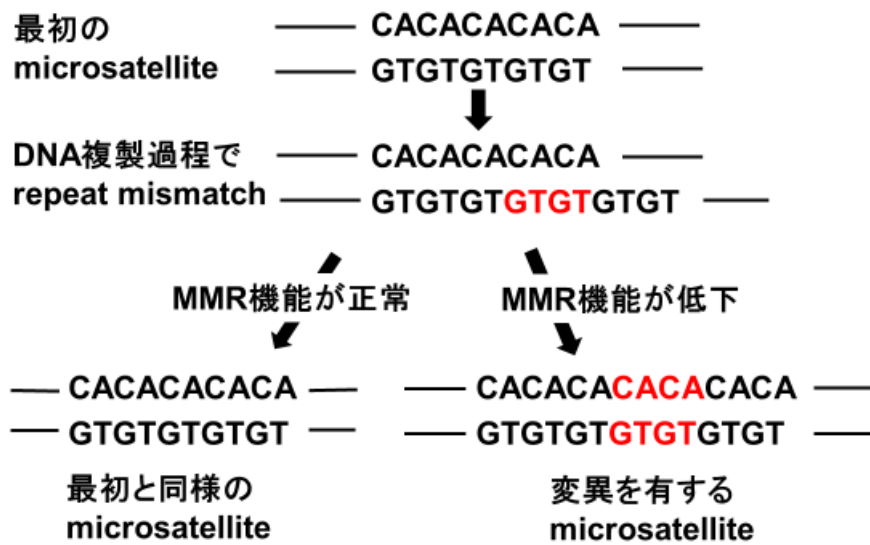


図3 MMRとmicrosatellite の関係

DNA の複製過程で起きた複製エラーが MMR タンパク質で修正されれば最初と同様の microsatellite、MMR タンパク質が機能せず修復されなかった場合は変異を有する microsatellite となる。

LSは高率に大腸癌を発症する疾患であり、大腸癌の浸透率は、70歳までに男性で54～74%、女性で30～52%とされている<sup>9</sup>。LSについて、その背景粘膜が有する発癌リスクの観点から説明すると、MMR 遺伝子の片側アレルに生殖細胞系列で病的変異を有した状態が LS の疾患の本態である(図 4)。ただしこの時点では、もう片方のアレルが野生型であるため MMR 機能は多くの場合正常である。この野生型アレルに後天的に変異やプロモーター領域のメチル化が加わると、MMR 機能は失われる。その結果、DNA 複製エラーを修復できず、発癌のリスクが高まる。このように LS の背景粘膜は、たとえ MMR 機能が正常であってもすでに片側アレルの先天的変異があり、発癌リスクを有した状態であると言える。

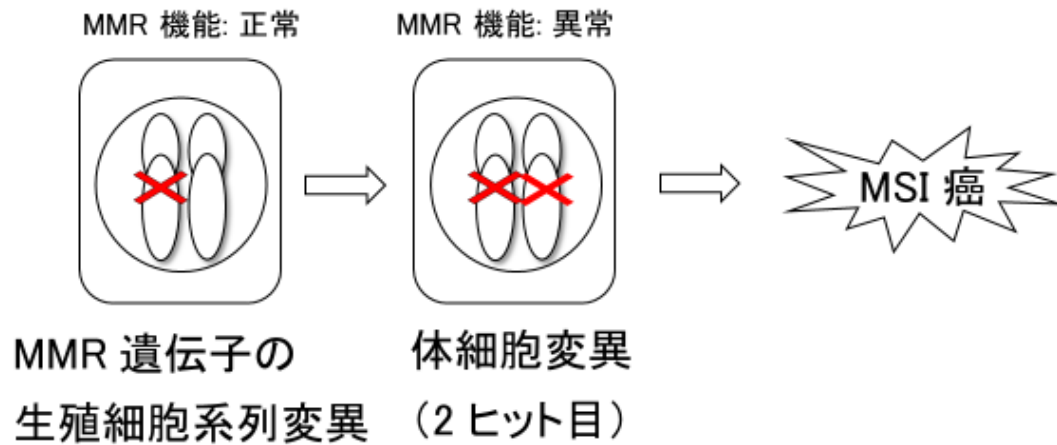


図4 リンチ症候群(LS)における大腸癌発生のメカニズム(遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2016 年版より改変<sup>9)</sup>)

MMR 遺伝子 (*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2*) のどれか1つの片側アレルに生殖細胞系列で病的変異を有しているが、対立アレルが野生型であれば MMR 機能は多くの場合正常である。しかし、その野生型アレルに後天的な遺伝子変異が生じたりプロモーター領域のメチル化が起こるなどして MMR 機能が失われると、大腸癌発生のリスクが高まる。発生した大腸癌の多くが MSI を示す。

一方、非遺伝性大腸癌においても、後天的な要因で背景粘膜に遺伝子変異が蓄積されて大腸癌の発癌リスクが高くなっている症例があるのではないかと、この仮説を唱えたのが Slaughter であり、field cancerization の仮説と呼ばれている<sup>20</sup>。現在では、片側アレルに後天的に genetic あるいは epigenetic な体細胞変異、つまり遺伝子的素因が蓄積して大腸癌発癌のリスクとなる可能性などが考えられているが<sup>21-26</sup>、いまだに確定的な証明はなされていない。前述した大腸癌発癌の pathway (図 1)にあるように、MSS 癌の多くが traditional pathway から発生しその主な前駆病変は tubular adenoma であるのに対し、MSI 癌の多くが serrated pathway から発生しその主な前駆病変は SSA/P である。すなわち大腸癌の microsatellite status を調べることで、その大腸癌がどちらの pathway に由来するか推測される。MSI 癌と MSS 癌でそれぞれの背景粘膜の遺伝子変異を比較・検討すべきであるが、本研究では、それぞれの背景粘膜から術後に発生した大腸ポリープの特徴を調べ、MSI 癌または MSS 癌との関連を検討することとした。また、非遺伝性大腸癌を対象とするために、臨床的所見から容易に鑑別できる FAP は除外したが、臨床的所見では非遺伝性大腸癌と区別のつかない LS の除外は困難であるため、LS のスクリーニングに関する項目を複数検討することとした。

なお、MSI 癌と MSS 癌の症例で臨床病理学的因子に有意差が生じていた場合は、



これを考慮して解析を行うことが望ましい。これまで大腸癌の予後に関する研究で傾向スコアを使用した報告はいくつかあるが<sup>27,28</sup>、術後の大腸ポリープの研究において傾向スコアを使用した分析は報告されていない。よって本研究では2群間の患者背景因子の有意差の調整に傾向スコアを用いることとした。

## 目的

大腸癌に対して外科的切除がなされた症例を対象に、MSI 大腸癌と MSS 大腸癌の症例の臨床病理学的因子の特徴を明らかにする。

さらに MSI 大腸癌と MSS 大腸癌の症例において、術後に発生する大腸ポリープの特徴を明らかにする。

## 方法

### 【症例】

2008 年 1 月から 2013 年 12 月までに東京大学医学部附属病院大腸・肛門外科で大腸癌と診断され原発巣を切除した症例を対象とし、後ろ向きにデータを収集した。ただし FAP や炎症性腸疾患関連大腸癌、吻合部再発を認めた症例、大腸全摘術もしくは結腸全摘術を受けた症例、および術後のサーベイランス時に adenoma と考えられたポリープを切除しなかった症例は除外した。原則として術前に CS を施行され、副病変であるポリープが発見された場合、adenoma と考えられかつ手術時の切除範囲に含まれないと判断されれば内視鏡的に切除された。閉塞性大腸癌や緊急に大腸切除を必要とし術前に CS を施行されなかった症例、または術前に同定されていたが切除されなかった adenoma を有する症例は、術後早期に CS を施行された。

本研究では、clean colon を大腸に adenoma および大腸癌がない状態と定義した。術前に全ての adenoma 切除がなされた症例については、手術日すなわち原発巣切除日を clean colon 達成日とした。ただし術前に CS を施行されなかった等の理由で術後 1 年以内に CS で adenoma を切除した場合は、これを切除した日を clean colon 達成日とした。

大腸癌術後 1 年以内に clean colon を達成し、かつその後もサーベイランス CS を 1

回以上受けた症例を最終的な研究対象とした。

本研究は東京大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を受けて施行した(審査番号 G3252-(5))。

### 【臨床病理学的因子】

対象となった症例の年齢、性別、原発巣の stage、アムステルダム基準Ⅱ<sup>29</sup>(表 1)への該当の有無、改訂ベセスダ基準<sup>30</sup>(表 2)への該当の有無、大腸癌以外の悪性腫瘍の既往の有無、大腸癌以外の LS 関連腫瘍の既往の有無、body mass index (BMI)、術前 carcinoembryonic antigen (CEA) および carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) の値、喫煙歴、飲酒歴、同時性大腸ポリープの有無、原発巣の占居部位、原発巣の組織型、術後補助化学療法の有無を検討した。原発巣の stage 分類は大腸癌取り扱い規約(第 8 版)に基づいた<sup>31</sup>。原発巣の占居部位は右側結腸(盲腸、上行結腸、横行結腸)と左側結腸(下行結腸、S 状結腸)および直腸の 3 領域に分類した。原発巣の組織型は WHO の ICD-O-3<sup>32</sup>に基づき高分化型、中分化型、低分化型の 3 種類に分類した。同時性大腸癌の症例についてはより深達度の深い癌、同じ深達度の場合はより長径の大きい癌を採用した。アムステルダム基準Ⅱと改訂ベセスダ基準、および LS 関連腫瘍の既往は、除外できなかった LS の症例が MSI 群に含まれているかのスクリー

ニングとして検討した。

表 1. アムステルダム基準 II (1999)

<p>少なくとも 3 人の血縁者がリンチ症候群関連腫瘍(大腸癌、子宮内膜癌、腎盂・尿管癌、小腸癌)に罹患しており、以下のすべてを満たしている。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 1 人の罹患者はその他の 2 人に対して第 1 度近親者*である。</li> <li>2. 少なくとも連続する 2 世代で罹患している。</li> <li>3. 少なくとも 1 人の癌は 50 歳未満で診断されている。</li> <li>4. 腫瘍は病理学的に癌であることが確認されている。</li> <li>5. FAP が除外されている。</li> </ol>
--

\*: 遺伝的に 1/2 を共有する、親、子、同胞を指す。

FAP: familial adenomatous polyposis

表 2. 改訂ベセスダ基準 (2004)

<p>以下の項目のいずれかを満たす大腸癌患者には、腫瘍の MSI 検査が推奨される。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 50 歳未満で診断された大腸癌。</li> <li>2. 年齢に関わりなく、同時性あるいは異時性大腸癌あるいはその他のリンチ症候群関連腫瘍**がある。</li> <li>3. 60 歳未満で診断された MSI-H の組織学的所見***を有する大腸癌。</li> <li>4. 第 1 度近親者が 1 人以上リンチ症候群関連腫瘍に罹患しており、そのうち一つは 50 歳未満で診断された大腸癌。</li> <li>5. 年齢に関わりなく、第 1 度あるいは第 2 度近親者の 2 人以上がリンチ症候群関連腫瘍と診断されている患者の大腸癌。</li> </ol>
---

\*\*：大腸癌、子宮内膜癌、胃癌、卵巣癌、膵癌、胆道癌、小腸癌、腎盂・尿管癌、脳腫瘍(通常はターコット症候群にみられる膠芽腫)、ムア・トレ症候群の皮脂腺腫や角化棘細胞腫

\*\*\*：腫瘍内リンパ球浸潤、クローン様リンパ球反応、粘液癌・印環細胞癌様分化、髄様増殖

MSI-H: microsatellite instability-high

## 【MSI の解析】

従来 MSI のマーカーとしては *BAT25*、*BAT26* に加えて *D2S123*、*D5S346*、*D17S250* の 5 マーカーで分析を行うことが推奨されている<sup>33</sup>。しかし近年では *BAT25* と *BAT26* の 2 つのマーカー (もしくは *BAT26* のみ) で十分な検出力があるとされており<sup>34-38</sup>、本研究では *BAT25* と *BAT26* の 2 マーカーで分析を行う方針とした。なお、MSS と判定された症例のうちランダムに抽出した症例に対して *D2S123*、*D5S346*、*D17S250* の 3 マーカーを追加分析して検討した。*BAT25*、*BAT26*、*D2S123*、*D5S346*、*D17S250* のプライマー配列を表 3 に示した。

対象症例ごとに、大腸の背景粘膜と腫瘍組織から組織片を採取し可及的速やかに液体窒素で冷凍し、-80℃で保存した。組織片から QIAamp DNA mini kit (Qiagen、CA、USA) を用いて DNA を抽出し、MSI のマーカーを PCR 法により増幅した。PCR 反応は、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.9 mM dNTP 混合液、0.15 μM のプライマー、20 ng の DNA 抽出物、そして AmpliTaq Gold DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific、MA、USA) 0.4 units に 1×PCR Gold Buffer を加えて全量を 10 μl としたのち、thermal cycler (GeneAmp PCR system 9700、Applied Biosystems、CA、USA) を用いて以下の手順で行った。95℃ 10 分間で DNA ポリメラーゼを活性化したのち、(95℃ 30 秒間→60℃ 60 秒間→72℃ 60 秒間) x 35 サイクルで施行し、最後に 70℃ 30 分間を追加した。

95°C 5 分間の熱変性ののち、ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて PCR 増幅産物を電気泳動し、GeneScan version 3.7 ソフトウェア (Applied Biosystems) と Genotyper version 2.1 ソフトウェア (Applied Biosystems) を用いてマーカーの蛍光色素を解析した。

各々のマーカーについて背景粘膜と腫瘍組織で microsatellite の反復回数に変化がみられたものを microsatellite 変異ありと定義し、*BAT25* と *BAT26* の 2 マーカーでもに変異がみられた腫瘍を MSI-H、1 マーカーにのみ変異がみられた腫瘍を MSI-L とした<sup>30</sup>。また、MSI を示さなかった腫瘍は MSS と定義した。MSI 癌とは MSI-H もしくは MSI-L を示した腫瘍、MSS 癌は MSS であった腫瘍とした。また MSI 群とは原発巣が MSI 癌であった症例群、MSS 群とは原発巣が MSS 癌であった症例群とした。



表 3. プライマーの配列

マーカー		配列
<i>BAT25</i>	Forward	5'-NED-TCGCCTCCAAGAATGTAAGT-3'
	Reverse	5'-TCTGCATTTTAACTATGGCTC-3'
<i>BAT26</i>	Forward	5'-FAM-TGACTACTTTTGACTTCAGCC-3'
	Reverse	5'-AACCATTCAACATTTTAAACCC-3'
<i>D2S123</i>	Forward	5'-HEX-GCCAGAGAAATTAGACACAGTG-3'
	Reverse	5'-CTGACTTGGATACCATCTATCTA-3'
<i>D5S346</i>	Forward	5'-FAM-TACTCACTCTAGTGATAAATCGG-3'
	Reverse	5'-TTCAGGGAATTGAGAGTTACAG-3'
<i>D17S250</i>	Forward	5'-NED-AATAGACAATAAAAAATATGTGTGTG-3'
	Reverse	5'-TATATATTTAAACCATTTGAAAGTG-3'

#### 【術後に発生した大腸ポリープの評価】

Clean colon を達成した後の各回の CS では、adenoma と考えられたポリープはその都度全て切除された。発生部位別、病理組織別に初発のポリープについて、ポリープの長径と共に clean colon 達成日からの期間を計算し解析対象とした。ただし、抗血栓薬内服を中止するなどして、発見より遅れて切除された場合は、最初に発見した日をポリープの同定日として記録した。

大腸ポリープの病理組織型は、大腸癌取り扱い規約(第 8 版)<sup>31</sup> を参考に tubular adenoma、tubulovillous/villous adenoma、serrated adenoma、hyperplastic polyp の 4 種類に分類し、発生部位は右側結腸(盲腸、上行結腸、横行結腸)と左側結腸(下行結腸、S 状結腸)および直腸の 3 領域に分類した。なお長径 1 cm 以上・絨毛成分を含む・high grade adenoma (Tis 癌を含む) の 3 条件のうち少なくとも 1 つの条件を満たす adenoma を advanced adenoma と定義した<sup>39-43</sup>。また術後に発生した異時性大腸癌についても解析することとし、深達度から Tis、T1、T2 以深、に分類した。サーベイランス CS は 2016 年 6 月 30 日までに実施されたものを対象とし、症例毎に clean colon から最終 CS までの期間と CS 回数を記録した。CS は約 1-2 年毎に東京大学医学部附属病院大腸・肛門外科および消化器内科、もしくは関連病院の医師により実施された。

## 【統計解析】

Microsatellite status と臨床病理学的背景因子の関係を統計学的に解析した。カテゴリー変数は「数 (%)」で記載し比較には Pearson の  $\chi^2$  検定、もしくは N が 10 未満の場合は Fisher の正確検定を行った。連続変数は正規分布が仮定できる変数は「平均値 (標準偏差)」で記載し Student の t 検定を、正規分布が仮定できない変数には「中央値 (範囲)」で記載し Mann-Whitney 検定を行った。術後大腸ポリープまたは異時性大腸癌同定までの期間と microsatellite status の関連の分析は、Kaplan-Meier 法で曲線を描き、ポリープ発生率もしくは異時性大腸癌発生率を Log-rank 検定で検討した。また調整ハザード比の算出には、inverse probability of treatment weighting (IPTW) 法を併用し<sup>44</sup>、Cox 比例ハザードモデルに MSI 群には傾向スコアの逆数を、MSS 群には 1 から傾向スコアの逆数をひいた数を個々の症例に重み付けして背景因子の影響を調整し、「調整ハザード比 (95%信頼区間)」と記載した。傾向スコアは MSI 群と MSS 群の 2 群間で有意差のあった臨床病理学的因子をすべて調整対象として算出した。なお解析には JMP 統計ソフトウェアパッケージ ver13 (SAS Institute, Inc., NC, USA) および統計プログラム R (<http://www.R-project.org/>) を用いて行った。

P 値が 0.05 未満であった場合を統計学的に有意とした。

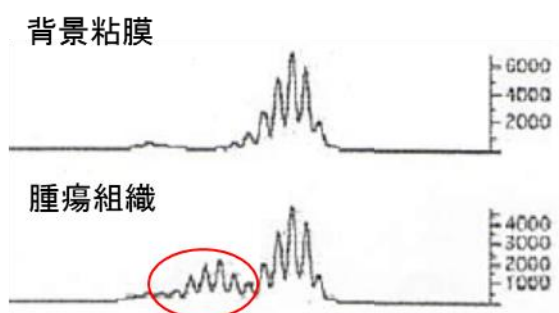
## 結果

### 【MSI の解析】

本研究の対象は 338 症例であった。*BAT25*、*BAT26* の 2 マーカーでの解析では 27 症例 (8.0%) の大腸癌が MSI-H であった。311 症例 (92.0%) は MSS であり、MSI-L の症例は認めなかった。Microsatellite の変異の判定例を図 5 に示す。

なお、MSS と診断された症例のうち、ランダムに選んだ 61 症例 (19.6%) で *D2S123*、*D5S346*、*D17S250* の 3 マーカーを追加した計 5 マーカーでの MSI 判定を行った。全 61 症例で 5 マーカーとも変異陰性であったことから、本研究において MSI の判定を *BAT25*、*BAT26* の 2 マーカーで行うことは許容されると考えた。

### A 変異あり



### B 変異なし

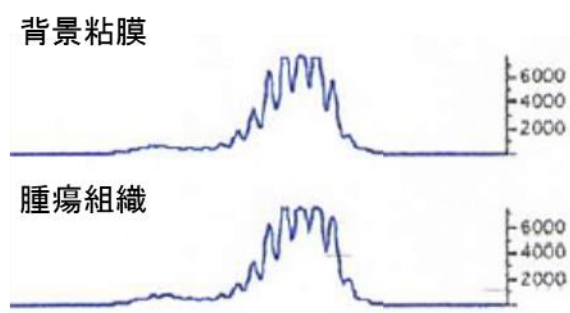


図 5 ピークパターンの違いによる microsatellite の変異の判定例

(A) 変異ありと判定された例 (*BAT25*)。背景粘膜と比較して腫瘍組織において赤丸で囲われた部分にパターンの変化を認めた。(B) 変異なしと判定された例 (*BAT26*)。背景粘膜と腫瘍組織で同じピークパターンを示した。

#### 【臨床病理学的因子の解析】

全症例の **microsatellite status** 別の臨床病理学的因子を表 4 に示す。

MSI 群は MSS 群と比較して、改訂ベセスダ基準を満たす割合が高く (63.0% vs 34.7%,  $P < 0.01$ )、術前 CEA 値が低かった (3.5 ng/ml vs 4.7 ng/ml,  $P = 0.04$ )。また原発巣の占居部位については、MSI 癌は右側結腸に有意に多く存在していた ( $P < 0.01$ )。さらに原発巣の組織型は、MSI 癌は有意に低分化型が多かった ( $P < 0.01$ )。年齢、性別、原発巣の **stage**、アムステルダム基準 II への該当の有無、悪性腫瘍の既往の有無、LS 関連腫瘍の既往の有無、BMI、術前 CA 19-9 値、喫煙歴、飲酒歴、同時性ポリープの有無および術後補助化学療法の有無については 2 群間で有意差を認めなかった。

表 4. 全症例の microsatellite status 別の臨床病理学的因子

		MSI (n=27)	MSS (n=311)	P 値
年齢(才)、mean ± SD		67.2 ± 15.1	65.7 ± 10.6	0.63
性別 (%)	男性	12 (44.4)	181 (58.2)	0.17
	女性	15 (55.6)	130 (41.8)	
原発巣の Stage (%)	0 (Tis)	0 (0.0)	3 (1.0)	0.26
	I	9 (33.3)	59 (19.0)	
	II	10 (37.1)	111 (35.7)	
	III	8 (29.6)	112 (36.0)	
	IV	0 (0.0)	26 (8.3)	
アムステルダム基準 II (%)		1 (3.7)	4 (1.3)	0.34
改訂ベセスダ基準 (%)		17 (63.0)	108 (34.7)	<0.01
大腸癌以外の悪性腫瘍の既往 (%)		9 (33.3)	53 (17.0)	0.06
大腸癌以外の LS 関連腫瘍の既往 (%)		3 (11.1)	21 (6.8)	0.42
BMI, mean ±SD		22.3 ± 3.4	23.1 ± 3.7	0.23
CEA (ng/mL)、median (range)		3.5 (1.2-27.3)	4.7 (0.9-1,207)	0.04
CA 19-9 (U/mL)、median (range)		9 (1-169)	12 (1-2,432)	0.49
喫煙歴 (%)		12 (44.4)	167 (53.7)	0.36
飲酒歴 (%)		16 (59.3)	211 (67.9)	0.36
同時性ポリープ (%)		15 (55.6)	157 (50.5)	0.61
原発巣の占居部位 (%)	右側結腸	22 (81.5)	78 (25.1)	<0.01
	左側結腸	3 (11.1)	106 (34.1)	
	直腸	2 (7.4)	127 (40.8)	
原発巣の組織型 (%)	高分化型	10 (37.0)	159 (51.1)	<0.01
	中分化型	12 (44.5)	144 (46.3)	
	低分化型	5 (18.5)	8 (2.6)	
術後補助化学療法 (%)		9 (33.3)	121 (38.9)	0.68

LS: Lynch syndrome, BMI: body mass index, SD: standard deviation,

CEA: carcinoembryonic antigen, CA 19-9: carbohydrate antigen 19-9

年齢、BMI: student's T test; CEA、CA 19-9: Mann-Whitney's test;

性別、改訂ベセスダ基準、同時性ポリープ、喫煙歴、飲酒歴: Pearson's  $\chi^2$  test;

Stage、アムステルダム基準II、他の悪性腫瘍の既往、他のリンチ症候群関連腫瘍

の既往、術後補助化学療法、大腸癌の局在および組織型: Fisher's test

### 【サーベイランス CS の集計】

Clean colon 達成後の CS 観察期間の中央値は 3.0 年(0.3–7.4 年)であり、総観察期間は 1075 年、総 CS 回数は 910 回であった。1 症例当たりの CS 回数は平均 2.7 回、平均インターバルは 1.2 年/回であった。

### 【MSI 群と MSS 群における polyp 発生率の Cox 比例ハザードモデルによる解析(傾向スコア調整前)】

観察期間中、126 症例 (37.3%) で大腸ポリープが切除された。原発巣の microsatellite status 別に、大腸ポリープを切除された症例数の内訳を、advanced adenoma と異時性大腸癌の同定症例数と併せて表 5 に示す。また、傾向スコアで調整を行う前の MSI 群と MSS 群における全大腸ポリープの発生率について、Cox 比例ハザードモデルによる単変量解析を行い、MSI 群と MSS 群の調整ハザード比、95%信頼区間、*P* 値を合わせて表 5 に示した。発生部位別、病理組織型別および advanced adenoma の発生率、異時性大腸癌の発生率についても同様の解析を行い、表 5 に示した。いずれの項目においても 2 群間で有意差を認めなかった。



表 5. 原発巣の Microsatellite status 別にみた術後大腸ポリープと異時性大腸癌の  
Cox 比例ハザードモデルによる単変量解析(プロペンシティスコア調整前)

	MSI n = 27	MSS n = 311	HR (MSI / MSS) (95% 信頼区間)	P 値
全大腸ポリープ	7	119	0.83 (0.35-1.66)	0.63
発生部位				
右側結腸	5	76	0.90 (0.32-2.02)	0.82
左側結腸	3	60	0.68 (0.16-1.83)	0.48
直腸	2	21	1.19 (0.19-4.06)	0.82
病理組織型				
Tubular adenoma	5	100	0.64 (0.23-1.43)	0.30
Tubulovillous / villous adenoma	1	6	2.04 (0.11-12.0)	0.55
Serrated adenoma	0	12		
Hyperplastic polyp	2	19	1.43 (0.23-4.97)	0.65
Advanced adenoma	2	25	1.00 (0.16-3.37)	1.00
早期癌 (Tis)	1	1	11.30 (0.45-286)	0.12
早期癌 (T1)	0	0		
進行癌 (T2 以深)	1	0		

※発生部位内、病理組織型内、異時性大腸癌内で重複あり

※ポリープ数ではなく症例数

※ポリープ発生症例が 0 の群がある項目は Cox 比例ハザードモデルの解析の対象外

【MSI 群と MSS 群における polyp 発生率の Kaplan-Meier 曲線とログランク検定(傾向スコア調整後)】

MSI 群と MSS 群の間で有意差を示した臨床病理学的因子の 4 項目(改訂ベセスダ基準(表 2 参照)、術前 CEA 値、原発巣の占居部位、原発巣の組織型)(表 4)を用いて傾向スコアを算出し、その逆数で症例に重み付けをした。MSI 群と MSS 群において、術後に発生した全大腸ポリープの発生率を Kaplan-Meier 曲線で描き Log-rank 検定で検討した。また大腸ポリープの発生部位別、病理組織型別および advanced adenoma の発生率についても同様の解析を行った(図 6)。Tubular adenoma は MSS 群が MSI 群より有意に発生率が高く ( $P < 0.01$ )、逆に tubulovillous adenoma と hyperplastic polyp は MSI 群が MSS 群より有意に発生率が高かった(いずれも  $P < 0.01$ )。なお、異時性大腸癌については発生数が 0 もしくは 1 と非常に小さかったため、Kaplan-Meier 法と Log-rank 検定の対象外とした。

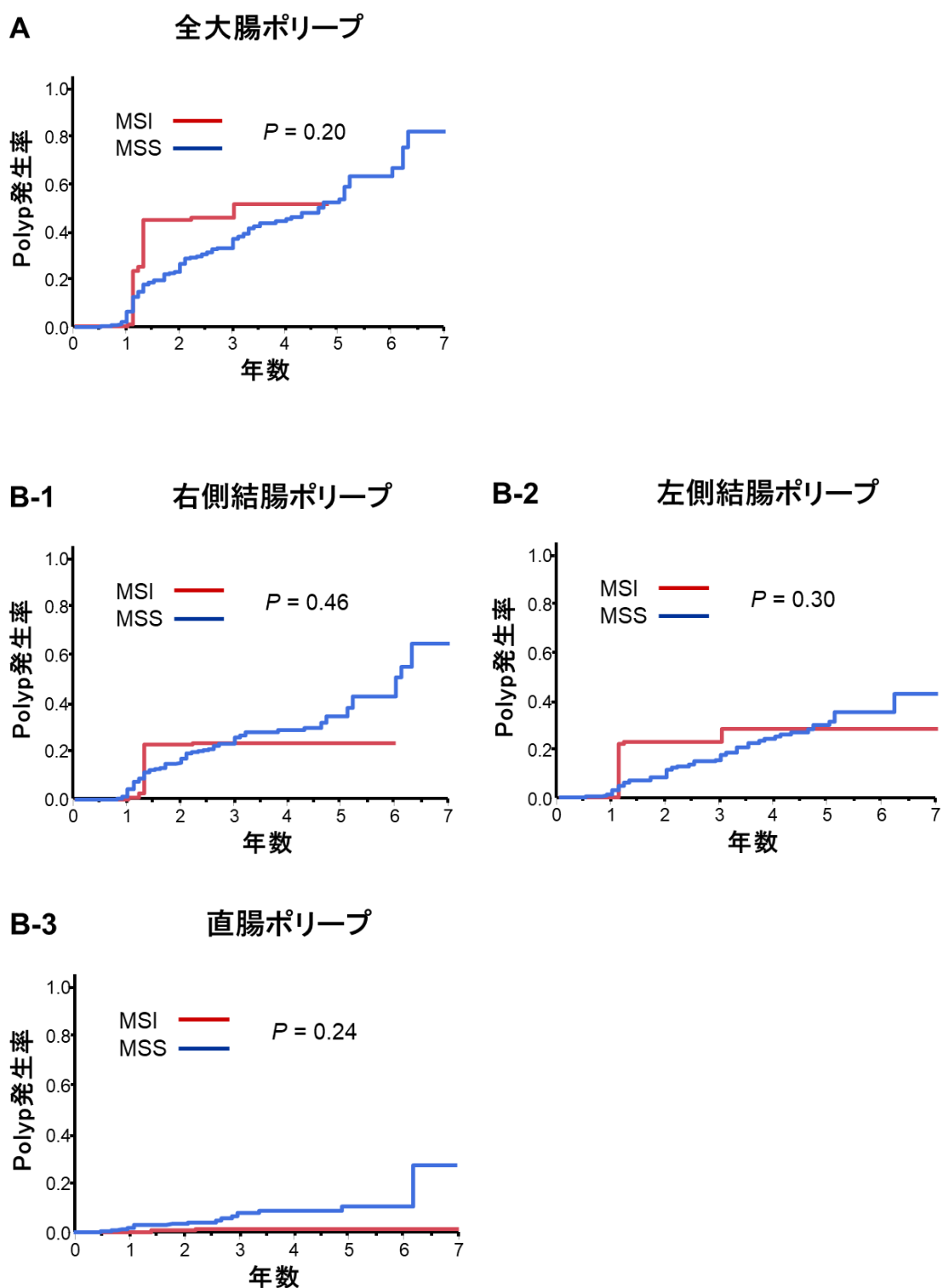
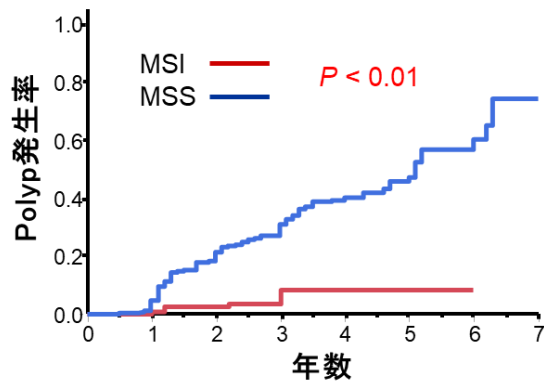


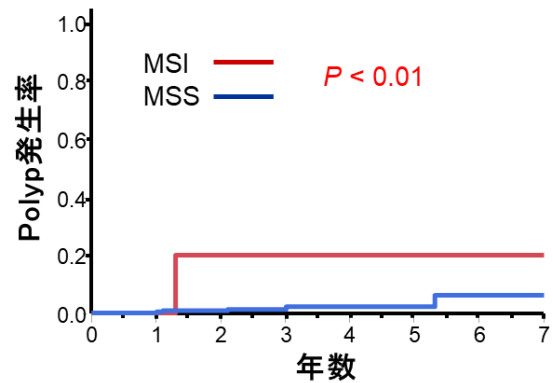
図6 Kaplan-Meier 曲線による polyp 発生率の解析

(A) 全大腸ポリープを対象とした分析 (B) 大腸ポリープの発生部位別の分析 (B-1) 右側結腸、(B-2) 左側結腸、(B-3) 直腸

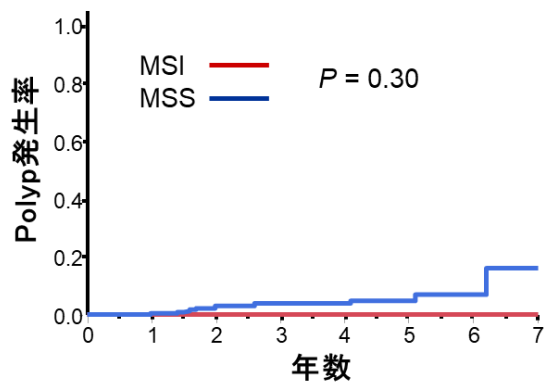
**C-1 Tubular adenoma**



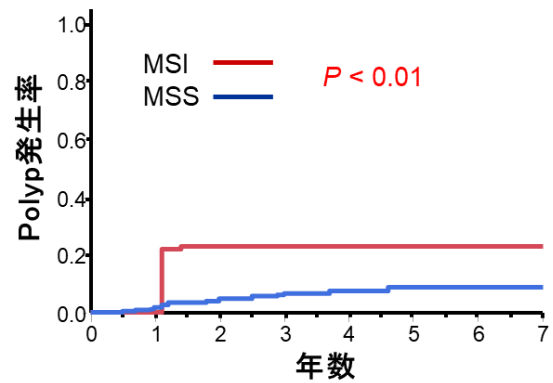
**C-2 Tubulovillous/villous adenoma**



**C-3 Serrated adenoma**



**C-4 Hyperplastic polyp**



**D Advanced adenoma**

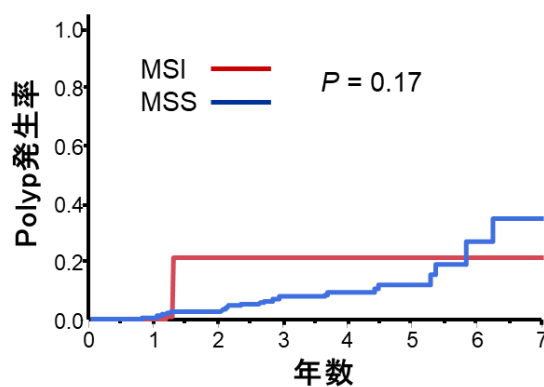


図 6(続き) Kaplan-Meier 曲線による polyp 発生率の解析  
(C) 大腸ポリープの病理組織型別の分析

(C-1) tubular adenoma、(C-2) tubulovillous/villous adenoma、(C-3) serrated adenoma、  
(C-4) hyperplastic polyp (D) advanced adenoma を対象とした分析

【MSI 群と MSS 群における polyp 発生率の Cox 比例ハザードモデルによる解析(傾向スコア調整後)】

最後に MSI 群と MSS 群における全大腸ポリープの発生率について Cox 比例ハザードモデルによる解析を行った。MSI 群と MSS 群の調整ハザード比、95%信頼区間、 $P$  値と forest plot を図 7 に示した。発生部位別、病理組織型別および advanced adenoma の発生率、異時性大腸癌の発生率についても同様の解析を行った(図 7)。

#### 1. 発生部位別にみた術後大腸ポリープの発生率

MSS 群では直腸における大腸ポリープ発生率が MSI 群と比較し有意に高かった(調整ハザード比 (adjusted hazard ratio; AHR) = 5.74;  $P = 0.04$ )。右側結腸および左側結腸では、MSI 群と MSS 群で大腸ポリープの発生率に有意差を認めなかった(図 7)。

#### 2. 病理組織型別にみた術後大腸ポリープの発生率

MSS 群では tubular adenoma の発生率が MSI 群と比較し有意に高かった (AHR = 7.09;  $P < 0.01$ )。逆に tubulovillous/villous adenoma は、MSI 群と比較して MSS 群で発生率が有意に低かった (AHR = 0.12;  $P = 0.03$ )。Serrated adenoma は MSI 群で発

生を認めなかったため、Cox 比例ハザードモデルによる解析の対象外となった。

Hyperplastic polyp は Cox 比例ハザードモデルによる解析では MSI 群と MSS 群で有意差を認めなかった(図 7)。

### 3. Advanced adenoma の発生率

大腸癌術後に生じた advanced adenoma は、MSI 群と MSS 群で発生率に有意差を認めなかった(図 7)。

### 4. 異時性大腸癌の発生率

MSI 群では同一症例に、clean colon 達成日(手術日)から 14 か月後の初回サーベイランス CS で、異時性かつ同時性大腸癌 (Tis と T2) を認めた。また MSS 群では、1 例に、clean colon 達成日(手術日)から 16 か月後の初回サーベイランス CS で異時性大腸癌 (Tis) を認めた。よって大腸癌術後の異時性大腸癌 (Tis) は MSI 群と MSS 群で 1 例ずつ認めたが、両群間の発生率に有意差を認めなかった。また異時性大腸癌 (T1) は MSI、MSS の両群とも発生を認めず、異時性大腸癌 (T2 以深) は上記の MSI 群の 1 例のみで MSS 群で発生を認めなかったため、統計的解析の対象外とした(図 7)。

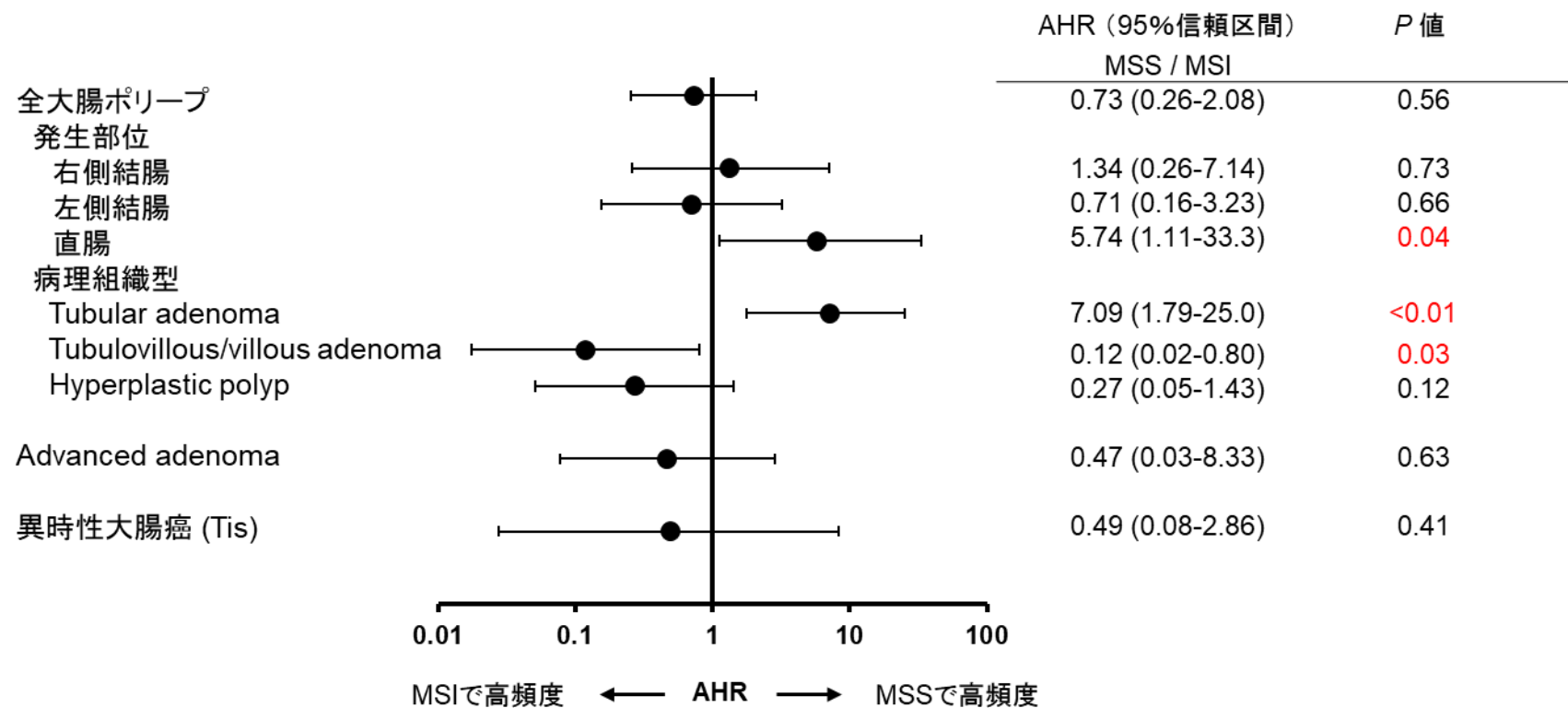


図 7 MSI 群と MSS 群における術後大腸ポリープ、advanced adenoma、異時性大腸癌(Tis) の forest plot

直腸に発生したポリープ、および全大腸で発生した tubular adenoma は MSS 群で MSI 群より有意に発生率が高かった。

Tubulovillous/villous adenoma は MSI 群で MSS 群より有意に発生率が高かった。

※Cox 比例ハザードモデルによる解析、 AHR: adjusted hazard ratio

## 考察

本研究では、大腸癌原発巣の microsatellite status 別に術後症例を 2 群に分け、臨床病理学的因子の比較を行った。大腸癌術後の大腸ポリープ発生率は、性別、年齢、喫煙歴、飲酒歴、BMI と関連があるとの報告がある<sup>45-48</sup>。本研究ではこれらの臨床病理学的因子には MSI 群と MSS 群で有意差を認めなかった。また、大腸癌と同時に発見された同時性 adenoma の存在が異時性 adenoma 発生リスク因子であるとする報告が多い<sup>5,45,46,49,50</sup>。本研究でも同時性ポリープの有無を臨床病理学的因子として項目に含め、MSI 群と MSS 群で有意差を認めるかを確認したが、2 群間で有意差は認めなかった。

一方で、改訂ベセスダ基準、術前 CEA 値、原発巣の占居部位および原発巣の組織型の 4 項目に MSI 群と MSS 群の 2 群間で有意差を認めた。特に原発巣の占居部位は必然的に手術による切除部位に含まれるため、術後のポリープ発生の母地となる残存大腸に関しても偏りが生じている可能性が高い。これを補正することでより正確に術後のポリープ発生リスクが評価できると考えられる。従って上記の 4 項目を傾向スコアで調整して解析した。傾向スコアを使用せずに Cox 比例ハザードモデルで解析すると、いずれの項目においても有意差を認めなかったが(表 5)、原発巣の占居部位を含む MSI 群と MSS 群で有意差を認めた 4 項目を傾向スコアで調整した解析では、MSS



群で術後に直腸ポリープおよび tubular adenoma のリスクが MSI 群より有意に高いことが明らかとなった(図 7)。ただし、その他の項目を調整対象に含めるべきかについては検討の余地があり、本研究の限界である。

改訂ベセスダ基準は LS のスクリーニング目的に MSI 検査を推奨するための臨床基準であり(表 2 参照)、LS に対する感度は 88.1%、特異度は 54.4%、陽性的中率は 19.9%と報告されている<sup>51</sup>。しかし同じく LS のスクリーニングとして使用され、LS に対する感度は 27.2%、特異度は 97.9%、そして陰性的中率は 91.0%と報告されているアムステルダム II 基準(表 3 参照)については 2 群間で有意差を認めなかった<sup>51</sup>。MSI 群に LS の症例が含まれていた場合、感度の差から改訂ベセスダ基準でのみ拾えている可能性があるが、一方で改訂ベセスダ基準の陽性的中率は低い。さらに LS 関連腫瘍の既往も 2 群間で有意差を認めなかったため、MSI 群に必ずしも LS 症例が含まれているとは言えなかった。術前 CEA 値に関しては、microsatellite status の異なる 2 群間で有意差はないとの報告と<sup>52</sup>、MSI 群の方が MSS 群より有意に高いとする報告があるが<sup>53</sup>、本研究では MSI 群の方が MSS 群より有意に低かった。有意差はないとの報告では、対象がステージ II および III に限定されていた<sup>52</sup>。また MSI 群の方が有意に高いとした報告では、症例のステージ構成は明示されていなかった<sup>53</sup>。一方、本研究ではステージ IV は MSS 症例のみであった(表 4)。一般的には CEA 値は大腸癌

の進行とともに上昇するため、本研究の結果はステージ IV の MSS 症例が影響していると考えられた。大腸癌原発巣の占居部位と組織型に関しては、MSI 癌の特徴として右側結腸に好発する傾向<sup>54-56</sup>や病理組織型では粘液癌などの低分化型が多い傾向が報告されており<sup>14,56</sup>、本研究の結果も同様であった。

研究材料に関しては、背景粘膜に想定される体細胞系列の遺伝子変異として *APC* 変異や *KRAS* 変異、*BRAF* 変異、MMR 遺伝子の片側のアレルの体細胞変異や、MMR 遺伝子上流における DNA のメチル化などがあり、背景粘膜でそれらを網羅的に直接検査することが理想的である。しかし先行研究<sup>57</sup>ではおおよそ 1 症例につき 10 個以上の生検検体で背景粘膜の *APC* 変異を調べたが変異は認めなかったため、それ以上の生検検体を用意する必要があると考えられた。何個の生検が必要か、その条件設定も不明であり、また莫大なコスト・時間が必要と考えられたため、本研究では代替の方法として、原発巣の *microsatellite status* 別に術後の大腸ポリープの発生にどのような特徴があるかを検討することにした。

なお、LS においては前駆病変である *adenoma* の MSI 率は 95-100%と高いのに対して<sup>58</sup>、非遺伝性大腸癌では腫瘍の MSI 率が *moderate adenoma* で 0%、*severe adenoma* で 5%、進行癌で 13%との報告があり<sup>58</sup>、*adenoma* の時点では MSI 率が低いとする報告がある<sup>58-60</sup>。よって本研究では発生したポリープの *microsatellite status* は

検索しなかった。

本研究では、大腸癌術後に直腸に発生する大腸ポリープの頻度が MSI 群と比較し MSS 群で有意に高いことを見出した。本研究の MSS 群における原発巣の占居部位は右側結腸、左側結腸よりも直腸に多く、また直腸癌は MSI 群より有意に多かった(表 4)。よって MSS 群では、直腸での原発巣の発生頻度が高いという特徴と同様に、術後のポリープも MSI 群に比べて直腸に高頻度に発生する傾向があると考えられた。

また、MSI 癌の主な前駆病変は SSA/P、MSS 癌の主な前駆病変は tubular adenoma であることが先行研究から知られているが、本研究では術後に発生したポリープの中で tubular adenoma は MSI 群より MSS 群で有意に多かった。よって、MSS 群において前駆病変と術後に多く発生するポリープがともに tubular adenoma という結果であった。以上の2つの結果から、MSS 癌の術後に発生する大腸ポリープは、MSS 癌の特徴が再現されやすいことが考えられた。一方で、MSI 癌の好発部位は右側結腸であったが、右側結腸に発生した大腸ポリープは MSI 群で多いということはなく、MSI 群と MSS 群の間で有意差を認めなかった。同様に、MSI 癌の前駆病変とされる SSA/P も、MSI 群の術後の大腸に発生しなかった。SSA/P の好発部位は右側結腸とされるが、特に盲腸から肝彎曲の間に 60%が発生すると報告されている<sup>61</sup>。そこで MSI 癌術後に MSI 癌の特徴を再現した大腸ポリープすなわち SSA/P が発生しなかった点

に関して、大腸癌の術式の特徴を考慮する必要があると考えた。病変の口側・肛門側各 10 cm ずつの腸管切除を基本とする左側結腸癌や、口側 10 cm、肛門側は 2-3 cm の腸管切除を基本とする直腸癌と異なり、東京大学医学部附属病院大腸・肛門外科では、右側結腸癌の大部分は回盲部から病変の肛門側 10 cm までの腸管を切除する術式が行われていた。このため、右側結腸癌の術後は盲腸および上行結腸が残存していないパターンがほとんどとなる。本研究では MSI 癌は 27 症例と少なく、かつ 8 割以上の 22 症例が右側結腸癌であった。傾向スコアの補正だけでは限界があり、症例数を増やして MSI 癌における術後のポリープを検討する必要があると考えられた。また、近位大腸(右側結腸)に発生した MSI 癌と遠位大腸(左側結腸 + 直腸)に発生した MSI 癌では、*MLH1* のプロモーター領域のメチル化頻度など遺伝学的因子に有意差があり、異なる性質を持つとの報告もある<sup>62</sup>。今後症例数を増やしたうえで、MSI 群を性質の異なるサブグループにさらに分けて解析することで、新たな知見が得られる可能性も考えられた。

原発巣の microsatellite status 別にみた術後の adenoma の発生率については先行研究が 2 編あり、Balleste ら、ならびに Kang らは、MSI 群と MSS 群で差がないと報告した<sup>48,63</sup>。しかし tubular adenoma、villous adenoma、tubulovillous adenoma を細分化せずにまとめて 1 つとして分析しており、serrated adenoma も対象とされていないか

った。本研究では大腸ポリープをその病理組織型に着目して分類し分析したところ、大腸癌術後に発生した tubular adenoma の頻度が MSI 群と比較し MSS 群で有意に高かったという結果を得ることができた。

本研究において、MSS 群の術後に発生する大腸ポリープにおいては、MSS 癌の特徴が再現されやすかった。従って field cancerization の仮説も我々の結果を支持すると考えた。Field cancerization の仮説に関して背景粘膜を検討した報告がいくつかある。Rosa らは、散发性大腸癌の APC 遺伝子に変異を認めた 11 症例において、回盲弁から 10-20cm 毎に背景粘膜を採取し、exon 15 を対象に protein truncation test で APC を分析したが、APC 遺伝子変異はなかったとしている<sup>57</sup>。ただしこの研究は症例数やサンプル数が少なく信頼性に限界があり、また APC における exon 15 以外の変異は見えておらず、全領域シーケンスなど他の検査法で拾える変異が存在する可能性もあり、さらに背景粘膜への epigenetic な遺伝子変異の蓄積がないとは言い切れない。一方 Ahearn らは、大腸ポリープの既往を有する症例の背景粘膜は、大腸ポリープの既往のない症例の背景粘膜と比較して、免疫染色で評価した APC/beta-catenin score (APC と  $\beta$  カテニンの発現率の比) が低い傾向にあることを報告した<sup>64</sup>。APC は Wnt シグナル伝達経路に関する  $\beta$  カテニンに結合してその分解を誘導するが、変異した APC は  $\beta$  カテニンの分解を誘導できず、細胞内に蓄積した  $\beta$  カテニンが Wnt 標的遺伝子

の転写を正に制御して発癌を促進する<sup>65</sup>。よって APC に変異が起こると正常な APC 発現が減少する一方で  $\beta$  カテニンは分解されず増加するため、APC/beta-catenin score の低さは APC 変異を反映していると考えられる<sup>64</sup>。従って、大腸ポリープの既往を有する症例は、大腸の背景粘膜に APC 変異を起こしている可能性が大腸ポリープの既往のない症例より高く、背景粘膜に adenoma 発生のリスクを有する可能性を提唱している<sup>64</sup>。

今回の研究で得られた結果は、遺伝子変異ではなく臨床病理学的所見からではあるが、MSS 群は MSS 癌発症に関する何らかのリスクを背景粘膜に有している可能性が示唆された。臨床病理学的所見だけではなく遺伝子学的因子の検索が望ましく、MSS 癌術後の異時性大腸癌発症症例など背景粘膜に genetic もしくは epigenetic な変異を有するリスクが高い可能性がある症例で、その背景粘膜の APC 変異やメチル化などの遺伝子的素因を網羅的に検索することは、今後研究を展開するに当たり有意義な課題であると思われる。

本研究の限界は、方法に関してはまず LS の症例が除外できなかった点が挙げられる。生殖細胞系列で変異を調べる場合、十分な説明と支援する環境を整えて同意を得て検査する必要があり、一般的には遺伝カウンセリングや遺伝疾患の専門外来がこれに当たるが、本研究は後ろ向き研究でもあり当時はその環境を整えられなかった。

今後散発性MSI癌の解析を進める場合、生殖細胞系列のMMR遺伝子変異の検査によるLS症例の除外は必要となると考えられた。また大腸ポリープの発生部位の診断は、CS施行者による推定であり、かつ、術中に大腸の授動がなされたあとであり、必ずしも正確ではない可能性がある。改善策としては透視下でCSを行う、あるいはポリープ切除部にクリップでマーキングした上でCTを撮影する等の方法が挙げられるが、いずれも被検者が被曝のリスクを負うこととなるため、十分なインフォームドコンセントを含めた対応が必要となると考えられた。また、全症例が大腸癌術後は年1回のCSを受けることを薦められており、実際にclean colon後にCSを受けるインターバルは平均1.2年/回であったが、ポリープあるいは異時性大腸癌を発見されたCSが前回のCSから長期間空いていた場合、結果に影響する可能性がある。異時性大腸癌を発症した症例は1年以内にCSを受けていれば大腸癌になる前の前駆病変であったかもしれない。またadvanced adenomaが同定された症例は、より短いインターバルでCSを受けていればadvanced adenomaになる前に切除されたかもしれない。症例の選択にあたりインターバルの長い症例は除外条件を設定することで、より精度の高い解析が行えた可能性がある。

Tubulovillous/villous adenomaについてはMSS群と比較してMSI群で発生頻度が有意に高いという結果が得られたが、発生数がMSI群で1例、MSS群で6例にとどまって

おり、今後再現性を確認する必要がある。またserrated adenomaや異時性大腸癌についても発生数が0または1の群があり、統計学的な分析の対象とできなかった。今後症例数を増やし、観察期間も延長して解析する必要があると考えられた。Hyperplastic polypについては本邦における大腸ポリープ診療ガイドラインでは直腸、S状結腸の5 mm 以下のものは経過観察とし、右側結腸で10 mm 以上のSSA/Pとの鑑別が困難なものは切除を検討、と記載されている<sup>66</sup>。実際に臨床的にはadenomaとの鑑別目的やサイズが大きいなどの理由により、21症例(全症例の6.2%、ポリープ切除症例の16.7%)で切除されていた。Hyperplastic polypは近年ではserrated adenomaの前駆病変であると考えられるようになっており<sup>12,67,68</sup>、臨床的な意義も高まっている。しかし本研究では5mm以下のhyperplasticは放置されている可能性があり、切除ポリープとしてはバイアスを含む可能性がある。

本結果の臨床的応用に関して、MSS 癌の術後においては、直腸にポリープ発生のリスクが高いこと、また全大腸にわたり tubular adenoma が多い可能性を念頭に置いてサーベイランス CS を行うことが推奨できると考えられた。



## 結論

本研究では、大腸癌に対して外科的切除がなされた症例を原発巣の *microsatellite status* によって MSI 群と MSS 群にわけ、臨床病理学的因子を比較した。また、2 群間で有意差を認めた背景因子に関して傾向スコアを用いて症例の重み付けを行ったうえで、MSI 群と MSS 群における術後の大腸ポリープ発生のリスクを、発生部位別・病理組織型別に検討した。

臨床病理学的因子では、MSI 群と MSS 群の 2 群間で 4 項目に有意差を認めた。改訂ベセスダ基準への該当率は MSI 群が高く、術前 CEA 値は MSI 群で低かった。また原発巣の占居部位では MSI 癌が右側結腸に多く、原発巣の組織型では MSI 癌に低分化型が多かった。

傾向スコア法による調整後の解析では、MSS 群は MSI 群に比して直腸にポリープが発生するリスクが有意に高かった。また、MSS 群は MSI 群に比して *tubular adenoma* の発生するリスクが有意に高かった。直腸は MSS 癌が高頻度で発生した部位であり、また *tubular adenoma* も MSS 癌の前癌病変として知られている。これらのことから、MSS 群の大腸の背景粘膜には、MSS 癌発症に関する何らかのリスクが存在する可能性が示唆された。その機序の究明のためには、それぞれの大腸の腫瘍および正常粘膜の *epigenetic* な遺伝子変異を含めたさらなる検討が必要である。

今回の結果から大腸癌術後のサーベイランス CS において、MSS 癌の術後症例は直腸を中心に注意深く観察すること、そして tubular adenoma 発生のリスクが高い可能性を念頭に置いて検査を行うことが推奨され则认为られた。

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、研究当初より多大なご指導・御教鞭を賜りました東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 臓器病態外科学講座 腫瘍外科学・血管外科学 故 渡邊聡明教授に、厚く御礼申し上げます。また、多大なご指導・御教鞭を賜りました東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 臓器病態外科学講座 腫瘍外科学・血管外科学 野澤宏彰准教授に、深く感謝いたします。また、東京大学医学部附属病院大腸肛門外科 田中敏明先生、畑啓介先生、山本陽子先生には、研究の進め方や分析手技の習得、データの解釈など、多岐にわたる一方ならぬご指導・ご鞭撻を賜りましたことに、心から感謝いたします。また、東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻生物統計学分野 大庭幸治准教授には統計解析について貴重なアドバイスをいただきましたこと、心から感謝いたします。最後に、同期であり伴侶である瀧山博年先生には公私ともに常に支えていただきましたこと、深く感謝いたします。

## 引用文献

1. 厚生労働省. 平成 27 年(2015)人口動態統計(確定数)の概況  
[http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei15/dl/11\\_h7.pdf](http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei15/dl/11_h7.pdf).
2. Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ, Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Hankey BF, Shi W, Bond JH, Schapiro M, Panish JF, Stewart ET, Waye JD.  
Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N Engl J Med*. 2012;366(8):687-696.
3. Bensen S, Mott LA, Dain B, Rothstein R, Baron J. The colonoscopic miss rate and true one-year recurrence of colorectal neoplastic polyps. Polyp Prevention Study Group. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(1):194-199.
4. Lee KH, Kim HC, Yu CS, Myung SJ, Yang SG, Kim JC. Colonoscopic surveillance after curative resection for colorectal cancer with synchronous adenoma. *Korean J Gastroenterol*. 2005;46(5):381-387.
5. Moon CM, Cheon JH, Choi EH, Kim ES, Park JJ, Han SY, Kim DH, Kim TI, Kim WH. Advanced synchronous adenoma but not simple adenoma predicts the future development of metachronous neoplasia in patients with resected colorectal cancer. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(7):495-501.

6. Green RJ, Metlay JP, Propert K, Catalano PJ, Macdonald JS, Mayer RJ, Haller DG. Surveillance for second primary colorectal cancer after adjuvant chemotherapy: an analysis of Intergroup 0089. *Ann Intern Med*. 2002;136(4):261-269.
7. 石黒めぐみ、望月英隆、杉原健一、平田公一、村田暁彦、畠山勝義、固武健二郎、寺本龍生、高橋慶一、亀岡信悟、斉藤幸夫、前田耕太郎、平井孝、大植雅之、白水和雄、大腸癌術後フォローアップ研究会. 大腸癌に合併する多発癌・重複がんに関するフォローアップについて. *日本大腸肛門病学会雑誌*. 2006;59(10):863-868.
8. 大腸癌研究会編. 大腸癌治療ガイドライン 医師用 2016 年版 金原出版. 2016.
9. 大腸癌研究会編. 遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2016 年版 金原出版. 2016.
10. Marmol I, Sanchez-de-Diego C, Pradilla Dieste A, Cerrada E, Rodriguez Yoldi MJ. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1),197
11. Leggett B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer

- pathogenesis. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2088-2100.
12. O'Brien MJ, Zhao Q, Yang S. Colorectal serrated pathway cancers and precursors. *Histopathology*. 2015;66(1):49-65.
  13. Kambara T, Simms LA, Whitehall VL, Spring KJ, Wynter CV, Walsh MD, Barker MA, Arnold S, McGivern A, Matsubara N, Tanaka N, Higuchi T, Young J, Jass JR, Leggett BA. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut*. 2004;53(8):1137-1144.
  14. Setaffy L, Langner C. Microsatellite instability in colorectal cancer: clinicopathological significance. *Pol J Pathol*. 2015;66(3):203-218.
  15. Peltomaki P, Lothe RA, Aaltonen LA, Pylkkanen L, Nystrom-Lahti M, Seruca R, David L, Holm R, Ryberg D, Haugen A, et al. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome. *Cancer Res*. 1993;53(24):5853-5855.
  16. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2005;23(3):609-618.
  17. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Nakagawa H, Sotamaa K, Prior TW, Westman J, Panescu J, Fix D, Lockman J,

- Comeras I, de la Chapelle A. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med*. 2005;352(18):1851-1860.
18. Carethers JM, Stoffel EM. Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer. *World J Gastroenterol*. 2015;21(31):9253-9261.
  19. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1079-1099.
  20. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953;6(5):963-968.
  21. Dakubo GD, Jakupciak JP, Birch-Machin MA, Parr RL. Clinical implications and utility of field cancerization. *Cancer cell international*. 2007;7:2.
  22. Humphries A, Wright NA. Colonic crypt organization and tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(6):415-424.
  23. Gagliardi G, Goswami M, Passera R, Bellows CF. DCLK1 immunoreactivity in colorectal neoplasia. *Clin Exp Gastroenterol*. 2012;5:35-42.
  24. Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer:

- Emerging Biomarkers. *Gastroenterology*. 2015;149(5):1204-1225.e1212.
25. Cui G, Xu G, Zhu L, Pang Z, Zheng W, Li Z, Yuan A. Temporal and spatial changes of cells positive for stem-like markers in different compartments and stages of human colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Oncotarget*. 2017;8(28):45311-45322.
26. Patel A, Tripathi G, Gopalakrishnan K, Williams N, Arasaradnam RP. Field cancerisation in colorectal cancer: a new frontier or pastures past? *World J Gastroenterol*. 2015;21(13):3763-3772.
27. Ishihara S, Otani K, Yasuda K, Nishikawa T, Tanaka T, Tanaka J, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Nozawa H, Kazama S, Yamaguchi H, Sunami E, Kitayama J, Sugihara K, Watanabe T. Prognostic impact of lymph node dissection is different for male and female colon cancer patients: a propensity score analysis in a multicenter retrospective study. *Int J Colorectal Dis*. 2016;31(6):1149-1155.
28. Lewin JW, O'Rourke NA, Chiow AK, Bryant R, Martin I, Nathanson LK, Cavallucci DJ. Long-term survival in laparoscopic vs open resection for colorectal liver metastases: inverse probability of treatment weighting using propensity scores. *HPB (Oxford)*. 2016;18(2):183-191.



29. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1453-1456.
30. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261-268.
31. 大腸癌研究会編. 大腸癌取扱い規約 第8版 金原出版. 2013.
32. 独立行政法人国立がん研究センター監修. 国際疾病分類腫瘍学 第3版 (2012年改正版). 2014.
33. Perucho M. Correspondence re: C.R. Boland et al., A National Cancer Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.*, 58: 5248-5257, 1998.

- Cancer Res.* 1999;59(1):249-256.
34. Hoang JM, Cottu PH, Thuille B, Salmon RJ, Thomas G, Hamelin R. BAT-26, an indicator of the replication error phenotype in colorectal cancers and cell lines. *Cancer Res.* 1997;57(2):300-303.
35. Zhou XP, Hoang JM, Li YJ, Seruca R, Carneiro F, Sobrinho-Simoes M, Lothe RA, Gleeson CM, Russell SE, Muzeau F, Flejou JF, Hoang-Xuan K, Lidereau R, Thomas G, Hamelin R. Determination of the replication error phenotype in human tumors without the requirement for matching normal DNA by analysis of mononucleotide repeat microsatellites. *Genes, chromosomes & cancer.* 1998;21(2):101-107.
36. Morifuji M, Hiyama E, Murakami Y, Imamura Y, Sueda T, Yokoyama T. Fluorescent-based BAT-26 analysis for distinct screening of microsatellite instability in colorectal cancers. *Int J Oncol.* 2003;22(4):807-813.
37. Hatch SB, Lightfoot HM, Jr., Garwacki CP, Moore DT, Calvo BF, Woosley JT, Sciarrotta J, Funkhouser WK, Farber RA. Microsatellite instability testing in colorectal carcinoma: choice of markers affects sensitivity of detection of mismatch repair-deficient tumors. *Clin Cancer Res.* 2005;11(6):2180-2187.

38. Brennetot C, Buhard O, Jourdan F, Flejou JF, Duval A, Hamelin R.  
Mononucleotide repeats BAT-26 and BAT-25 accurately detect MSI-H tumors  
and predict tumor content: implications for population screening. *Int J Cancer*.  
2005;113(3):446-450.
39. Del Vecchio Blanco G, Cretella M, Paoluzi OA, Caruso A, Mannisi E, Servadei  
F, Romeo S, Grasso E, Sileri P, Giannelli M, Biancone L, Palmieri G, Pallone F.  
Adenoma, advanced adenoma and colorectal cancer prevalence in asymptomatic  
40- to 49-year-old subjects with a first-degree family history of colorectal  
cancer. *Colorectal Dis*. 2013;15(9):1093-1099.
40. Graser A, Stieber P, Nagel D, Schafer C, Horst D, Becker CR, Nikolaou K,  
Lottes A, Geisbusch S, Kramer H, Wagner AC, Diepolder H, Schirra J, Roth HJ,  
Seidel D, Goke B, Reiser MF, Kolligs FT. Comparison of CT colonography,  
colonoscopy, sigmoidoscopy and faecal occult blood tests for the detection of  
advanced adenoma in an average risk population. *Gut*. 2009;58(2):241-248.
41. Jaruvongvanich V, Sanguankeo A, Wijarnpreecha K, Upala S. Risk of colorectal  
adenomas, advanced adenomas and cancer in patients with colonic diverticular  
disease: Systematic review and meta-analysis. *Dig Endosc*. 2017;29(1):73-82.

42. Kimura T, McKolanis JR, Dzubinski LA, Islam K, Potter DM, Salazar AM, Schoen RE, Finn OJ. MUC1 vaccine for individuals with advanced adenoma of the colon: a cancer immunoprevention feasibility study. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013;6(1):18-26.
43. Siddiqui AA, Kedika R, Mahgoub A, Patel M, CIPHER DJ, Bapat V. A previous cholecystectomy increases the risk of developing advanced adenomas of the colon. *South Med J*. 2009;102(11):1111-1115.
44. Austin PC. The performance of different propensity score methods for estimating marginal hazard ratios. *Stat Med*. 2013;32(16):2837-2849.
45. Kawai K, Sunami E, Tsuno NH, Kitayama J, Watanabe T. Polyp surveillance after surgery for colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2012;27(8):1087-1093.
46. Borda A, Martinez-Penuela JM, Borda F, Munoz-Navas M, Jimenez FJ, Carretero C. Drawing up an individual risk index for development of metachronous neoplastic lesions in resected colorectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig*. 2012;104(6):291-297.
47. Lee SY, Kim BC, Han KS, Hong CW, Sohn DK, Park SC, Kim SY, Baek JY, Chang HJ, Kim DY, Oh JH. Incidence and risk factors of metachronous

- colorectal neoplasm after curative resection of colorectal cancer in Korean patients. *J Dig Dis*. 2014;15(7):367-376.
48. Balleste B, Bessa X, Pinol V, Castellvi-Bel S, Castells A, Alenda C, Paya A, Jover R, Xicola RM, Pons E, Llor X, Cordero C, Fernandez-Banares F, de Castro L, Rene JM, Andreu M, Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological A. Detection of metachronous neoplasms in colorectal cancer patients: identification of risk factors. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(7):971-980.
  49. Fajobi O, Yiu CY, Sen-Gupta SB, Boulos PB. Metachronous colorectal cancers. *Br J Surg*. 1998;85(7):897-901.
  50. Chen F. SM. Colonoscopic follow-up of colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*. 1994;37(6):568-572.
  51. Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, Hopper JL, Le Marchand L, Gallinger S, Newcomb PA, Haile R, Thibodeau SN, Gunawardena S, Jenkins MA, Buchanan DD, Potter JD, Baron JA, Ahnen DJ, Moreno V, Andreu M, Ponz de Leon M, Rustgi AK, Castells A. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *Jama*.

2012;308(15):1555-1565.

52. Soreide K, Soreide JA, Korner H. Prognostic role of carcinoembryonic antigen is influenced by microsatellite instability genotype and stage in locally advanced colorectal cancers. *World J Surg.* 2011;35(4):888-894.
53. Koyel B, Priyabrata D, Rittwika B, Swati D, Soma M, Jayasri B, Ashis M. Deterministic Role of CEA and MSI Status in Predicting Outcome of CRC Patients: a Perspective Study Amongst Hospital Attending Eastern Indian Populations. *Indian J Surg Oncol.* 2017;8(4):462-468.
54. Loree JM, Pereira AA, Lam M, Willauer AN, Raghav K, Dasari A, Morris VK, Advani SM, Menter DG, Eng C, Shaw K, Broaddus R, Routbort MJ, Liu Y, Morris J, Luthra R, Meric-Bernstam F, Overman MJ, Maru DM, Kopetz S. Classifying colorectal cancer by tumor location rather than sidedness highlights a continuum in mutation profiles and Consensus Molecular Subtypes. *Clin Cancer Res.* 2017.
55. Takahashi Y, Sugai T, Habano W, Ishida K, Eizuka M, Otsuka K, Sasaki A, Takayuki M, 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.
56. Jass JR. HNPCC and sporadic MSI-H colorectal cancer: a review of the morphological similarities and differences. *Fam Cancer*. 2004;3(2):93-100.
  57. Rosa I, Fidalgo P, Filipe B, Albuquerque C, Fonseca R, Chaves P, Pereira AD. Sporadic colorectal cancer: Studying ways to an end. *United European Gastroenterol J*. 2016;4(2):288-296.
  58. Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Muraoka M, Onda A, Okumura Y, Kishi N, Iwama T, Mori T, Koike M, Ushio K, Chiba M, Nomizu S, Konishi F, Utsunomiya J, Miyaki M. Molecular nature of colon tumors in hereditary nonpolyposis colon cancer, familial polyposis, and sporadic colon cancer. *Gastroenterology*. 1996;111(2):307-317.
  59. Velayos FS, Allen BA, Conrad PG, Gum J, Jr., Kakar S, Chung DC, Truta B, Sleisenger MH, Kim YS, Terdiman JP. Low rate of microsatellite instability in young patients with adenomas: reassessing the Bethesda guidelines. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(5):1143-1149.
  60. Loukola A, Salovaara R, Kristo P, Moisio AL, Kaariainen H, Ahtola H, Eskelinen M, Harkonen N, Julkunen R, Kangas E, Ojala S, Tulikoura J, Valkamo

- E, Jarvinen H, Mecklin JP, de la Chapelle A, Aaltonen LA. Microsatellite instability in adenomas as a marker for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Am J Pathol*. 1999;155(6):1849-1853.
61. Yang JF, Tang SJ, Lash RH, Wu R, Yang Q. Anatomic distribution of sessile serrated adenoma/polyp with and without cytologic dysplasia. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(3):388-393.
  62. Watanabe T, Kobunai T, Toda E, Yamamoto Y, Kanazawa T, Kazama Y, Tanaka J, Tanaka T, Konishi T, Okayama Y, Sugimoto Y, Oka T, Sasaki S, Muto T, Nagawa H. Distal colorectal cancers with microsatellite instability (MSI) display distinct gene expression profiles that are different from proximal MSI cancers. *Cancer Res*. 2006;66(20):9804-9808.
  63. Kang KJ, Sinn DH, Park SH, Kim JY, Chang DK, Son HJ, Rhee PL, Kim JJ, Rhee JC, Chun HK, Kim YH. Adenoma incidence after resection of sporadic colorectal cancer with microsatellite instability. *J Surg Oncol*. 2010;101(7):577-581.
  64. Ahearn TU, Shaikat A, Flanders WD, Seabrook ME, Bostick RM. Markers of the APC/beta-catenin signaling pathway as potential treatable, preneoplastic



- biomarkers of risk for colorectal neoplasms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(6):969-979.
65. Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature.* 1999;398(6726):422-426.
66. 日本消化器病学会編. 大腸ポリープ診療ガイドライン 2014 南江堂. 2014.
67. Kim KM, Lee EJ, Ha S, Kang SY, Jang KT, Park CK, Kim JY, Kim YH, Chang DK, Odze RD. Molecular features of colorectal hyperplastic polyps and sessile serrated adenoma/polyps from Korea. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(9):1274-1286.
68. Jass JR. Serrated route to colorectal cancer: back street or super highway? *J Pathol.* 2001;193(3):283-285.