

論文の内容の要旨

論文題目

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

瀧山亜希

【研究の背景】

大腸癌の死亡数は本邦でも依然として高いが、大腸癌の前駆病変である **adenoma** の切除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。また、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。特にリンチ症候群などの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発癌に関するリスクを有している。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。

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、**traditional pathway** は **APC (adenomatous polyposis coli)** 変異に起因して発生する **tubular adenoma** を前駆病変とする経路で大腸癌全体の約 7 割を占める。他方の **serrated pathway** は **sessile serrated adenoma/polyp (SSA/P)** または **TSA (traditional serrated adenoma)** を前駆病変とする。最終的に発生した大腸癌は、**microsatellite 不安定性 (microsatellite instability; MSI)** を有する **MSI 癌** と有さない **MSS (microsatellite stable) 癌** に分類される。**Microsatellite** とは、DNA に存在する 1～数塩基の繰り返し配列であり、**MSI** は DNA におけるミスマッチ修復遺伝子の異常が反映されたものである。ミスマッチ修復機能が失われると DNA の複製時にエラーを修正できず、大腸癌発癌リスクは高まる。リンチ症候群はミスマッチ修復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疾患であり、背景粘膜に先天的に発癌リスクを有した状態である。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まっている症例があるのではないかと、という考え方がある。これは **field cancerization** の仮説と呼ばれているが、いまだに証明されていない。

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。大腸癌と背景粘膜の関係について、**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 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背景因子の有意差を調整した報告はいくつかあるが、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】

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手術を施行した大腸癌患者を対象とし、家族性大腸腺腫症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 を切除しなかった症例は除外して後ろ向きにデータを収集した。症例は原則的に手術日に clean colon (大腸に adenoma がない状態) を達成したが、閉塞性大腸癌などの症例は術後早期に CS (colonoscopy) を施行された。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。

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や改訂ベセスダ基準への該当の有無、大腸癌以外の悪性腫瘍や 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臨床病理学的因子として検討した。また、大腸癌原発巣の切除検体から背景粘膜と大腸癌組織を採取して DNA を抽出し、BAT25、BAT26 の 2 つの MSI 判定用マーカーを PCR 法で増幅した。PCR 増幅産物を電気泳動してマーカーの蛍光色素を解析し、大腸癌原発巣の microsatellite status を判定した。Clean colon を達成した後の各回の CS で adenoma と考えられたポリープはその都度全て切除された。初発のポリープの発生部位別、病理組織別に、ポリープの長径と clean colon 達成日からの期間を計算し解析対象とした。大腸ポリープの病理組織型は、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。異時性大腸癌についても検討した。

大腸癌原発巣の *microsatellite status* と臨床病理学的因子を統計学的に解析した。次に 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対象として傾向スコアを算出した。原発巣の *microsatellite status* と術後のポリープ発生率または異時性大腸癌発生率との関連を、ポリープの発生部位別・病理組織別に Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定、Cox 比例ハザードモデルで傾向スコアを併用して検討した。

【結果】

本研究の対象は 338 症例であり、うち 27 症例 (8.0%) の大腸癌は MSI であった。

MSI 群と MSS 群の臨床病理学的因子を比較したところ、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 ($P < 0.01$)。

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、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。観察期間中、126 症例 (37.3%) で大腸ポリープが切除された。傾向スコアを用いない Cox 比例ハザードモデルの解析では、大腸ポリープの発生部位別、病理組織型別のいずれの項目においても有意差を認めなかった。次に、有意差のあった上記の臨床病理学的因子 4 項目を用いて傾向スコアを算出、これを併用して Cox 比例ハザードモデルで検討した。大腸ポリープの発生部位別検討では、MSS 群では直腸に発生した術後の大腸ポリープの頻度が 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; $P = 0.04$)。また、MSS 群では術後に発生した tubular adenoma の頻度が 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 群で発生頻度が有意に低かった (AHR = 0.12; $P = 0.03$)。大腸癌術後の異時性大腸癌 (Tis) は MSI 群と MSS 群で 1 例ずつ認められたが、両群間の発生頻度に有意差を認めなかった。また異時性大腸癌 (T2 以深) は MSI 群で 1 例認められたが 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。

【考察】

臨床病理学的因子では、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 項目において MSI 群と MSS 群の 2 群間で有意差が存在した。リンチ症候群のスクリーニングである改訂ベセスダ基準を満たす割合は MSI 群が MSS 群より有意に高かったが、同じくリンチ症候群のスクリーニングであるアムステルダム II 基準では有意差を認めず、MSI 群にリンチ症候群の症例が多く含まれていることを示唆する結果とは考えにくい。術前 CEA 値については MSI 群で MSS 群より有意に低く、既存の報告と異なったが、症例の原発巣のステージ構成が異なるためと考えられた。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、本研究の結果も同様であった。

MSS 群は MSI 群と比較して、1) MSS 癌原発巣の発生頻度が高い部位であった直腸にポリープが発生しやすく、2) MSS 癌の主な前駆病変である tubular adenoma が発生しやすかった。つまり、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い。本研究の結果からは、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、field cancerization の仮説に当てはまると考えられた。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。

本研究の限界として、背景粘膜を直接調べていない点、リンチ症候群の除外ができなかった点、術後の大腸ポリープの発生部位は、下部消化管内視鏡検査者の推定であり正確でない可能性がある点、tubulovillous/villous adenoma、serrated adenoma、異時性大腸癌の発生数が少なかった点、clean colon からの CS のインターバルが規定されていないことなどが考えられた。

【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 群に分け、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 項目に有意差が存在した。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。

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にポリープ発生のリスクが高いこと、そして全大腸に 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ると考えられた。