

論文の内容の要旨

論文題目 術前補助化学放射線療法を施行した下部進行直腸癌手術症例における、
腫瘍の粘液産生能および粘液関連蛋白発現の臨床学的意義

氏名 金子建介

【序文】

大腸粘液癌は一般的に予後が悪いとされるが、これに対する術前 CRT の局所制御効果については不明である。そもそも、直腸癌は他の結腸癌に比べ局所再発が多く、術前 CRT による局所制御効果を予測するマーカーの意義は大きい。そこで粘液形質を粘液産生量および粘液関連蛋白発現の双方の観点から、術前 CRT の効果や予後と粘液形質の相関を検討することが重要と考え、今回の研究を計画した。本研究ではまず術前 CRT を経て根治切除術を施行された下部進行直腸癌において、切除標本中に含まれる腫瘍の粘液産生量に着目した。大腸粘液癌は『大腸癌のうち細胞外粘液の占める面積が 50%以上であるもの』と定義されているが、これまでの研究において粘液癌の予後への影響に関する報告が一定しなかったのは、粘液産生量が 50%未満ながら一定の粘液産生能を有する症例が一律に非粘液癌として扱われてきたことが一因と考えられた。そこで今回我々は、病変に対して粘液が占める割合を個々の症例ごとに評価し、この割合と術前 CRT の効果および予後との相関を解析することとした。同時に、粘液関連蛋白である MUC1・MUC2・MUC5AC について免疫染色を行い、陽性を示す症例における臨床病理学的傾向ならびに予後を解析した。

【目的】

術前 CRT を施行した下部進行直腸癌において、

- 1) 粘液産生量が臨床病理学的因子および予後に与える影響について明らかにする。
- 2) 粘液関連蛋白 (MUC1・MUC2・MUC5AC) について 1)と同様に明らかにする。

【対象・方法】

対象

2003年1月から2012年12月までに東京大学医学部附属病院大腸肛門外科にて、術前CRTの後に根治的切除術を施行された下部進行直腸癌症例のうち、手術時点において遠隔転移を有さない130症例を対象とした。対象となった患者の全員に対して、術前に50.4Gyの放射線照射および、それと並行して5-FUをベースとした化学療法を施行し、6-8週のちに原則として標準的な根治切除術を施行、4例に対しては局所切除術を施行した。術前に臨床病期が評価され、Clinical Stage II (cT3-4, cN0, cM0)およびClinical Stage III (cT1-4, cN+, cM0)の症例に対し術前CRTを施行した。CRTの前後のバリウム注腸検査から、縮小率を計算した。全ての症例は病理組織学的に評価され、臨床病期および病理組織学的病期とともにAmerican Joint Committee on Cancer第7版にて定義されたTNM分類にもとづいて最終病期診断がなされた。本研究は、東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会の承認の下、全ての患者に対して研究内容を提示し、同意書による同意を得た上で実施された。

病理組織学的評価

術前CRT施行前の生検検体を病理組織学的に評価し、腫瘍内に粘液成分について評価を行った。腫瘍細胞に近接した間質に広く粘液成分を認めるものを、生検における粘液陽性と評価した。切除検体に対してHE染色ならびにPAS/AB染色を施行し、粘液の占める面積を評価した。これを元に、細胞外粘液の面積割合に応じて、低粘液産生グループ (<5%)、中粘液産生グループ (5-25%)、高粘液産生グループ (>25%)の3群に症例を分けた。粘液量評価を行うに当たって、症例ごとにスライド全視野をそれぞれ最低5枚ずつ評価した。

免疫染色

免疫染色を用いて、切除標本上の腫瘍細胞におけるMUC1・MUC2・MUC5ACの発現を評価した。腫瘍細胞の消失した病理学的奏効率 grade3 症例は除外した。染色された細胞が全体の10%以上を占めるものを陽性であると定義した。各症例につき、腫瘍細胞を含むスライドの全視野を評価した。

統計学的解析

カテゴリカルデータの単変量解析にはPearsonのカイ二乗検定、またはFisherの正確確率検定を用い、単変量解析にて $P < 0.1$ となった因子を多変量解析にエントリーした。多変量解析にはLogistic回帰分析

を用いた。生存率の単変量解析には Kaplan-Meier 法および Log rank test を、生存率の多変量解析には Cox の比例ハザードモデルを用いた。P<0.05 となった因子を多変量解析にエントリーした。いずれの解析においても、P<0.05 となるものを統計的に有意であるとした。

【結果】

術前 CRT を施行した下部進行直腸癌手術症例 130 例について粘液産生能の解析を行った結果、

- 1) 粘液産生量が 25%を超える高粘液産生群において、腫瘍の深達度が有意に高い (P=0.010)。
- 2) 粘液産生量が 25%を超える高粘液産生群は、無病生存率および遠隔無再発生存率において独立して予後不良であった。
- 3) CRT 奏効率 Grade 1a, 1b だった症例は、局所無再発生存率において独立して予後不良であった。粘液産生量が 25%を超える高粘液産生群は、再発・遠隔再発の高リスク群と考えられた。

また、術前 CRT 後に pCR (病理学的完全寛解) を示さなかった 117 症例において、

- 1) MUC1 および MUC5AC 陽性群において CRT 奏効率が低かった。これらの粘液関連蛋白発現は、術前 CRT の効果を減弱させる影響をもつ可能性が示唆された。
- 2) 粘液産生量が高いことと MUC2 陽性が強く相関した一方、それ以外の組み合わせにおいて粘液産生量と各粘液関連蛋白発現は必ずしも一致せず、個々の症例ごとに異なった。
- 3) MUC1 および MUC2 発現は予後と相関を認めなかったが、MUC5AC 発現および高粘液産生は、独立した遠隔転移再発の危険因子であった。この両者が共に陽性であった症例では極めて遠隔転移再発の頻度が高かった。

【考察】

本研究において MUC1、MUC5AC 陽性症例で CRT 奏効率が低く、これらの発現が CRT 前の効果予測因子である可能性を示唆していると考えられた。ただし、これらの粘液関連蛋白が陽性であっても CRT が奏効している症例はあり、この事実のみを以て CRT 適応基準とするのは困難であると考えられ、

すでに報告されている biomarker を組み合わせることで、より精度の高い CRT の効果予測を立てられる可能性があると考えられた。

一方、MUC5AC 陽性の症例では術後の遠隔転移再発が多く、予後不良であった。MUC5AC 陽性症例においては予後不良因子である BRAF 変異・CIMP の頻度が高いことが報告されており、このような腫瘍原性の違いが MUC5AC で遠隔再発の頻度が高い一つの要因となったのではないかと考えられた。

本研究では、粘液形質を有する直腸癌では術前 CRT の効果が低いのではないかと仮説のもとに行ったが、結果は予想とは異なり、粘液産生能の高い癌および粘液関連蛋白を多く発現している癌でも、術前 CRT により十分な局所制御が得られるということがわかった。

しかしながら、MUC5AC 陽性であること、および粘液産生量が 25%を超えることは、遠隔無再発生存率における独立した予後不良因子であった。これらの特徴を示す症例においてはより密にサーベイランスを行うことや、より強力な術後補助化学療法を導入することを検討する必要があると考えられた。

【結論】

術前 CRT を施行した下部進行直腸癌症例において、粘液産生能の高い癌や粘液関連蛋白を発現している癌でも術前 CRT による十分な局所制御効果が得られており、これらの因子は術前 CRT の効果を減弱させるものではないと考えられた。一方、粘液産生量が 25%を超える症例および MUC5AC 陽性症例では遠隔転移再発の頻度が高く、双方を同時に満たす症例では特に高率に遠隔転移再発を認めており、これらの症例ではより密にサーベイランスを行うことや、より強力な術後補助化学療法を考慮すべきと考えられた。

本研究が発端となり、下部進行直腸癌に対して粘液形質を含めた様々なバイオマーカーの発現を考慮した治療選択が行われることを期待する。