

## 学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	加藤 祐己
論文審査担当者	主査 岡本 隆一 副査 坂内 英夫、春木 茂男
論文題目	Invasive features of superficial oesophageal squamous cell carcinoma—analysis of risk factors for lymph node metastasis
<p style="text-align: center;">(論文内容の要旨)</p> <p>&lt;要旨&gt;</p> <p>表在型食道扁平上皮癌 (SESCC) において、浸潤先端部の組織像を含む臨床病理学的因子とリンパ節転移 (LNM) のリスクについて詳細に検討した研究はない。本研究は SESCOC における LNM と再発のリスクのより適切な評価に寄与するアルゴリズムの作成を目的とした。88 例の SESCOC 外科切除例において submucosal invasion distance (SMID) 等の臨床病理学的因子を検討した。浸潤先端部の組織像として tumour budding における腫瘍胞巣構成細胞数と胞巣の個数の修正により modified tumour budding (MBD) を評価した。SMID は 600 <math>\mu\text{m}</math> が LNM に関して統計学的に最も優れた値であった。臨床病理学的因子を用いて LNM のリスクを予測するアルゴリズムを作成したところ、SMID: 600 <math>\mu\text{m}</math> と MBD のうち 5 個以下の腫瘍細胞で構成される胞巣数 5 個以上 (MBD5 high-grade <math>\geq 5</math>) を組み合わせたアルゴリズムが最も優れており、無再発生存期間とも有意に関連していた。同アルゴリズムを今後さらに検討することで、SESCC に対する内視鏡的切除後の適切な追加治療や適切な初回治療の選択が可能となり、患者 QOL の向上が期待される。</p> <p>&lt;緒言&gt;</p> <p>食道扁平上皮癌 (ESCC) では内視鏡切除が行われることがあるが、現状では内視鏡切除後のリンパ節再発症例が存在するなど適切な治療法が選択されているとは言い難い。表在型食道扁平上皮癌 (SESCC) のリンパ節転移 (LNM) のリスク因子について浸潤先端部の組織像も含め詳細に検討したデータに基づく内視鏡切除の適応拡大のための研究報告はない。本邦の食道癌診療ガイドラインでは、臨床的に tumor depth (TD): T1b-SM (submucosa) と判断される SESCOC 症例は内視鏡切除の対象とならないとされ、たとえ内視鏡切除が行われたとしても病理組織学的診断で TD: pT1a-MM (muscularis mucosa) かつ lymphovascular invasion (LVI) (+) の場合および pT1b-SM の場合には LNM のリスクを考慮し外科切除等の追加治療を行うことが推奨されているが、これらの症例の中には将来的に LNM を来さない症例も多く含まれていることが想定され追加治療は過剰な治療となる。SESCC の LNM のリスク因子として TD や LVI 等が報告されており、また浸潤先端部の組織像として tumor budding (BD) が文献的に検討されている。BD は浸潤先端部において間質に浸潤する 1 個ないし 5 個未満の癌胞巣と定義され、大腸癌等の消化管原発癌において LNM や</p>	

予後を予測する因子として報告されている。SESCCにおいてBDについて検討した報告では大腸癌のBDの定義を採用しており、SESCCにおける適切なBDの定義に関する詳細な検討を行った報告は見られない。本研究では、SESCCにおいて浸潤距離および浸潤先端部の組織学的特徴を詳細に分類し、LNMや再発のリスク因子としての意義を検討した。さらにこれらの結果に基づきLNMと再発のリスクをより適切に評価するアルゴリズムを作成した。

#### <材料と方法>

1999-2019年に東京医科歯科大学病院において術前化学放射線療法を行わず根治的切除が行われたSESCCの症例88例のFFPE標本に対して、TD、SM invasion distance (SMID)、LVI等の病理組織学的因子の評価を行った。SMIDについては腫瘍最深部での粘膜筋板からの浸潤距離を測定し、200  $\mu\text{m}$ -800  $\mu\text{m}$ の100  $\mu\text{m}$ 毎に分類を行いLNMとの関連について検討した。大腸癌取扱い規約ではBD胞巣を浸潤先端部にて対物レンズ20倍1視野で数え、BD胞巣0-4個をBD1、5-9個をBD2、10個以上をBD3としている。今回浸潤先端部の組織像のより詳細な検討のためにBDを改変したmodified tumor budding (MBD)を作成し評価した。BD胞巣構成細胞数について1-5個の値で、BD胞巣の個数の閾値について4-9個の値で評価を行いBD胞巣の個数が閾値以上の症例をhigh gradeとした。またDIの改変により浸潤先端部における最小腫瘍胞巣についても検討した。臨床病理学的因子とLNMや無再発生存期間との関連について統計学的に評価し、 $p < 0.05$ の時を統計学的有意差ありとした。またSMIDについてROC曲線を用いてLNMに関連するカットオフ値を求めた。

#### <結果>

臨床病理学的因子のうち年齢、TD、lymphatic invasion、venous invasion、LVIはLNMと有意な関連が見られた。SMIDは $\geq 200 \mu\text{m}$ - $\geq 800 \mu\text{m}$ いずれもLNMと有意な関連が見られた。またSMIDについてROC曲線によりLNMに関連したカットオフ値を求めたところ600  $\mu\text{m}$ であった(感度94.6%、特異度49.0%)。SMID: 600  $\mu\text{m}$ はLNMに関して統計学的には最も優れたカットオフ値であるものの、クリニカルには十分な特異度とは言えないため、浸潤先端部の組織像の検討を行った。MBDのうち腫瘍胞巣構成細胞数3個以下(MBD3)、5個以下(MBD5)についてLNMと有意な関連が見られた。MBD3、MBD5の腫瘍胞巣の個数の閾値について4-9個の値で検討したところいずれの値についてもLNMとの有意な関連が見られた。SMID  $\geq 600 \mu\text{m}$ 、LVI、およびMBD5 high-grade ( $\geq 5$ ) (MBDのうち5個以下の腫瘍細胞で構成される胞巣数5個以上)等の浸潤先端部の組織像を組み合わせ多変量解析を行ったところ、SMID  $\geq 600 \mu\text{m}$ のみがLNMに関する独立した予測因子となった。またSMID  $\geq 600 \mu\text{m}$ 、LVIは無再発生存期間との有意な関連が見られた。SMID  $\geq 600 \mu\text{m}$ 、LVI、MBD5 high-grade ( $\geq 5$ )について、無再発生存期間に関する多変量解析を行ったがいずれも独立した予後予測因子とはならなかった。SMID: 600  $\mu\text{m}$ とMBD5やLVI等の因子を組み合わせLNMのリスク予測のためのアルゴリズムを作成し、LNMおよび無再発生存期間との関連について検討しアルゴリズム同士を比較した。SMID  $\geq 600 \mu\text{m}$ 、SMID  $\leq 600 \mu\text{m}$ かつMBD5 high-grade ( $\geq 5$ )の症例をhigh-risk group、SMID  $\leq 600 \mu\text{m}$ かつMBD5 low-grade ( $< 5$ )の症例をlow-risk

group とした時に LNM との有意な関連が見られ ( $p < 0.0001$ )、無再発生存期間とも有意な関連が見られた ( $p = 0.0282$ )。同アルゴリズムでは low-risk group の LNM 率が 0%であった。一方でその他のアルゴリズムでは、low-risk group に分類可能な症例数が少ない、low-risk group で LNM 例が生じる、無再発生存期間との有意な関連の有無が明らかでない等、上記アルゴリズムと比較してより優れたものは認められなかった。

#### < 考察 >

ESCC に対する内視鏡切除の適応については、過剰な外科的侵襲リスクや内視鏡切除後の LNM のリスクの残存などの課題が残っている。ゆえに臨床病理学的因子の詳細な解析結果に基づく内視鏡切除後の LNM のリスク評価、およびより適切な内視鏡切除の選択基準のためのアルゴリズムの構築が望まれる。本研究では、統計学的な観点からは SMID: 600  $\mu\text{m}$  が LNM のリスク評価に関して最適である可能性が考えられた。また浸潤先端部の組織像について詳細に検討し LNM や再発のリスク評価に関するアルゴリズムを作成したところ、SMID: 600  $\mu\text{m}$  と組み合わせる因子として MBD5 high-grade ( $\geq 5$ )が有用である可能性が考えられた。SMID が 600  $\mu\text{m}$  までの内視鏡切除が可能な症例については、本研究のアルゴリズムを内視鏡切除検体に用いることにより、適切な LNM のリスク予測やひいては適切な二期的な外科切除の選択が可能になるかもしれない。さらにこれらのエビデンスを蓄積することにより臨床的な TD: T1b-SM の症例に対する内視鏡的治療の拡大による患者 QOL の向上が期待される。しかし本研究の様に臨床的な高リスク症例のみを抽出することでバイアスが発生する可能性があり、臨床的に低リスクの症例に対しては本研究のアルゴリズムが有用でない可能性があるため、アルゴリズムの有用性の評価のため追加のリンパ節郭清まで行われた内視鏡切除例 (臨床的に低リスクとされたが内視鏡切除後の病理組織学的評価で高リスクと判断された症例)も含めた検討を行う必要がある。さらに本研究は単施設での検討のため症例数が少なく、アルゴリズムのエビデンス確立のために今後外科切除例の中で SMID < 600  $\mu\text{m}$  の症例をより多く追加した検討や多施設共同研究、大規模な前向きコホート研究を行う必要もある。さらに ESCC を含む癌の浸潤、転移に関わるメカニズムとして上皮間葉転換 (EMT)が昨今言われており、今後は EMT 関連分子も含めた検討を行っていききたい。

#### < 結論 >

pT1b-SM の SESCC 症例は臨床的に高リスクとされるがその中には LNM や再発のリスクが相対的に低い症例も含まれる。本研究では臨床病理学的因子を組み合わせたアルゴリズムによりそれら低リスク症例を抽出することが可能となった。アルゴリズムの更なる検討により、SESCC 症例に対する内視鏡的切除後の適切な追加治療の選択による患者 QOL の向上が期待され、また LNM や再発のリスクに関する知見の蓄積により、より適切な初期治療の選択が可能になると考えられる。

# 論文審査の要旨および担当者

報告番号	甲第 6845 号	加藤 祐己
論文審査担当者	主 査 岡本 隆一 副 査 坂内 英夫、春木 茂男	
<b>【論文審査の要旨】</b>		
<b>1. 論文内容</b>		
本論文は食道表在癌のリンパ節転移リスク評価のアルゴリズム作成に関する論文である。		
<b>2. 論文審査</b>		
<u>1) 研究目的の先駆性・独創性</u>		
表在型食道扁平上皮癌(ESCC)はリンパ節転移のリスクを有するが、臨床病理学的因子からそのリスクを客観的に評価する方法は確立されていない。このような背景の下、申請者は 88 例の外科手術症例の組織を用いて複数の臨床病理学的因子を候補に挙げ、表在型食道扁平上皮癌(ESCC)はリンパ節転移のリスク因子の抽出とリスク評価アルゴリズムの確立を試みており、その着眼点は評価に値するものである。		
<u>2) 社会的意義</u>		
本研究で得られた主な結果は以下の通りである。		
1. 臨床病理学的因子のうち年齢、tumor depth(TD)、lymphatic invasion (LI)、venous invasion、Lymphovascular invasion (LVI) は ESCC のリンパ節転移と有意な関連が見られた。		
2. SM 浸潤距離 (SMID)について ROC 曲線により求めた ESCC のリンパ節転移に関するカットオフ値は 600 $\mu$ m であった。		
3. SMID 600 $\mu$ m 以上及び LVI は無再発生存期間と有意な関連がみられた。		
4. SMID 600 $\mu$ m をカットオフ値とし、腫瘍胞巣構成細胞数 5 個以上及び 5 個以下でリンパ節転移リスクを層別化することにより、high-risk group と low-risk group を予測可能なアルゴリズムを構築できる可能性が示された。		
以上のように申請者は新たに表在型食道扁平上皮癌(ESCC)におけるリンパ節転移のリスク因子の抽出とリスク評価アルゴリズムの構築を達成しており、臨床的にも極めて有用な研究成果であると言える。		
<u>3) 研究方法・倫理観</u>		
研究には 8 例の外科手術症例の組織検体が用いられ、これを画像上で病理学的に計測・解析することで臨床病理学的因子の抽出・数値化を行った。本手法は十分な病理学的及び臨床的知識及び病理標本の作成・処理技術の裏付けのもとに遂行されており、申請者の研究方法に対す		

る知識と技術力が十分に高いことが示されると同時に、本研究が極めて周到な準備の上に行われてきたことが窺われる。

#### 4) 考察・今後の発展性

さらに申請者は臨床的に高リスクの外科手術症例のみを対象とした本研究の限界についても考察をしており、内視鏡切除例のような低リスク症例にはそのままアルゴリズム等を用いることが困難である可能性、十分な症例数の低リスク症例でも同様の検討を行う必要性を指摘している。これは先行研究と照らし合わせても極めて妥当な考察であり、今後の研究にてさらに発展することが期待される。

### **3. その他**

特記事項なし。

### **4. 審査結果**

以上を踏まえ、本論文は博士(医学)の学位を申請するのに十分な価値があるものと認められた。