



Dichotomy in intrahepatic cholangiocarcinomas based on histologic similarities to hilar cholangiocarcinomas

Akita, Masayuki

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2019-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7457号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007457>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



学位論文の内容要旨

Dichotomy in intrahepatic cholangiocarcinomas based on histologic similarities to hilar cholangiocarcinomas

肝門部胆管癌との組織学的な類似性に基づく肝内胆管癌の分類

神戸大学大学院医学研究科医学専攻

肝胆脾外科学

(指導教員：福本 巧 教授)

秋田 真之

【緒言】

肝内胆管癌は2番目に多い原発性肝癌であり、肝細胞癌と比較してその予後が不良であることが知られている。肝内胆管癌は組織学的に腺癌であるが、その遺伝子学的・生物学的な背景は不均一である。近年の研究から肝内胆管癌には臨床病理学的に特徴の異なる2つのサブタイプが存在することが推定されている。一つはウイルス性肝炎やアルコール性肝疾患などを背景として肝内末梢の小型胆管から発生すると推定されており、組織学的には主に反応性細胆管様の粘液に乏しい腺管構造からなる。もう一方は、肝門寄りの大型胆管から発生すると考えられ、大きな腺管構造からなるなどの特徴を有し、時に前癌病変である biliary intraepithelial neoplasia(BilIN)を伴い、多段階発癌の形式を取ることが予想される。本研究では前者の特徴を有するものを末梢型肝内胆管癌、後者を中枢型肝内胆管癌と定義する。

これまでに報告された肝内胆管癌の組織学的な分類のいずれにおいても、上記のような特徴的な2つのサブタイプの存在が確認され、遺伝子変異等の差異も報告されているが、その分類基準は検討間で異なり（解剖学的な腫瘍の局在や、S100P、N-cadherin、tubulin β IIIなどの免疫染色による）、それぞれの分類が普遍的に受け入れられるまでには至っていない。

本研究では、組織学的な特徴から肝内胆管癌の分類を試みた。中枢型の肝内胆管癌は肝門部胆管癌と同様の組織学的な特徴を有するであろうとの仮説に立ち、まず肝門部胆管癌の組織学的な特徴を抽出した。それらの特徴を有する肝内胆管癌を中枢型、それ以外を末梢型肝内胆管癌と分類し、中枢型・末梢型・肝門部胆管癌の3群でその臨床病理学的・遺伝子学的な特徴を検討した。

【方法】

2000年から2015年に神戸大学附属病院で根治切除を行われた肝内胆管癌47例と、同様に2008年から2015年に切除された肝門部胆管癌32例を対象とした。混合型肝癌・細胆管癌は除外した。下記の基準全てを満たすものを中枢型肝内胆管癌とし、それ以外を末梢型肝内胆管癌と分類した。

- (1) 細胞内粘液を有する丈の高い細胞からなる大型の腺管構造
- (2) 反応性の細胆管様の腫瘍構造は認めるることはあっても腫瘍辺縁部のみ以上から末梢型(26例)・中枢型肝内胆管癌(21例)・肝門部胆管癌(32例)を臨床病理学的に比較した。免疫染色は以下の項目で行い(MUC1,2,5AC,6,CK7,CK20,p53,SMAD4,BAP1)、遺伝子変異検索は術後診断残余検体(FFPE)からDNA抽出を行いsanger法によりKRAS(exon2,3)、IDH1/2(codon132,172)の遺伝子変異解析を行った。

【結果】

末梢型肝内胆管癌は背景に慢性肝疾患有する率が高く(62%)、腫瘍の肉眼形態は全例が腫瘍形成型であった。病理学的には中枢型と比較して神経周囲浸潤の割合が低く(23%)、肝内転移率が高い(39%)特徴を有していた。一方で中枢型肝内胆管癌は背景肝の異常を伴わず(15%)、肉眼形態ではその多くが胆管浸潤型(71%)で、脈管浸潤(86%)・神経周囲浸潤(91%)の割合が高かった。また多くの症例で腫瘍周囲の胆管に前癌病変であるBilINを伴っていた(29%)。これら中枢型肝内胆管癌で認められた特徴は肝門部胆管癌も同程度有していることが明らかとなった。

免疫染色では末梢型肝内胆管癌で有意なMUC5AC(8%)/MUC6(4%)の発現低下・BAP1の発現消失(5%)を認め、中枢型肝内胆管癌では有意にSMAD4の発現低下(4%)を認めた。臨床病理学的な検討同様、中枢型肝内胆管癌と肝門部胆管癌はいずれの染色においても同等の発現を認めた。

Sanger法による解析ではKRASの変異頻度は3群で15~19%と有意差は無いものの、IDH1の遺伝子変異は末梢型肝内胆管癌のみで認められた(15%, p<0.05)。

5年生存率では、末梢型肝内胆管癌で63%、中枢型で21%と末梢型が有意に予後良好であり、肝内胆管癌の予後因子に関する多変量解析では、今回用いた管内胆管癌の分類のみが独立した予後規定因子と同定された(p<0.01, HR3.64, 95%CI 1.47-9.68)。中枢型肝内胆管癌と肝門部胆管癌はほぼ同様の予後であった。

【考察】

本研究結果から、1)肝内胆管癌の55%は末梢型、45%は中枢型に分類され、2)2つのサブタイプは明瞭に異なる臨床病理学的な特徴(慢性肝疾患の併存、上皮内癌の併存、immunophenotypeなど)が存在し、3)IDH1, SMAD4, BAP1の変異率に大きな差があり、4)中枢型肝内胆管癌は末梢型と比較して優位に予後不良で、5)中枢型肝内胆管癌は臨床病理学的および遺伝子学的に肝門部胆管癌と酷似していることが明らかとなった。

過去に報告された病理学的検討に基づく肝内胆管癌の分類の報告と比較しても、末梢型・中枢型の割合や遺伝子変異の傾向、予後など同様の結果が報告されており、今回の病理組織像のみによる分類は簡便であり有用であると考えられた。

本研究を含めて報告されているIDH1/2やFGFR2融合遺伝子の異常に対しては、これらをターゲットとした分子標的治療の治験が胆管がんを含めた癌種で進んでいる。これらの遺伝子変異はそれぞれ末梢型・中枢型肝内胆管癌にの

み認められるものであり、今後分子標的治療が導入された際には導入や効果予測の指標になると考えられる。

【結論】

組織学的な肝門部胆管癌との類似性に着目した本基準により、明らかに特徴の異なる2つのサブタイプが抽出された。また中枢型肝内胆管癌と肝門部胆管癌はその臨床病理学的及び遺伝子学的特徴が共通しており、生物学的には同一の腫瘍である可能性が考えられた。

神戸大学大学院医学(系)研究科(博士課程)

| 論文審査の結果の要旨 | | | |
|----------------------------------|--|----|-------|
| 受付番号 | 甲 第 2856 号 | 氏名 | 秋田 真之 |
| 論文題目 Title of Dissertation | <p>Dichotomy in intrahepatic cholangiocarcinomas based on histologic similarities to hilar cholangiocarcinomas</p> <p>肝門部胆管癌との組織学的な類似性に基づく肝内胆管癌の分類</p> | | |
| 審査委員 Examiner | <p>主査 Chief Examiner 見玉、裕三</p> <p>副査 Vice-examiner 久田 充</p> <p>副査 Vice-examiner 林 祥岡</p> | | |

(要旨は1,000字~2,000字程度)

【緒言】

肝内胆管癌は2番目に多い原発性肝癌であり、肝細胞癌と比較してその予後が不良である。近年の研究から肝内胆管癌には臨床病理学的に異なる2つのサブタイプが存在することが推定されている。一つは慢性肝疾患などを背景として肝内末梢の小型胆管から発生すると推定されている。もう一方は、肝門寄りの大型胆管から発生すると考えられ、大きな腺管構造からなるなどの特徴を有し、時に前癌病変である biliary intraepithelial neoplasia(BilIN)を伴い、多段階発癌の形式を取ることが予想される。本研究では前者の特徴を有するものを末梢型肝内胆管癌、後者を中枢型肝内胆管癌と定義する。

これまでに報告された肝内胆管癌の組織学的な分類のいずれにおいても、上記の特徴的な2つのサブタイプの存在が確認され、遺伝子変異等の差異も報告されているが、その分類基準は検討間で異なり(解剖学的な腫瘍の局在や、S100P、N-cadherin、tubulin β IIIなどの免疫染色による)、各々の分類が普遍的に受け入れられるまでには至っていない。

本研究では、中枢型の肝内胆管癌は肝門部胆管癌と同様の組織学的な特徴を有するであろうとの仮説に立ち、まず肝門部胆管癌の組織学的な特徴を抽出した。それらの特徴を有する肝内胆管癌を中枢型、それ以外を末梢型肝内胆管癌と分類し、中枢型・末梢型・肝門部胆管癌の3群でその臨床病理学的・遺伝子学的な特徴を検討した。

【方法】

2000年から2015年に神戸大学附属病院で根治切除を行われた肝内胆管癌47例と、同様に2008年から2015年に切除された肝門部胆管癌32例を対象とした。混合型肝癌・細胆管癌は除外した。下記の基準全てを満たすものを中枢型肝内胆管癌とし、それ以外を末梢型肝内胆管癌と分類した。

(1) 細胞内粘液を有する丈の高い細胞からなる大型の腺管構造
 (2) 反応性の細胆管様の腫瘍構造は認めることはあっても腫瘍辺縁部のみ
 以上から末梢型(26例)・中枢型肝内胆管癌(21例)・肝門部胆管癌(32例)を臨床病理学的に比較した。免疫染色は以下の項目で行い(MUC1,2,5AC,6,CK7,CK20,p53,SMAD4,BAP1)、遺伝子変異検索は術後診断残余検体(FFPE)からDNA抽出を行いsanger法によりKRAS(exon2,3)、IDH1/2(codon132,172)の遺伝子変異解析を行った。

【結果】

末梢型肝内胆管癌は背景に慢性肝疾患を有する率が高く(62%)、腫瘍の肉眼形態は全例が腫瘍形成型であった。病理学的には中枢型と比較して神経周囲浸潤の割合が低く(23%)、肝内転移率が高い(39%)特徴を有していた。一方で中枢型肝内胆管癌は背景肝の異常を伴わず(15%)、肉眼形態ではその多くが胆管浸潤型(71%)で、脈管浸潤(86%)・神経周囲浸潤(91%)の割合が高かった。また多くの症例で腫瘍周囲の胆管に前癌病変である BilIN を伴っていた(29%)。これら中枢型肝内胆管癌で認められた特徴は肝門部胆管癌も同程度有していることが明らかとなった。

免疫染色では末梢型肝内胆管癌で有意な MUC5AC(8%)/MUC6(4%)の発現低下・BAP1 の発現消失(5%)を認め、中枢型肝内胆管癌では有意に SMAD4 の発現低下(4%)を認めた。臨床病理学的な検討同様、中枢型肝内胆管癌と肝門部胆管癌はいずれの染色おいても同等の発現を認めた。

Sanger 法による解析では KRAS の変異頻度は 3 群で 15~19%と有意差は無いものの、IDH1 の遺伝子変異は末梢型肝内胆管癌のみで認められた(15%, p<0.05)。

5 年生存率では、末梢型肝内胆管癌で 63%、中枢型で 21%と末梢型が有意に予後良好であり、肝内胆管癌の予後因子に関する多変量解析では、今回用いた管内胆管癌の分類のみが独立した予後規定因子と同定された($p<0.01$, HR3.64, 95%CI 1.47-9.68)。中枢型肝内胆管癌と肝門部胆管癌はほぼ同様の予後であった。

【考察】

本研究結果から、1)肝内胆管癌の 55%は末梢型、45%は中枢型に分類され、2) 2つのサブタイプは明瞭に異なる臨床病理学的な特徴(慢性肝疾患の併存、上皮内癌の併存、immunophenotype など)が存在し、3)IDH1, SMAD4, BAP1 の変異率に大きな差があり、4)中枢型肝内胆管癌は末梢型と比較して優位に予後不良で、5)中枢型肝内胆管癌は臨床病理学的および遺伝子学的に肝門部胆管癌と酷似していることが明らかとなった。

過去に報告された病理学的検討に基づく肝内胆管癌の分類の報告と比較しても、末梢型・中枢型の割合や遺伝子変異の傾向、予後など同様の結果が報告されており、今回の病理組織像のみによる分類は簡便であり有用であると考えられた。

本研究を含めて報告されている IDH1/2 や FGFR2 融合遺伝子の異常に対しては、これらをターゲットとした分子標的治療の治験が胆管がんを含めた癌種で進んでいる。これらの遺伝子変異はそれぞれ末梢型・中枢型肝内胆管癌にのみ認められるものであり、今後分子標的治療が導入された際には導入や効果予測の指標になると考えられる。

【結論】

組織学的な肝門部胆管癌との類似性に着目した本基準により、明らかに特徴の異なる 2 つのサブタイプが抽出された。また中枢型肝内胆管癌と肝門部胆管癌はその臨床病理学的及び遺伝子学的特徴が共通しており、生物学的には同一の腫瘍である可能性が考えられた。

本研究は肝内胆管癌の分類について研究したものであるが、今後発展すると思われる分子生物学的な特徴に基づく治療に寄与する重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。