

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 福地 剛英

横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻 消化器内科学

審査員

主査	横浜市立大学大学院医学研究科 組織学	教授	大保 和之
副査	横浜市立大学大学院医学研究科 消化器・腫瘍外科学	准教授	石部 敦士
副査	横浜市立大学大学院医学研究科 臨床統計学	准教授	山本 紘司

Potential roles of gastroesophageal reflux in patients with superficial esophageal squamous cell carcinoma without major causative risk factors

(食道扁平上皮癌発症低リスク患者群の臨床病理学的特徴と

その発癌における逆流性食道炎の影響)

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00535-021-01815-x>

【序論】

食道癌は世界で8番目に多い癌であり、癌関連死のうち6番目に多い原因である。(Gupta et al., 2017) 一般的に女性より約三倍程度男性に多いと言われている。食道癌はその組織型から食道腺癌 (Esophageal adenocarcinoma) と食道扁平上皮癌 (Esophageal squamous cell carcinoma) とに大きく2分される。食道扁平上皮癌はアジア諸国では食道癌の主要な組織学的サブタイプであるのに対し、食道腺癌は西欧諸国で優勢である。胃食道逆流症と食道腺癌の間には強い因果関係がある一方、食道扁平上皮癌の主な原因は喫煙と飲酒でありこれらが組み合わさって相乗効果を示している。さらに食道扁平上皮癌の内視鏡的切除を受けた患者らを対象とした最近の前向きコホート研究では、ルゴール色素内視鏡検査によってまだら不染帯の程度が3段階で評価され、異時性食道扁平上皮癌の累積発生率とまだら不染帯のグレードとの間に強い関連性があることが示された。したがって、大酒家や喫煙者で複数のまだら不染帯を認めた患者においては、注意深いフォローアップが必要であるとされる。(Katada et al., 2016) しかし実臨床においては、これらの食道扁平上皮癌の主要なリスク因子をいずれも有さない患者に遭遇することがあり、そうした患者群の詳細な特徴は今までほとんど検討されてこなかった。本研究では当院で内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) が実施された早期扁平上皮癌患者の中で、喫煙・飲酒歴もなく内視鏡的にルゴール不染帯も全く認めない患者群の臨床病理学的特徴と共に、その遺伝子変異を明らかにすることを目的とした。

【実験材料と方法】

2002年8月から2018年12月までに、横浜市立大学附属市民総合医療センターでESDが施行された表在性食道扁平上皮癌512症例704病変を対象に後ろ向き観察研究を行った。登録された患者は、上記3大リスク因子に基づいて、低リスク群とリスク群の2群に分けられた。これらの2群間での臨床的な背景の詳細と病変の部位やサイズや形態学的な内視鏡所見を比較検討し

た．また低リスク群を円形タイプ (round-type) と線状タイプ (linear-type) に分けて病理学的所見をさらに解析しその特徴を検証し、最終的に低リスク群の病変を対象に ESD 標本から次世代シーケンサー (NGS) を用いて体細胞遺伝子変異解析を行った．

【結果】

患者背景として低リスク群は 21 人 (4.1%) 症例であり、全例が特に家族歴や頭頸部癌既往歴のない女性であった．特徴として低リスク群の患者の多くは逆流性食道炎 (GERD) を示しており、その背景として食道裂孔ヘルニアや萎縮性胃炎のない背景胃粘膜を呈し、全員がヘリコバクターピロリ菌未感染状態であった．また低リスク群の内視鏡所見としては胸部中部食道の後壁にある線状病変もしくは円形病変であり、背景粘膜にはびらんや白色付着物といった所見を多く認めた．さらに低リスク群の腫瘍と背景粘膜に対する病理組織学的検査では、線状病変の多くの症例が食道炎の病理学的慢性炎症を示す背景粘膜に連続して、基底層および傍基底層に限定された高分化の腫瘍性変化を示した．さらに NGS を使用した癌関連遺伝子変異の精査の結果、既報にあるリスク群同様に、低リスク群でも TP53 変異が比較的多く認められた．

【考察】

食道扁平上皮癌の発癌における主要なリスク因子に関しては、既報にもあるように飲酒と喫煙が挙げられているが、近年では内視鏡所見であるまだら不染帯も食道扁平上皮癌の発癌リスク因子として注目されている．これらの 3 因子を全く認めない患者群の臨床病理学的特徴を検討した結果、逆流性食道炎が食道扁平上皮癌の発癌に関与している可能性があることが示唆された．本研究では、これらが臨床所見と内視鏡検査所見のみならず、病理組織学的にもその関連を示すことができたことに関して新規性を認めた．一方で遺伝子変異解析に関しては低リスク群でもその多くが TP53 変異を有しており、通常型であるリスク群と同じ分子機構を持つ可能性が示唆された．

一般的には逆流性食道炎は背景にバレット食道を伴う食道腺癌の原因となることが知られており、日本を含むアジアでは増加傾向ではあるものの、依然として少数派である．しかし本研究では食道腺癌ではなく食道扁平上皮癌にも逆流性食道炎が関与している可能性が示唆された．これらは新しい知見であるが、以前から報告されている基礎研究などからは、胆汁酸を含む十二指腸液などをはじめとした非酸性消化液の逆流が扁平上皮癌の発癌へ影響を及ぼしていると考察されている．(Miwa et al., 1996; Miyashita et al., 2013; Mukaisho et al., 2014) これらはあくまで仮説に過ぎないが、さらに多くの低リスク患者群を集積し解析することで、逆流性食道炎関連の食道扁平上皮癌発癌のメカニズムが明らかとなる可能性があると考えられた．

【結論】

内視鏡的にまだら不染帯がなく、喫煙や飲酒の習慣歴のない患者でも、食道扁平上皮癌を発症することがあり、特に女性で逆流性食道炎症状が認められるような場合などは注意深くスクリーニング内視鏡検査を行う必要があると考える．

.....

審査にあたり、以上の論文内容の説明がなされた後、以下の質疑応答が行われた。

【今後の展望】

本研究では、非飲酒・非喫煙・ルゴール不染帯なしの食道扁平上皮癌罹患患者を詳細に検討した結果、逆流性食道炎がそのような患者群の発癌に影響を及ぼしている可能性があることと示された。しかしながら単施設の後ろ向き観察研究であり、サンプルサイズも小さく研究デザインとしても本研究だけでは逆流性食道炎が食道扁平上皮癌のリスク因子であると言及はできない。そのため現在、横浜市立大学医学部が中心となり倫理委員会の認証を得た上で全国の多施設後ろ向き観察研究（非飲酒・非喫煙の患者に生じた食道癌の内視鏡所見と病理学的所見に関する多施設共同観察研究：B191000031）を実施しており、病理組織学的にも本院を中心に中央診断を行い詳細な評価を加える方向で研究を進めている。

また、本研究の結果からはあくまでも推測の域を出ないが、非酸性消化液の逆流に伴う食道扁平上皮癌発癌を精査するためには本研究と同様に低リスク群患者を抽出して 24 時間 MII-pH モニタリングを行うことで関連をさらに深く検討することが可能となると考える。

以下に示す、質疑応答が行われた。

まず、石部副査より以下の質問があった。

今回の研究ではリスク群と低リスク群の間に萎縮性胃炎の程度はどうであったのか？

（答え）

萎縮性胃炎のうち軽度であるクローズドタイプと噴門を超えて胃全体に広がるオープンタイプがある。今回の検討では低リスク群にはリスク群と比較してクローズドタイプが多かった。そのほとんどは C-1 といい、萎縮性胃炎のないと判断できる所見であり、やはり低リスク群にはピロリ菌感染が少ないことも関与していると考えられた。萎縮性胃炎が少ないことから胃酸の分泌が活発であり、胃酸関連の逆流性食道炎を発現する可能性が考えられる。一方で胆汁酸を含む十二指腸液の胃への逆流があると、前庭部領域を中心に萎縮性胃炎を呈することがあり、今回の C-1 の萎縮に関してもその影響があることも仮説として考えられるため、今後のさらなる検討が必要だと考える。

本研究での新知見とはどういうものなのか。

（答え）

既報としては進行癌まで含めた食道扁平上皮癌を対象として、飲酒歴と喫煙歴のない患者群の臨床病理学的特徴を明らかにしたものが本邦から報告されている。（Shigaki et al., 2017）その中では、リスクなし群の特徴として女性や家族歴が関連しているとの報告であった。その他、最近ではルゴール染色によるまだら不染帯がない早期食道癌患者の内視鏡的特徴を詳細に示した報告があった。（Kuwabara et al., 2020）そこでは内視鏡所見などが線状であり、症状も呈することから逆流性食道炎が関与したのではないかと考察に留まっていた。本研究で差別化できる点として、まず複数項目をリスク因子として低リスク群をより厳格に抽

出し、その特徴的な内視鏡所見を提示したうえで、さらに低リスク群を内視鏡所見で線状型と円形型に分類し、最終的に詳細な病理組織学的評価を行った点である。それぞれの病変について腫瘍だけではなく背景粘膜まで病理組織学的精査を検討した報告は今までになく、逆流性食道炎が食道扁平上皮癌の発癌に関連している可能性がより具体的に示せた部分にオリジナリティがあると考ええる。さらにこれらの低リスク群に対する遺伝子変異の探索に関しても報告はなく、結果的には少数の検討であるものの低リスク群の発癌の分子機構は通常型と大きくは変わらないとの結果であったが、こういった検討に関しても新規性があると考えられる。

次に、山本副査より以下の質問があった。

クリニカルクエスチョンは問題ないがリサーチクエスチョンに関して明確でない。つまり、今回抽出した代表的リスク因子 3 つが全くない患者群の特徴を精査したところ結果的にある因子（逆流性食道炎）が出たということである。これだけでは逆流性食道炎が食道扁平上皮癌の新たなリスク因子であると言及することはできない。

また考察に関しては集団として観察研究として得られたものではなく、ケースレポートで得られたものであり、結果と考察を区別する必要があると考える。得られた結果を正確に記述しなければ overstatement になってしまうので十分注意が必要である。考察の内容としてロジックは問題なくともサイエンスとしてどうなのかわからなくなってしまう。

（答え）

指摘の通り本研究では表在性食道扁平上皮癌患者を対象に、低リスク群とリスク群の 2 群間に分けたうえで、2 集団の特徴の比較を行うということを観察研究の主解析とした研究である。その検討の結果、低リスク群では逆流性食道炎を多く認めたという結果を報告した。しかしながら、その結果のみから逆流性食道炎が食道扁平上皮癌の新たな発癌リスク因子と結論付けることは論理的ではなく、その点の記載を十分に注意すべきであると考え該当部位をすべて修正する方針とした。また、そもそものセレクションとして食道扁平上皮癌患者の中での逆流性食道炎の評価であり、逆流性食道炎罹患患者で食道癌がない患者も多く存在する中で、逆流性食道炎が食道扁平上皮癌のリスク因子という結論付けはできず、その点でも正確に区別する必要性が重要である。そのため今回の結論としては、食道扁平上皮癌患者において逆流性食道炎が食道扁平上皮癌発癌に関連している可能性があるとの記載に留めた。そのうえで、本研究で得られた結果に対する考察をすることと、基礎研究を含めてその仮定に基づいた考察を修正して記載する方針とした。

そもそも今回抽出した低リスク群は希少であるがゆえに少数の集団であり、病理組織学的な検討に関してはあくまでその 22 病変の症例検討レベルでの結果である。そこで得られたデータで逆流性食道炎の所見が多かったとしても、新たなリスク因子としてまで言及できないことを十分理解した。今後さらに多数の症例の集積が重要である。

最後に大保主査より以下の質問が行われた。

低リスク群もリスク群でも TP53 変異という同じ分子機構であったとの結果であると思うが、実験のデータや結果に対して詳細な記載に欠けている。また Raw Data がないので報告書にも同様に添付すべきである。

(答え)

本研究で得られた Raw data に関しては、主論文に掲載された Supplemental materials にすでに記載しており、そちらを図として報告書に添付する。また遺伝子変異解析に対する結果に関して詳細の記載を追記することとする。

文章にミスが多く確認して修正すべきである。

(答え)

記載ミスなども多いため、内容を要旨も含めてすべて確認し、結果と考察の記載も改善させる。

考察などにも度々記載があるが、Notch Signaling はどのようなシグナルなのか。

(答え)

細胞の分化誘導のコントロールにおいて Notch signaling が重要な役割を果たすことは、血球系、消化管上皮、膵臓、および皮膚の細胞などにおいて広く示されている。食道扁平上皮癌領域において TP53 以外に重要な遺伝子として扁平上皮細胞の分化を制御する NOTCH などが知られている。NOTCH シグナル伝達経路は、正常食道上皮の基底細胞の一部と傍基底細胞の核内に発現しており、食道上皮細胞の分化誘導、増殖の制御に関与している可能性がある。逆流性食道炎や飲酒・喫煙、そのほか感染や物理的炎症などの外因性および内因性因子の食道粘膜への曝露は、TP53 の変異・不活化を引き起こし NOTCH pathway をダウンレギュレートすることで食道扁平上皮細胞の分化を阻害し上皮組織における発癌を引き起こすことなどと考察される。このような考察に関しても報告書に追記する。

.....

以上のように質疑応答が行われ、その他数点の質問についても各々の確に回答が行われた。また、指摘された修正点も修正を行なった。以上の結果を踏まえ、審査員による協議の結果、本研究は、横浜市立大学 甲号博士（医学）の学位論文に値するものと判定された。