
総 説

大腸がんの深達度に伴う変化とその原因 ～どうして大腸がんの予後は大きさでなく 深達度に依存するのか？

小 嶋 基 寛*

京都府立医科大学大学院医学研究科臨床病理学

Tumor Spread Dependent Prognosis in Colorectal Cancer

Motohiro Kojima

*Department of Surgical Pathology, Kyoto Prefectural University of Medicine
Graduate School of Medical Science*

抄 録

消化管がんの悪性度は大きさでなく、深達度に伴って上昇する。またがんは進行の際、漿膜面に硬い陥凹 (delle) を形成する。我々は大腸がんが腸管の外層を覆う漿膜の弾性板を越えて浸潤すると、同部位が硬く陥凹し、線維化が生じることを発見した。我々は大腸がんの漿膜弾性板を越えた浸潤を Elastic Laminal Invasion (ELI), それに伴って形成される腫瘍微小環境を Cancer microenvironment formed by peritoneal invasion (CMPI) と定義した。ELI は強い予後不良因子であり、TNM 分類への導入を目指した病理学的研究を継続している。また、ELI で CMPI が形成され、予後不良となる原因として漿膜線維芽細胞 (SPF) の特殊性を考えている。我々は、ヒト漿膜から SPF を採取培養し、粘膜下層由来線維芽細胞 (Submucosal fibroblast: SMF) と比較した。SPF は SMF と比較して、腫瘍細胞をマウスに共移植した際の増殖促進能と転移促進能が高い。また、SPF はがん培養上清刺激に対する反応性が高く、SMF より多くの分子発現が上昇する。その一つである Transgelin は CAF に高発現し、SPF の Transgelin 発現はがんの増殖や硬い微小環境の形成に寄与することが判明した。我々の研究は、消化管線維芽細胞の多様性を明らかとし、それにより深達度に依存したがんの悪性度亢進を説明でき、ELI を用いた診断や SPF, Transgelin を対象とした治療など幅広い医療応用が期待される。

キーワード：大腸癌、漿膜浸潤、pT3, pT4.

Abstract

Prognosis of gastrointestinal cancer is influenced by tumor spread. We identified colonic cancers organize fibrotic tumor area when it invades beyond peritoneal elastic lamina, just beneath peritoneal surface. We termed tumor invasion beyond peritoneal elastic lamina as elastic laminal invasion (ELI),

令和 7 年 8 月 13 日受付 令和 7 年 8 月 14 日受理

*連絡先 小嶋基寛 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地

mokojima@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.134.11.657

and fibrotic tumor area formed after ELI as cancer microenvironment formed by peritoneal invasion. We reported that ELI is strong prognostic factor, and current pT3 category in TNM stage can be subdivided into pT3a and pT3b using ELI. Our hypothesis based on this phenomena is that subperitoneal fibroblast (SPF) has unique ability to enhance tumor growth and metastasis. Then, we cultivated SPF and submucosal fibroblast (SMF) from colonic wall, and were co-injected with cancer cells into Scid mouse. As results, comparison with SMF, SPF promoted tumor growth and metastasis more strongly. Next, SPF and SMF were stimulated by cancer-cell-conditioned-medium, and up-regulated genes were analyzed by transcriptome. As a result, SPF showed more gene up-regulation than SMF, and SPF specific up-regulated genes included clinical prognostic factors. Of these, we focused on Transgelin, and it's knock down in SPF reduced the growth of co-injected tumor with cancer cells. Thus, tumor spread dependent colon cancer progression is explained by heterogeneity of fibroblast.

Key Words: Colon cancer, Elastic lamina, PT3, PT4a.

大腸の組織解剖

大腸は結腸と直腸に分けられ、結腸は内腔側から粘膜固有層、粘膜下層、固有筋層、漿膜下層、漿膜に分けられる。壁構造の詳細は清書に譲るが、漿膜は結腸の外層を覆う厚さ 100 μm に満たない薄い線維性組織である。また漿膜の表面直下に EVG 等の弾性染色で青く染色される漿膜弾性板が存在し、大腸癌における壁深達度のメルクマールとなる。教科書的には漿膜直下で様々な方向に走行する弾性板が存在し連続性を追うことができるとされるが、実際には連続

性が不明瞭な部分もあり、走行の特徴に関するより詳細な検討が必要とされている(図1)¹⁾²⁾。

大腸癌の壁深達度分類と ELI

消化管腫瘍の予後は腫瘍径(大きさ)ではなく壁深達度で規定される。大腸癌では 1926 年の Lockhart-Mummery の報告から一貫して壁深達度で原発巣のステージ分類がなされ、粘膜下層までの浸潤が pT1, 固有筋層までの浸潤が pT2, 固有筋層を越える浸潤が pT3 に分類する大枠は 1940 年までには確立していた。これらの分類は当時症例が多かった、直腸癌の情報に

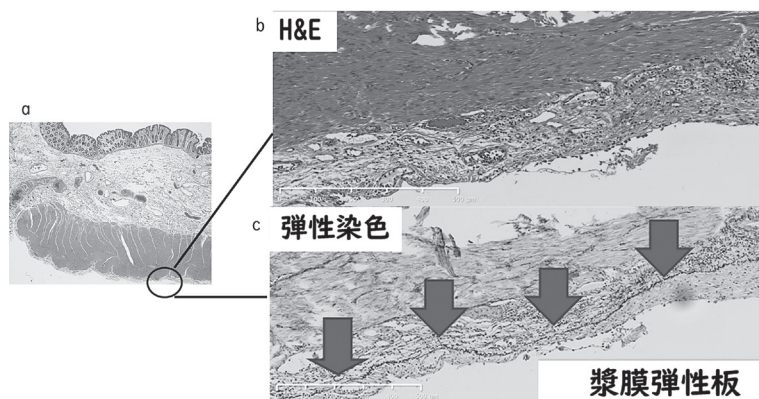


図1 a: 正常大腸組織。腸管の最外層に漿膜が存在する(黒円)。
 b: 漿膜の H&E 染色像。漿膜は、腸管の最外側(下側)を覆う 100 μm に満たない薄い膜である。基質と線維芽細胞、リンパ管等で構成されている。
 c: 漿膜の弾性染色像。漿膜の表面直下に弾性染色で青く染色される漿膜弾性板が存在する(青矢印)。

基づいて構築されていた³⁾⁴⁾。直腸癌，特に下部直腸がんは骨盤内にあり，結腸とは異なって漿膜で覆われていない。そのため，結腸癌が漿膜近傍まで浸潤すると予後が悪くなるという報告は比較的遅く，1990年代になってから本格的に増加し，近年では漿膜面に露出する腫瘍はpT4aとして，ハイリスクな腫瘍に分類されている⁵⁾⁶⁾。しかし，pT4aの病理評価は難しく，2000年以降施設間差を指摘する報告が国内外でなされた⁷⁾⁸⁾。また，同一症例を複数病理医で判定した際も不一致が多いことも報告された⁹⁾。我々は漿膜表面直下に位置する漿膜弾性板を弾性染色で可視化し，漿膜弾性板を越える腫瘍の浸潤 (Elastic laminal invasion: ELI) を病理判

定することで，深達度の新しい指標としたり，漿膜近傍まで浸潤する腫瘍を客観的に評価することにより，pT4a分類の客観性が向上すると考えて研究を開始した (図2)。

我々は2010年後向き単施設研究を行い，ELI陽性腫瘍はpT4aと同等の予後であることを報告した。一方，その後報告された後ろ向き研究のsystematic reviewでは，ELI陽性pT3症例は，ELI陰性pT3症例とpT4a症例の中間的な予後を有することが報告され，ELIの有無でpT3を亜分類可能であるとしている。ELI陽性pT3症例とpT4a症例の予後の比較において，報告のずれが認められるが，最近の我々の検討から，pT4a判定の予後分別能に施設間差

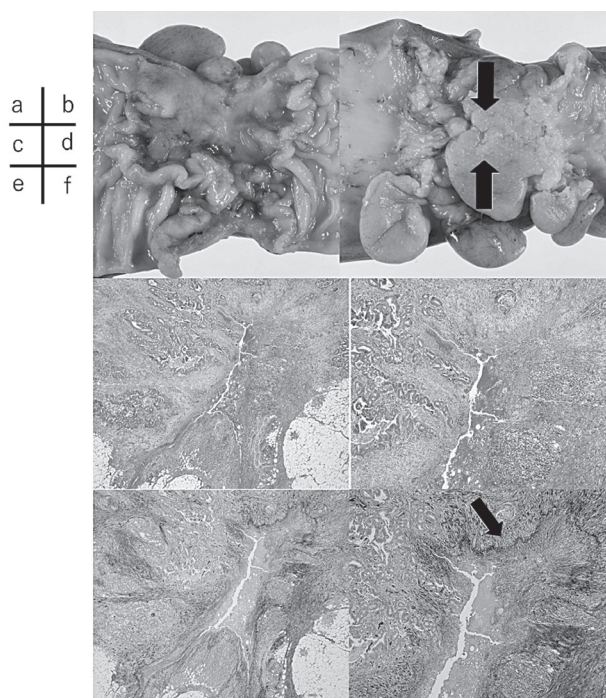


図2 a: 大腸がんの肉眼像。腸管腔側からの観察。潰瘍を形成する腫瘍がみられる。
b: 大腸癌の肉眼像。腸管の漿膜側からの観察。二つの矢印の間に陥凹が観察される。
c, d: 陥凹部のH&E組織像。漿膜が陥凹し，その周囲にがん細胞が浸潤している。
e, f: 陥凹部の弾性染色組織像。腫瘍が弾性板を越えて浸潤している。浸潤部では線維化を強く伴い，陥凹している。

が確認されているため、大腸癌の壁深達度診断の適正化を ELI も含めて検討する必要があると考えている¹⁰⁾¹¹⁾。

ELI によって構築される腫瘍微小環境 CMPI (Cancer microenvironment formed by peritoneal invasion)

我々は日々の病理診断における観察から、大腸癌が漿膜弾性板を越えて浸潤すると急に腫瘍の線維化が増加し、同部位で腫瘍細胞が孤立散在性となる現象を同定した。我々は漿膜弾性板を越える腫瘍微小環境を CMPI (Cancer microenvironment formed by peritoneal invasion) と命名して組織学的な検討を行った。その結果 CMPI は Azan 染色で青く染色される膠原繊維と、活性化線維芽細胞マーカーである α -SMA 発現に富むことが分かった¹²⁾¹³⁾。さらに、リンパ節も含めて転移の無い大腸癌を検討すると、ELI 陽性症例は陰性症例と比較して 10 倍の頻度で肝転移再発と肺転移再発が生じることが判明した。このことは、がん細胞が、厚さ 100 μ m に満たない漿膜弾性板を越えた部分に浸潤すると、突然 CMPI を形成し転移が促進されることを意味する。すなわち、CMPI が腫瘍の転移を促進するがん微小環境である可能性がある (図 3)。

腸管の異なる解剖学的位置から 採取された Subperitoneal fibroblast と Submucosal fibroblast と生物学的な 悪性度亢進に対する仮説

CMPI が生じる機序として、以下の 2 つが考えられる。

1. がん細胞の性質が漿膜弾性板を越えると急に能動的に変化し、特殊な微小環境を形成する。

2. 漿膜弾性板を越える微小環境が特殊で、がん細胞が浸潤した際に線維化に富む癌微小環境を形成し、がん細胞は受動的に悪性度を増す。

我々は、2. の可能性をまず考えた。また、線維化が CMPI の特徴であることから、手術検体の正常部分から漿膜を剥離して漿膜を採取し、トリプシン処理することで漿膜線維芽細胞 (Subperitoneal fibroblast: SPF) を採取培養した¹³⁾。採取された細胞は紡錘形で上皮系マーカー、中皮細胞マーカー、神経マーカーが陰性であることから線維芽細胞であると考えられた。比較対象として、大腸正常部の粘膜下層から粘膜下層線維芽細胞 (submucosal fibroblast: SMF) を培養した。SPF と SMF の通常培養すると SPF は SMF より増殖が遅く、コンフルエ

Stage II 症例における ELI と再発の関連

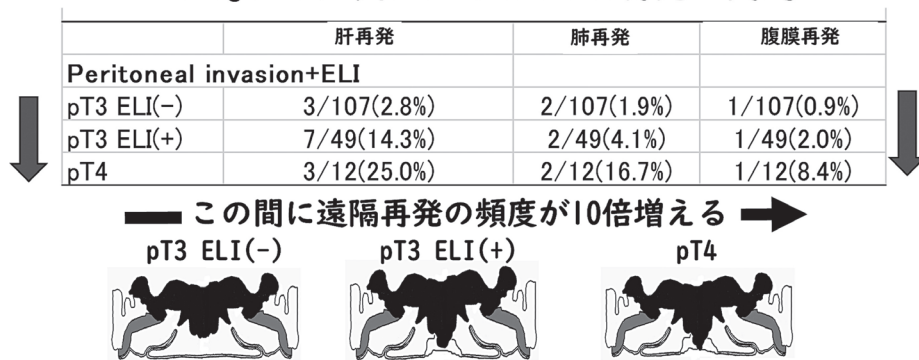


図 3 深達度別の再発頻度。大腸癌の遠隔再発は ELI を生じて、漿膜表面に露出するまでの間で約 10 倍増加する。一般的に大腸癌は漿膜を越えて浸潤し、腹膜に播種すると考えられているが、それに加えて血行性の遠隔転移も増えている。この現象はがんの微小環境における様々な細胞との相互作用で説明されうる。

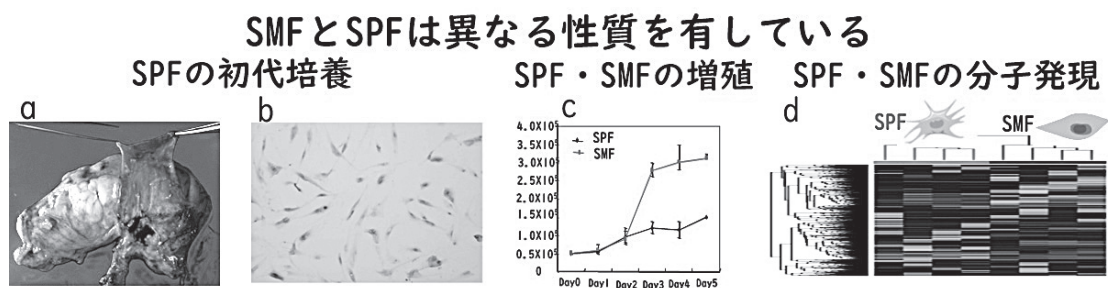


図4 a: 結腸から漿膜を剥離した像。この後トリプシン処理を行う。
 b: 漿膜線維芽細胞 (SPF) . a で剥離した漿膜から採取された。
 c: SPF (下) と粘膜下層線維芽細胞 (SMF) (上) の増殖曲線。同一患者から採取されているが、増殖と飽和した際の細胞数が異なる。
 d: 4人から得られた SPF と SMF のトランスクリプトーム解析。SPF と SMF は個体間差を越えて発現が異なっている。

ントになった際の細胞数が少ない。このことから、同じ腸管内であっても組織解剖学的な位置に依存して線維芽細胞の性質が異なることが判明した (図4)。

CMPI の in vivo model, in vitro model

我々は、CMPI の in vivo model と in vitro model の構築を検討した。In vivo model として、線維芽細胞 (SPF, SMF) をがん細胞と免疫不全マウスに共移植する実験で、腫瘍増殖に加えて転移を検討した。In vitro model は、線維芽細胞 (SPF, SMF) にがん培養上清を添加して、その変化を検討する実験である。

In vivo model において、大腸がん細胞株 DLD-1 と Caco-2 を線維芽細胞 (SPF もしくは SMF) と SCID mouse の背部に共移植した結果、SPF を共移植した腫瘍は SMF を共移植した腫瘍と比較して腫瘍増殖速度が早く、DLD-1 と SPF を共移植したマウスでは、DLD-1 と SMF を共移植した腫瘍と比較してリンパ節転移が多く見られた。このことから、SPF は SMF と比較して腫瘍促進能、転移促進能が高いことが判明した。次に In vitro model において線維芽細胞 (SPF もしくは SMF) を DLD-1 培養上清で刺激し、分子発現変化をトランスクリプトームで解析すると、SMF を刺激した際と比較して SPF を刺激した際に発現上昇する

分子が多く見られた。Gene ontology の解析で、SPF を刺激した際に特異的に発現上昇する分子には、アクチン結合蛋白や contraction に関わる分子が多く含まれており、CMPI における線維化や硬い陥凹を反映していると考えられた¹³⁾ (図5)。

Public data base を用いた検討と Transgelin の抽出

SPF を刺激した際に特異的に発現上昇する分子 (以下 SPF signature) 発現を予後付き public data base GSE 14333 で検討したところ、教師付き解析で 290 症例の大腸癌が SPF signature の高い症例 (以下 Marked SPF Genes Expression: MSGE) と低い症例 (以下 Less SPF Genes Expression: LSGE) に分かれた。MSGE と LSGE の予後を検討すると、MSGE は LSGE より予後が悪いことから、SPF signature には多くの予後因子が含まれていると考え、国立がん研究センター東病院の症例で Validation を行うことにより、Transgelin を含む臨床的予後予測バイオマーカーを実験的手法から複数一度に抽出することに成功した¹⁴⁾ (図6)。

がん間質における Transgelin 発現の生物学的役割

Transgelin の発現局在を大腸がん組織で検

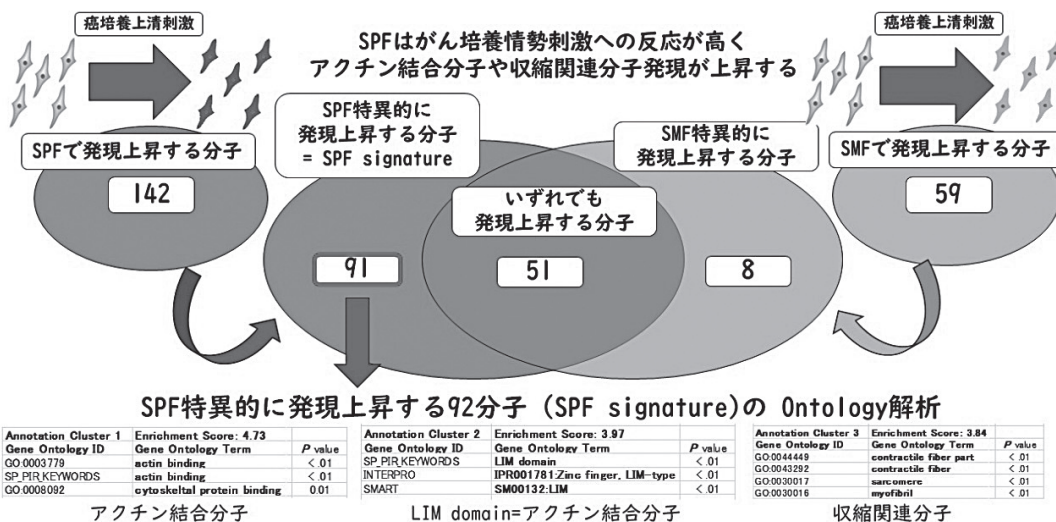


図5 線維芽細胞 (SPF もしくは SMF) を DLD-1 培養上清で刺激し、分子発現変化をトランスクリプトームで解析すると、SMF を刺激した際と比較して SPF を刺激した際に発現上昇する分子が多く見られた。Gene ontology の解析で、SPF を刺激した際に特異的に発現上昇する分子には、アクチン結合蛋白や contraction に関わる分子が多く含まれており、CMPI における線維化や硬い陥凹を反映していると考えられた。

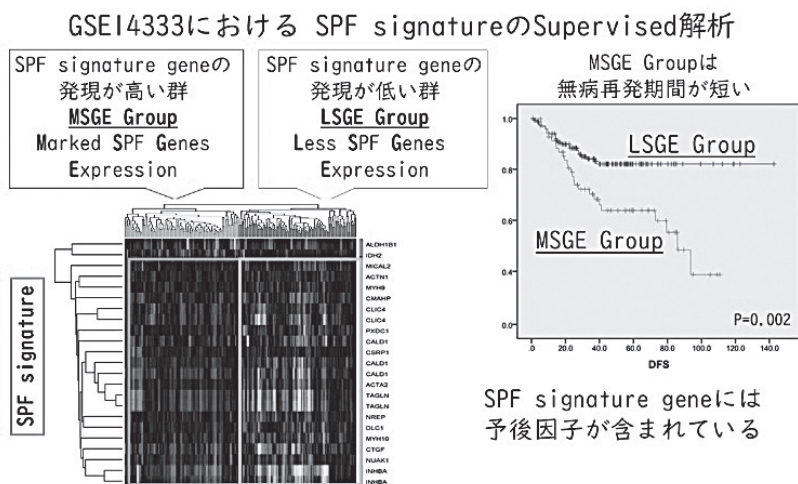


図6 SPF を刺激した際に特異的に発現上昇する分子 (以下 SPF signature) 発現を予後付き public data base GSE 14333 で検討したところ教師付き解析で 290 症例の大腸癌が SPF signature の高い症例 (以下 Marked SPF Genes Expression: MSGE) と低い症例 (以下 Less SPF Genes Expression: LSGE) に分かれた。MSGE と LSGE の予後を検討すると、MSGE は LSGE より予後が悪いことから、SPF signature には多くの予後因子が含まれていると考え、国立がん研究センター東病院の症例で Validation を行うことにより、Transgelin を含む臨床的予後予測バイオマーカーを実験的手法から複数一度に抽出することに成功した。

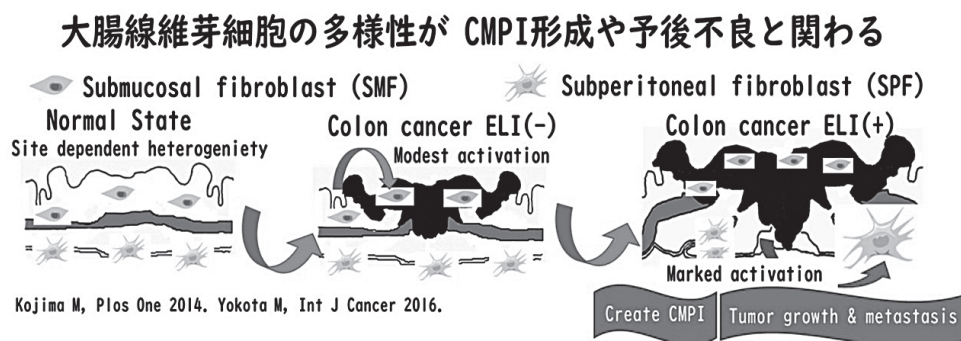


図 7

討すると、がん間質の活性化線維芽細胞に特異的な発現がみられ、がん間質における Transgelin 蛋白発現は予後因子であることも判明している。また肺がんや肺がん、転移性肝がんでも、がん間質に特異的な Transgelin 発現がみられ、がん間質の活性化線維芽細胞マーカーとしても有用と考えられた。我々は SPF の Transgelin を short hairpin を用いて knock down し、がん細胞と SCID マウスに共移植することで線維芽細胞の Transgelin が腫瘍促進に与える影響を検討した。その結果、コントロールと比較して Transgelin を knock down した SPF は DLD-1 とマウスに共移植した際の腫瘍増殖が抑制されるため、SPF の Transgelin 発現は腫瘍促進的に働く機能を有することが判明している。また、コラーゲンゲルに培養した際の収縮を検討する contraction assay において、Transgelin を knock down した SPF はコントロールと比較して収縮が抑制されることから、SPF の Transgelin は細胞収縮にも関わる事が判明している。

将来像 病期分類から治療法開発まで

1. 病期分類に関して

我々は多施設の病理医と外科医と協働し、1000 例を越える症例を後ろ向きに検討することで ELI を病理学的に判定することで pT3 大腸癌の予後を客観性高く亜分類できることを 2023 年に報告した¹⁵⁾。一方で pT4a の診断一致率は低く、施設間格差も改善されていなかった。

大腸癌の深達度病理診断は ELI も含めて適正化を検討する必要がある。病理診断を適正化する手段として、特殊染色や免疫染色を用いた適切な診断補助、教育に加えて、診断基準の作成があげられる。我々は、学会を介して適切な診断基準を作成し予後分別能に加えて客観性も高い診断を可能にしたいと考えている。

2. 治療法開発に関して

線維芽細胞が発現する Transgelin は腫瘍増殖に関わる事に加え、がん培養上清刺激に対して高い収縮力を発生させるため硬い腫瘍微小環境の形成にもかかわっていると考えられる。我々の検討においても硬い腫瘍微小環境では CD8 陽性 T 細胞が腫瘍中心部に少ないことが判明しており、腫瘍の硬さを軽減することは腫瘍免疫の活性化にもつながる可能性がある¹⁶⁾¹⁷⁾。以上から我々は線維芽細胞が発現する Transgelin はミセル製剤などのドラッグデリバリーを介した治療標的となりうることを考え、検討を継続している。

医学における観察の重要性

Von Frish がミツバチダンスを発見したように、現在の医学においても観察から抽出される現象や仮説が存在し、その任務は病理に関わる人材で賄われている部分が多い¹⁸⁾。我々は、病理観察で抽出された現象を検討することで、腸管の線維芽細胞に組織解剖学的な部位に依存する多様性を抽出した。この多様性は恐らく生

理的な意義があるであろうし、少なくともがん培養上清刺激に対する反応性が異なることから、消化管腫瘍の深達度に依存した悪性度亢進に関わる。そのため、病期分類を含めた新しい病理診断の構築や、病態の理解に寄与するものとする。また、SPFを刺激した際に発現上昇する分子から、新しい治療戦略構築とその標

的の探索にも寄与しうることを示した。今後のさらなる研究の発展と展開により病理学を軸とした幅広い医学の進歩に寄与していきたいと考えている(図7)。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Knudsen PJ. The peritoneal elastic lamina. *J Anat*, 177: 41-46, 1991.
- 2) Mills SE. *Histology for pathologists*. 3rd edn. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA, 2007.
- 3) Lockart-Mummery JP. Two hundred cases of cancer of the rectum treated by perineal excision. *Br J Surg*, 7: 110-124, 1926-1927.
- 4) Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol Bacteriol*, 35: 323-358, 1932.
- 5) Shepherd NA, Baxter KJ, Love SB. The prognostic importance of peritoneal involvement in colonic cancer: A prospective evaluation. *Gastroenterology*, 112: 1096-1102, 1997.
- 6) Brierly J, Giuliani M, O'Sullivan B, Rous B, van Eycken E. *UICC TNM classification of the Tumours* 9th edn. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, 2025.
- 7) Kojima M, Ishii G, Ochiai A. In response. *Am J Surg Pathol*. 35: 468, 2011.
- 8) Klaver CEL, Bulkman N, Drillenburger P, Grabsch HI, van Grieken NCT, Karrenbeld A, Koens L, van Lijnschoten I, Meijer J, Nagtegaal ID, Sagaert X, Seldenrijk K, van Velthuysen MF, Bruggink AH, Tanis PJ, Snaebjornsson P. Interobserver, intraobserver, and interlaboratory variability in reporting pT4a colon cancer. *Virchows Arch*. 476: 219-230, 2020.
- 9) Panarelli NC, Hammer STG, Lin J, Gopal P, Nalbantoglu I, Zhou L, Cheng J, Gersten AJ, McHugh JB, Vinita P. Reproducibility of AJCC Criteria for Classifying Deeply Invasive Colon Cancers Is Suboptimal for Consistent Cancer Staging. *Am J Surg Pathol*, 44: 1381-1388, 2020.
- 10) Kojima M, Nakajima K, Ishii G, Saito N, Ochiai A. Peritoneal elastic laminal invasion of colorectal cancer: the diagnostic utility and clinicopathologic relationship. *Am J Surg Pathol*. 34: 1351-1360, 2010.
- 11) Odate T, Vuong HG, Mochizuki K, Oishi N, Kondo T. Assessment of peritoneal elastic laminal invasion improves survival stratification of pT3 and pT4a colorectal cancer: a meta-analysis. *J Clin Pathol*. 72: 736-740, 2019.
- 12) Kojima M, Ochiai A. Special microenvironment in human colonic cancer: Concept of cancer microenvironment formed by peritoneal invasion (CMPI) and implication of subperitoneal fibroblast in cancer progression. *Pathol Int*. 66: 123-131, 2016.
- 13) Kojima M, Higuchi Y, Yokota M, Ishii G, Saito N, Aoyagi K, Sasaki H, Ochiai A. Human subperitoneal fibroblast and cancer cell interaction creates microenvironment that enhances tumor progression and metastasis. *PLoS One*. 9: e88018, 2014.
- 14) Yokota M, Kojima M, Higuchi Y, Nishizawa Y, Kobayashi A, Ito M, Saito N, Ochiai A. Gene expression profile in the activation of subperitoneal fibroblasts reflects prognosis of patients with colon cancer. *Int J Cancer*. 138: 1422-1431, 2016.
- 15) Kojima M, Yokota M, Yanagisawa N, Kitamura S, Amemiya K, Kawano S, Tsukada Y, Sakuyama N, Nagayasu K, Hashimoto T, Nakashima K, Jiang K, Kanemitsu Y, Fujita F, Akiba J, Notohara K, Itakura J, Sekine S, Sakashita S, Sakamoto N, Ishikawa S, Nakanishi Y, Yao T, Liang WY, Lauwers GY, Ito M, Sakamoto K, Ishii G, Ochiai A. Assessment of Elastic Laminal Invasion Contributes to an Objective pT3 Subclassification in Colon Cancer. *Am J Surg Pathol*. 47: 1122-1133, 2023.
- 16) Igata Y, Kojima M, Suzuki T, Ishii G, Morisue R, Suzuki T, Kudo M, Sugimoto M, Komayashi S, Martin JD, Stylianopoulos T, Cabral H, Kano MR, Konishi M, Gotohda N. Relationships between physical and immunological tumor microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci*. 114: 3783-3792, 2023.

- 17) Martin JD, Cabral H, Stylianopoulos T, Jain RK. Improving cancer immunotherapy using nanomedicines: progress, opportunities and challenges. *Nat Rev Clin Oncol*. 17: 251-266, 2020.
- 18) Von Frisch K. The dancing bees an account of the life and senses of the honey bee. Springer-Verlag, Wien, 1954.

著者プロフィール



小嶋 基寛 Motohiro Kojima

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科臨床病理学・教授

略 歴：1997年3月 私立昭和大学医学部卒業

1997年4月 昭和大学大学院医学研究科第一病理学教室

2001年4月 昭和大学医学部 第一病理学教室助手

2004年10月 ドイツキール大学病理学教室客員教室員

2006年4月 国立がん研究センター・先端医療開発センター・臨床腫瘍病理分野

2025年1月～現職

専門分野：病理学

- 主な業績：1. [Kojima M](#), Yokota M, Yanagisawa N, Kitamura S, Amemiya K, Kawano S, Tsukada Y, Sakuyama N, Nagayasu K, Hashimoto T, Nakashima K, Jiang K, Kanemitsu Y, Fujita F, Akiba J, Notohara K, Itakura J, Sekine S, Sakashita S, Sakamoto N, Ishikawa S, Nakanishi Y, Yao T, Liang WY, Lauwers GY, Ito M, Sakamoto K, Ishii G, Ochiai A. Assessment of Elastic Laminal Invasion Contributes to an Objective pT3 Subclassification in Colon Cancer. *Am J Surg Pathol*, **47**: 1122-1133, 2023.
2. [Kojima M](#), Ochiai A. Special cancer microenvironment in human colonic cancer: Concept of cancer microenvironment formed by peritoneal invasion (CMPI) and implication of subperitoneal fibroblast in cancer progression. *Pathol Int*, **66**: 123-131, 2016.
3. Kawano S, [Kojima M](#), Higuchi Y, Sugimoto M, Ikeda K, Sakuyama N, Takahashi S, Hayashi R, Ochiai A, Saito N. Assessment of elasticity of colorectal cancer tissue, clinical utility, pathological and phenotypical relevance. *Cancer Sci*, **106**: 1232-1239, 2015