

潰瘍性大腸炎の非腫瘍大腸粘膜における 胃型粘液発現の検討 —大腸癌合併例と非合併例との比較—

渡 邊 佳緒里

新潟大学医歯学総合研究科分子・診断病理学分野

(指導：味岡洋一教授)

Gastric - type Mucin Expression in Non - neoplastic Mucosa of Ulcerative Colitis — Comparison between with and without Colorectal Cancer —

Kaori WATANABE

Division of Molecular and Diagnostic pathology, Niigata University

Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: prof. Yoichi Ajioka)

要 旨

【背景】 UC の非腫瘍大腸粘膜や大腸癌，前癌病変である dysplasia では，胃型粘液（腺窩上皮型と幽門腺型）の発現があり，慢性持続性炎症により胃型細胞へ分化形質変化を来した大腸粘膜が癌の発生母地である可能性が示唆されている．本研究では，大腸癌を合併する UC（担癌 UC）と合併しない UC（非担癌 UC）の非腫瘍大腸粘膜を対象として，それらの胃型粘液発現を免疫組織学的に検索し，UC 大腸上皮の胃型細胞への粘液形質変化やそのパターンが，大腸癌発生の高リスク群を予測するためのマーカーとなりうるかどうか，について検討した．

【対象と方法】 担癌 UC 群 14 例，非担癌 UC 群 104 例，炎症性腸疾患を合併しない大腸癌の非癌部大腸（非 IBD 群）38 例の非腫瘍粘膜を対象として，MUC2（腸杯細胞粘液マーカー），MUC5AC・HGM（胃腺窩上皮粘液マーカー），MUC6・M-GGMC-1（胃幽門腺粘液マーカー）に対する免疫染色を行い，胃型粘液の発現頻度，同発現細胞の陰窩内分布様式，を検討した．

【結果】 腺窩上皮型粘液発現は，非担癌 UC 群の 90.4%，担癌 UC 群の 100% に，幽門腺型粘液発現は，非担癌 UC 群の 42.3%，担癌 UC 群の 78.6% に認められた．いずれの発現率も，非 IBD 群に比べ有意に高かった（ $P < 0.05$ ）．UC 罹患年数 10 年未満の症例では，腺窩上皮型・幽門腺型いずれの粘液発現率も，担癌 UC 群が非担癌 UC 群に比べ有意に高かった（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）．UC 罹患年数 10 年以上の症例では，担癌 UC 群，非担癌 UC 群で胃型粘液発現頻度に有意差はなかった．UC 群の腺窩上皮型粘液発現細胞は，胃幽門腺粘膜や非 IBD 群と同様に陰窩中層～表層にかけて分布するものと陰窩全長にわたって分布するもの（aberrant パターン）とがあった．幽門腺型粘液を発現する細胞も，幽門腺粘膜と同様に陰窩中層～底部に分布するものと陰窩のほぼ全長にわたって分布するもの（aberrant パターン）とが認められた．UC 罹

Reprint requests to: Kaori WATANABE
Division of Molecular and Diagnostic Pathology,
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences,
1 - 757 Asahimachi - dori, Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510, Japan.

別刷請求先：〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
分子診断病理学 渡 邊 佳緒里

患年数10年未満の症例では、胃型粘液を発現する陰窩に占める aberrant パターンの割合は、腺窩上皮型で非担癌 UC 群の 18.2%，担癌 UC 群の 100%，幽門腺型で非担癌 UC 群の 17.6%，担癌 UC 群の 80.0% であった。いずれも担癌 UC 群が非担癌 UC 群に比べ有意に高かった ($P < 0.01$)。UC 罹患年数が 10 年以上の症例で、胃型粘液を発現する陰窩に占める aberrant パターンの割合は、腺窩上皮型で非担癌 UC 群の 23.5%，担癌 UC 群の 88.9%，幽門腺型で非担癌 UC 群の 0%，担癌 UC 群の 33.3% であった。腺窩上皮型粘液では、担癌 UC 群が非担癌 UC 群に比べ有意に高かった ($P < 0.01$) が、幽門腺型粘液では両群間に有意差はなかった。

【結論】UC 大腸粘膜では、胃型（腺窩上皮型および幽門腺型）粘液発現細胞への形質転換が起きている。UC 罹患年数 10 年未満の症例では、胃型粘液の発現および発現細胞が陰窩のほぼ全長にわたって存在する aberrant パターン陰窩の存在が、罹患年数 10 年以上の症例では腺窩上皮型粘液発現が aberrant パターンを示す陰窩の存在が、UC の大腸癌発生高リスク群を予測するためのマーカーになりうる可能性があると考えられた。

キーワード：胃型粘液，粘液形質，潰瘍性大腸炎，免疫染色

緒 言

潰瘍性大腸炎（以下 UC）は、主として粘膜を侵し、しばしばびらんや潰瘍を形成する大腸の原因不明のびまん性非特異性炎症であり、罹患範囲により、全大腸炎型、左側大腸炎型、直腸炎型、右側あるいは区域性大腸炎型に分類され、臨床経過からは再燃寛解型、慢性持続型、急性劇症型、初回発作型に分類されている¹⁾。

全大腸炎型で長期罹患の再燃寛解型もしくは慢性持続型 UC では、大腸癌の発生リスクが高いことが知られている^{2)–5)}。欧米のメタアナリシスでは、大腸癌発生率は 3.7%³⁾、一般人口に対する発癌リスクは全大腸炎型で 14.8 倍、左側大腸炎型で 2.8%，直腸炎型で 1.7 倍²⁾ であり、罹患年数による累積発癌率は発症後 10 年で 1.6%，20 年で 8.3%，30 年で 18.4% と報告されている²⁾。本邦にける大腸癌研究会（第 55 回）の全国アンケート集計でも⁴⁾、大腸癌発生率は 2.6% で、全大腸炎型がその 83% を占め、罹患年数による累積発癌率は 10 年までは 2% 未満、10 年で 5% 前後、20 年以降では 10% 以上と、欧米とほぼ同様の結果であった。

これらのことから、罹患 8 年または 10 年を経過した UC 患者には、癌もしくは前癌病変である dysplasia⁶⁾ 発見のための大腸内視鏡によるサー

ベイランスが推奨されている^{7)–10)}。しかし、UC 大腸に発生する癌や dysplasia は、しばしば平坦もしくは丈の低い隆起で周囲との明瞭な境界を呈さないことがあり、内視鏡的発見が容易ではない場合も多い⁶⁾¹¹⁾。また、近年の内科治療の進歩に伴い、長期経過 UC の頻度も増加することが予想されることから、罹患範囲や罹患年数以外にも、大腸癌発生の高リスク群を絞り込むための新規マーカーの開発が望まれる。

炎症による持続的な組織障害と再生の繰り返しによって、既存組織の細胞には分化形質変化が起きていることがある。この現象は化生 (metaplasia) と呼ばれ、発癌に関連する現象の一つとして考えられている¹²⁾。バレット食道や胃の腸上皮化生は、消化管における発癌母地として周知されている¹³⁾¹⁴⁾。他方、UC 大腸の慢性持続性炎症粘膜では、胃腺窩上皮粘液マーカーである MUC5AC や幽門腺粘液マーカーである MUC6 の発現があり、癌や前癌病変である dysplasia でも同様の粘液形質発現が見られること^{15)–18)} が報告されている。すなわち、UC の慢性持続性炎症により胃型細胞へ分化形質変化を来した大腸粘膜が、癌の発生母地である可能性が示唆される。本研究では、大腸癌を合併する UC（以下担癌 UC）と合併しない UC（以下非担癌 UC）の非腫瘍大腸粘膜を対象として、それらの胃型粘液（腺窩上皮型および幽

門腺型)発現を免疫組織学的に検索し, UC大腸上皮の胃型細胞への粘液形質変化やそのパターンが, 大腸癌発生の高リスク群を予測するためのマーカーとなりうるかどうか, について検討した.

なお, 本研究は新潟大学倫理委員会の承認(承認番号2612)を得て行った.

対象と方法

1. 対象症例

大腸癌を合併する UC 例(担癌 UC 群)14例, 合併しない UC 例(非担癌 UC 群)104例, および対照として炎症性腸疾患を合併しない大腸癌(S状結腸癌または直腸癌)の非癌部大腸(非IBD群)38例の非腫瘍粘膜を対象とした. 担癌 UC 群の3例(左側大腸炎型2例, UC罹患範囲不明1例)を除く全例が全大腸炎型であり, UC罹患期間は10年未満が91例, 10年以上が27例である. 化学療法・放射線療法施行例は除外した. 各症例の外科切除ホルマリン固定材料から, S状結腸または直腸が切り出されたパラフィンブロックを1~4個選択し, 免疫組織学的検討を行った. 非IBD群は検体の遠位側断端のブロックを用いた. 担癌 UC 群では, 合併する癌の移行部粘膜¹⁹⁾を除外するため, 癌から2 cm以上離れた部位のブロックを選択した.

2. 免疫染色

対象例のパラフィンブロックから3 μ m厚連続切片5枚を作成し, 以下のモノクローナル抗体を一次抗体とした免疫染色を施行した: 抗MUC2抗体(clone Ccp58, 300倍希釈; Novocastra), 抗MUC5AC抗体(clone CLH2, 100倍希釈; Novocastra), 抗HGM抗体(clone 45M1, 50倍希釈; Novocastra), 抗MUC6抗体(clone CLH5, 100倍希釈; Novocastra), 抗M-GGMC-1抗体(clone HIK1083, 50倍希釈; 関東化学). MUC2は腸杯細胞²⁰⁾, MUC5ACは胃腺窩上皮細胞²¹⁾, MUC6は胃幽門腺上皮細胞²¹⁾が産生する粘液のコア蛋白, HGMはMUC5ACにコードされる粘液糖蛋白²¹⁾, M-GGMC-1は幽門腺粘液糖蛋白

の α -結合N-acetylglucosamin (GlcNAc)残基²²⁾である. 本研究では, MUC5ACとHGM染色を胃腺窩上皮型粘液のマーカー, MUC6とM-GGMC-1染色を胃幽門腺型粘液マーカーとした.

3 μ mパラフィン切片の脱パラ水洗後, 0.01Mクエン酸緩衝液に浸し, 750Wおよび170W, 21分間マイクロウェーブで抗原賦活を行った. 内因性ペルオキシダーゼのブロッキングを0.3%過酸化水素加メタノール室温30分で行い, 一次抗体をそれぞれの希釈倍率で4 $^{\circ}$ C一晩反応させた. その後, 酵素標識二次抗体(ヒストファインシンプルステインMAX-PO (MULTI) ニチレイ)を室温20分間反応させ, 0.02% DAB.4HCL・0.02%過酸化水素・0.05 M トリス緩衝液 pH7.6 で発色後, ヘマトキシリンで後染色した.

3. 免疫染色標本の評価

胃型粘液発現率

MUC5ACとHGM染色では, 構成細胞の5%以上が陽性の陰窩を陽性陰窩, MUC6, M-GGMC-1染色では陽性細胞が1個以上認められる陰窩を陽性陰窩とした. 各症例の総陰窩数に対する各染色陽性陰窩数を陽性陰窩率として算定した. MUC5AC, HGM染色による陽性陰窩率で, より高い値を腺窩上皮型粘液発現率とした. 同様に, MUC6, M-GGMC-1染色による陰窩陽性率で, より高い値を幽門腺型粘液発現率とした.

胃型粘液発現細胞の陰窩内分布

胃幽門腺粘膜では, MUC5AC, HGM染色陽性細胞は, 腺管中層から表層(腺窩上皮部分)に分布し, MUC6, M-GGMC-1染色陽性細胞は腺管中層~底部(幽門腺部分)に分布する²³⁾²⁴⁾. 本研究では, 各種染色陽性細胞がこうした本来の胃幽門腺粘膜における分布を模倣せず, 陰窩のほぼ全長にわたって出現するものをaberrantパターンとした.

4. 統計解析

統計解析はPASW statistics 22(日本アイ・ビー・エム株式会社)を用いて行いて行った. Mann-

Whitney's U-test および Fisher の直接確率法にて検定し、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

1. 対象症例の臨床病理学的事項 (表 1, 2)

非 IBD 合併群, 非担癌 UC 群, 担癌 UC 群の臨

床病理学的事項を表 1 に示す。UC 群は、大腸癌発生が高リスクとなる【2-5】 UC 罹患年数 10 年で区切り、10 年未満のものと 10 年以上のものに分けた。非 IBD 群と UC 群とで性別に有意差は無かったが、手術時年齢は、非 IBD 群が UC 群に比べ有意に高齢であった。非担癌 UC 群と担癌 UC 群はそれぞれの罹患年数区分で、性別、手術

表 1 対象症例の臨床病理学的事項

| | 非IBD群 (n: 38) | UC罹患年数<10年 (n: 91) | | | UC罹患年数≥10年 (n: 27) | | |
|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------|------|-----------------------|-----------------|------|
| | | 非担癌UC群 (n: 86) | 担癌UC群 (n: 5) | P 値 | 非担癌UC群 (n: 18) | 担癌UC群 (n: 9) | P 値 |
| 性別 (男:女) | 21:17 | 41:45 | 2:3 | n.s. | 11:7 | 5:4 | n.s. |
| 手術時年齢 中央値 (範囲) | 68.5 (42-86) | 30.0 (10-76) | 59.0 (24-64) | n.s. | 46.5 (22-74) | 52.0 (29-77) | n.s. |
| UC診断時年齢 中央値(範囲) | - | 25.0 (8-71) | 58.0 (16-63) | n.s. | 29.5 (10-60) | 27.0 (17-58) | n.s. |
| UC罹患年数 | - | 3 (0-9) | 4 (1-9) | n.s. | 14 (10-20) | 19 (10-30) | n.s. |

表 2 担癌 UC 群の臨床病理学的事項

| 症例 | 性別 | 手術時 年齢 | UC罹患 年数 | UC罹患範囲 | 大腸癌 | | |
|-----|----|-----------|------------|--------|------|---------|------|
| | | | | | 占拠部位 | 組織型 | 壁深達度 |
| 1* | 女 | 59 | 1 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌高分化 | pTis |
| 2 | 男 | 63 | 1 | 全大腸炎型 | 直腸 | 低分化 | pT3 |
| 3* | 女 | 64 | 4 | 左側大腸炎型 | S状結腸 | 管状腺癌高分化 | pT2 |
| 4* | 女 | 23 | 8 | 全大腸炎型 | 下行結腸 | 管状腺癌高分化 | pT2 |
| 5 | 男 | 27 | 9 | 全大腸炎型 | S状結腸 | 管状腺癌高分化 | pT2 |
| 6 | 男 | 52 | 10 | 不明 | 直腸 | 管状腺癌中分化 | pT3 |
| 7* | 女 | 29 | 12 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌高分化 | pT3 |
| 8 | 女 | 35 | 14 | 左側大腸炎型 | 直腸 | 低分化 | pT3 |
| 9 | 男 | 35 | 16 | 全大腸炎型 | S状結腸 | 内分泌細胞癌 | pT3 |
| 10 | 女 | 77 | 19 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌中分化 | pT3 |
| 11* | 男 | 40 | 20 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌高分化 | pTis |
| 12 | 女 | 53 | >20 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌高分化 | pT1 |
| 13* | 男 | 53 | 22 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌高分化 | pT1 |
| 14 | 男 | 57 | 30 | 全大腸炎型 | 直腸 | 管状腺癌高分化 | pT3 |

*: 多発癌症例。大腸癌のデータは最も進行したものとした。

占拠部位, 組織型, 壁深達度は大腸癌取扱い規約²⁵⁾に準じた。

時年齢, UC 診断時年齢, UC 罹患年数に有意差はなかった.

担癌 UC 群 14 例の臨床病理学的事項を表 2 に示す. 大腸癌の 13/14 例は直腸または S 状結腸に発生していた. 大腸癌の組織診断は大腸癌取扱い規約²⁵⁾に準じた.

2. 非 IBD 群と UC 群の胃型粘液発現

非 IBD 群と UC 群の胃型粘液発現率を比較した (表 3).

非 IBD 群では, 25/38 (65.8%) で MUC5AC もしくは HGM 染色陽性の腺窩上皮型粘液を発現する陰窩が認められたが, その発現率 (MUC5AC 染色と HGM 染色の陽性陰窩率で, より高い値を採用) は 30% 以下が 19/38 (50.0%) を占め, 30% を越えるものは 6/38 (15.8%) に過ぎなかった. 非 IBD 群の腺窩上皮型粘液を発現する細胞

は, 検索した全ての陽性陰窩で, 陰窩中層~表層にかけて散在性に分布していた (図 1-A). 陰窩全長にわたって陽性細胞が分布する aberrant パターンを示すものはなかった. 杯細胞粘液コア蛋白である MUC2 は, 腺窩上皮型粘液の有無に関わらず, 全ての陰窩で全長にわたってびまん性に認められた (図 1-B). MUC6 染色もしくは M-GGMC-1 染色陽性の幽門腺型粘液を発現する陰窩は認めなかった.

UC 群では, 非担癌 UC 群で 94/104 (90.4%), 担癌 UC 群で 14/14 (100%) に腺窩上皮型粘液を発現する陰窩が認められ, 発現率も 34.6% (非担癌 UC 群) と 78.6% (担癌 UC 群) が 30% 以上であった. 幽門腺型粘液を発現する陰窩も, 非担癌 UC 群の 44/104 (42.3%) と担癌 UC 群の 11/14 (78.6%) に認められたが, 発現頻度は非担癌 UC 群の 1 例を除き, 全例が 30% 未満であ

表 3 非 IBD 群と UC 群の胃型粘液発現率

| | 非IBD群 ^a | | UC群 (n: 118) | | | |
|-----------------------|--------------------|--------------|---------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | (n: 38) | | 非担癌UC群 ^b | | 担癌UC群 ^c | |
| | | | (n: 104) | | (n: 14) | |
| 腺窩上皮型粘液発現率 (%) | | | | | | |
| 0 | 13 (34.2%) | | 10 (9.6%) | | 0 | |
| 0 < X ≤ 30 | 19 (50.0%) | } 25 (65.8%) | 58 (55.8%) | } 94 (90.4%) | 3 (21.4%) | } 14 (100%) |
| 30 < X ≤ 60 | 3 (7.9%) | | 20 (19.2%) | | 4 (28.6%) | |
| X > 60 | 3 (7.9%) | | 16 (15.4%) | | 7 (50.0%) | |
| 幽門腺型粘液発現率 (%) | | | | | | |
| 0 | 38 (100%) | | 60 (57.7%) | | 3 (21.4%) | |
| 0 < X ≤ 30 | 0 | } 0 (0%) | 43 (41.3%) | } 44 (42.3%) | 11 (78.6%) | } 11 (78.6%) |
| 30 < X ≤ 60 | 0 | | 1 (1.0%) | | 0 | |
| X > 60 | 0 | | 0 | | 0 | |

腺窩上皮型粘液発現率 (%): MUC5AC免疫染色とHGM免疫染色の陽性陰窩率で, より高い値を採用.

幽門腺型粘液発現率 (%): MUC6免疫染色とM-GGMC-1免疫染色の陽性陰窩率で, より高い値を採用.

a vs. b, c: P<0.05

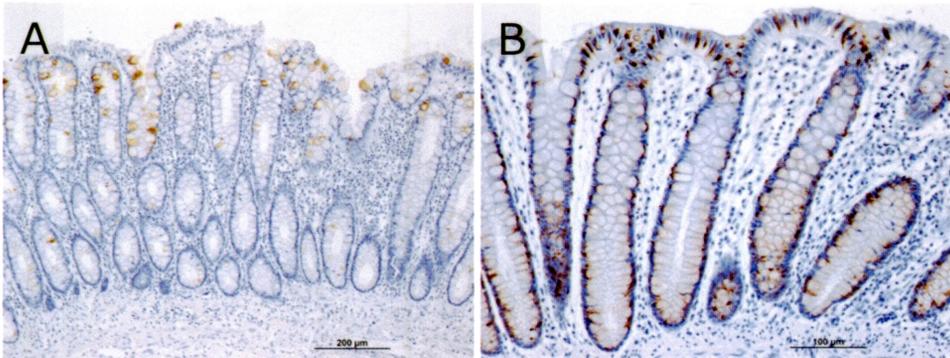


図1 非IBD群の粘液形質発現

A: HGM 免疫染色 (×対物 10). 陽性細胞は陰窩中層～表層にかけて散在性に分布している。
 B: MUC2 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩全長にわたってびまん性に分布している。

表4 罹患年数別にみた非担癌および担癌 UC 群の胃型粘液発現率

| | UC罹患年数<10年 (n: 91) | | | UC罹患年数≥10年 (n: 27) | | |
|----------------|-----------------------|-----------------|-------|-----------------------|-----------------|------|
| | 非担癌UC群 (n: 86) | 担癌UC群 (n: 5) | P 値 | 非担癌UC群 (n: 18) | 担癌UC群 (n: 9) | P 値 |
| 腺窩上皮型粘液発現率 (%) | | | | | | |
| 0 | 9 (10.5%) | 0 | | 1 (5.6%) | 0 | |
| 0 < X ≤ 30 | 51 (59.3%) | 1 (20.0%) | <0.05 | 7 (38.9%) | 2 (22.2%) | n.s. |
| 30 < X ≤ 60 | 14 (16.3%) | 1 (20.0%) | | 6 (33.3%) | 3 (33.3%) | |
| X > 60 | 12 (14.0%) | 3 (60.0%) | | 4 (22.2%) | 4 (44.4%) | |
| | 77 (89.5%) | 5 (100%) | | 17 (94.4%) | 9 (100%) | |
| 幽門腺型粘液発現率 (%) | | | | | | |
| 0 | 52 (60.5%) | 0 | | 8 (44.4%) | 3 (33.3%) | |
| 0 < X ≤ 30 | 33 (38.4%) | 5 (100%) | <0.01 | 10 (55.6%) | 6 (66.7%) | n.s. |
| 30 < X ≤ 60 | 1 (1.2%) | 0 | | 0 | 0 | |
| X > 60 | 0 | 0 | | 0 | 0 | |
| | 34 (39.5%) | 5 (100%) | | 10 (55.6%) | 6 (66.7%) | |

腺窩上皮型粘液発現率 (%) : MUC5AC免疫染色とHGM免疫染色の陽性陰窩率で、より高い値を採用。

幽門腺型粘液発現率 (%) : MUC6免疫染色とM-GGMC-1免疫染色の陽性陰窩率で、より高い値を採用。

った。腺窩上皮型粘液 (MUC5AC もしくは HGM 染色陽性) および幽門腺型粘液 (MUC6 もしくは M-GGMC-1 染色陽性) いずれの発現率も、UC 群 (非担癌, 担癌群ともに) が非 IBD 群に比べ有意に高かった (P < 0.05)。

UC 群を罹患年数 10 年で区分して 2 群に分け、胃型粘液発現率を比較した (表 4)。

UC 罹患年数 10 年未満の症例では、腺窩上皮型粘液は非担癌 UC 群の 77/86 (89.5%)、担癌 UC

群の 5/5 (100%) で発現がみられたが、担癌 UC 群では発現率の高いものが有意に多かった (P < 0.05)。発現率が 60% より高いものは、非担癌 UC 群が 14.0% であったのに対し担癌 UC 群では 60.0% を占めた。幽門腺型粘液発現は非担癌 UC 群の 34/86 (39.5%)、担癌 UC 群の 5/5 (100%) にみられ、後者が前者に比べ有意に高頻度 (P < 0.01) であったが、両者ともに発現率は腺窩上皮型に比べ低く、大部分が 30% 以下であった。一

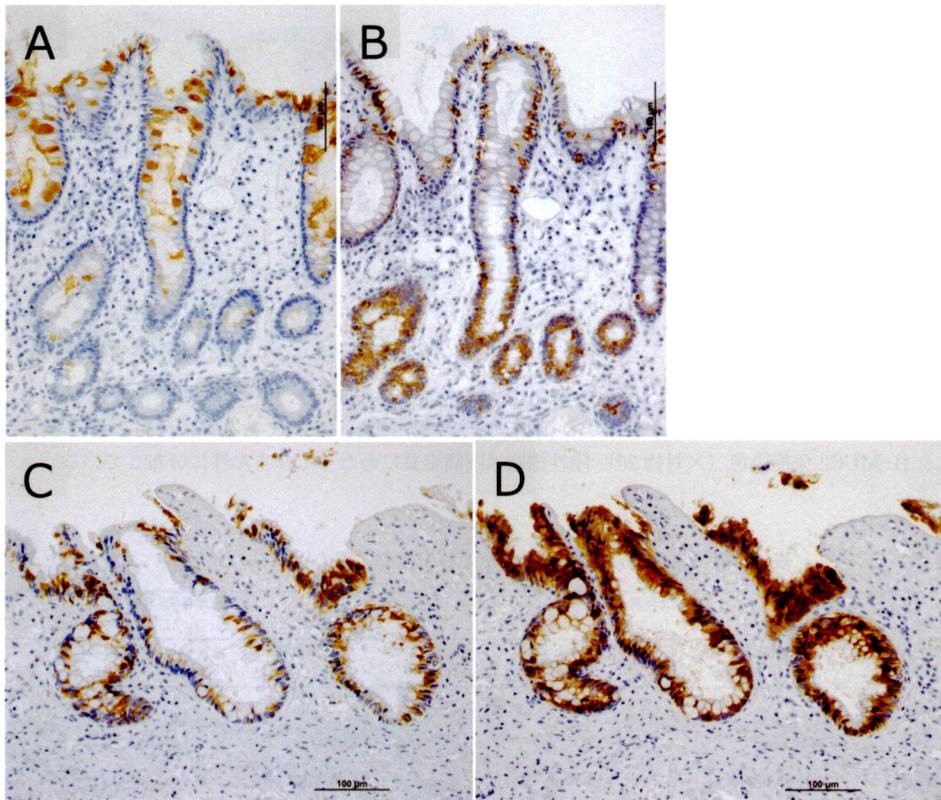


図2 UC群の粘液形質発現-1)

- A: 非担癌 UC 例の HGM 免疫染色 (×対物 10). 陽性細胞は陰窩中層～表層にかけて散在性に分布している.
- B: 図 A 部分の MUC2 免疫染色 (×対物 10). 陽性細胞は陰窩全長にわたってびまん性に分布している.
- C: 担癌 UC 例の MUC5AC 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩全長にわたってびまん性に分布している (aberrant パターン).
- D: 図 C 部分の MUC2 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩全長にわたってびまん性に分布している.

方, UC 罹患年数が 10 年以上の症例では, 腺窩上皮型粘液は非担癌 UC 群の 17/18 (94.4%), 担癌 UC 群の 9/9 (100%) にみられ, 両者間で発現率に有意差はなかった. 幽門腺型粘液も非担癌 UC 群の 10/18 (55.6%), 担癌 UC 群の 6/9 (66.7%) にみられ, 腺窩上皮型と同様に両者間で有意差はなかった.

3. UC 群の胃型粘液発現パターン

UC 群の腺窩上皮型粘液を発現する細胞は, 胃幽門腺粘膜や非 IBD 群と同様に陰窩中層～表層にかけて分布するもの (図 2-A) と陰窩全長にわたって分布するもの (aberrant パターン) (図 2-C) とがあった. いずれの同型粘液陽性陰窩も MUC2 を同時に発現していた (図 2-B, D). 幽門腺型粘液を発現する細胞も, 幽門腺粘膜と同様に陰窩中層～底部に分布するものと陰窩のほぼ全

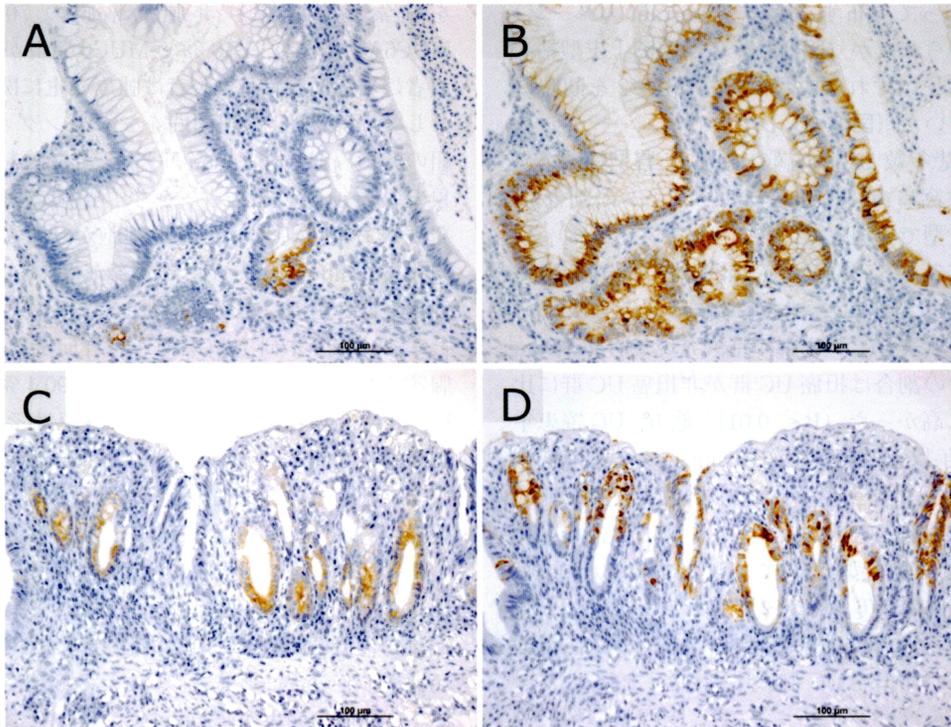


図3 UC群の粘液形質発現-2)

- A: 非担癌 UC 例の MUC6 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩底部に少数個存在する.
- B: 図 A 部分の MUC2 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩全長にわたってびまん性に分布している.
- C: 担癌 UC 例の MUC6 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩のほぼ全長にわたって分布する.
- D: 図 C 部分の MUC2 免疫染色 (×対物 20). 陽性細胞は陰窩全長にわたって分布する.

表5 UC群の胃型粘液発現陰窩に占める aberrant パターンの割合

| aberrant/パターン | UC罹患年数<10年 | | | UC罹患年数≥10年 | | |
|----------------|---------------|-------------|-------|---------------|-------------|-------|
| | 非担癌UC群 | 担癌UC群 | P 値 | 非担癌UC群 | 担癌UC群 | P 値 |
| 腺窩上皮型粘液 | | | | | | |
| なし | 63/77 (81.8%) | 0/5 | <0.01 | 13/17 (76.5%) | 1/9 (11.1%) | <0.01 |
| あり | 14/77 (18.2%) | 5/5 (100%) | | 4/17 (23.5%) | 8/9 (88.9%) | |
| 幽門腺型粘液 | | | | | | |
| なし | 28/34 (82.4%) | 1/5 (20.0%) | <0.01 | 10/10 (100%) | 4/6 (66.7%) | n.s. |
| あり | 6/34 (17.6%) | 4/5 (80.0%) | | 0/10 | 2/6 (33.3%) | |

長にわたって分布するもの (aberrant パターン) とが認められたが (図3-A, C), 腺窩上皮型粘液と同様に, いずれの陽性陰窩も MUC2 を同時に発現していた (図3-B, D).

UC 罹患年数 10 年未満の症例で, 胃型粘液を発現する陰窩に占める aberrant パターンの割合は, 腺窩上皮型で非担癌 UC 群の 14/77 (18.2%), 担癌 UC 群の 5/5 (100%), 幽門腺型で非担癌 UC 群の 6/34 (17.6%), 担癌 UC 群の 4/5 (80.0%) であった (表5). いずれの粘液発現でも aberrant パターンの割合は担癌 UC 群が非担癌 UC 群に比べ有意に高かった ($P < 0.01$). 他方, UC 罹患年数が 10 年以上の症例で aberrant パターンの胃型粘液発現を示す陰窩の割合は, 腺窩上皮型で非担癌 UC 群の 4/17 (23.5%), 担癌 UC 群の 8/9 (88.9%), 幽門腺型で非担癌 UC 群の 0/10 (0%), 担癌 UC 群の 2/6 (33.3%) であった (表5). 腺窩上皮型粘液で, 担癌 UC 群の同パターン出現陰窩の割合が非担癌 UC 群に比べ有意に高かったが (88.9% vs. 23.5%) ($P < 0.01$), 幽門腺型粘液では両群間に有意差はなかった.

考 察

慢性炎症はヒトの癌発生におけるリスク因子であり, ヒトの癌の少なくとも三分の一が炎症と関連していると考えられている²⁶⁾. 慢性炎症により, 既存組織の細胞には化生 (metaplasia) と呼ばれる分化形質変化が起きることがあり, それが発癌に先行する現象の一つとして考えられている¹²⁾. 消化管では, 胃粘膜や Barrett 食道粘膜の腸上皮への形質変化 (腸上皮化生) が代表的なものとして知られており, いずれも発癌母地として重視されてきた¹³⁾¹⁴⁾.

UC 大腸の慢性持続性炎症粘膜では, 胃腺窩上皮粘液マーカーである MUC5AC や幽門腺粘液マーカーである MUC6 の発現があり, 癌や前癌病変である dysplasia でも同様の粘液形質発現がみられること^{15)–18)} から, 大腸上皮の胃型粘液を発現する細胞への形質転換が, 発癌に関連することが推定されている. Borralho ら¹⁷⁾ は, UC90 例

を検索した結果, 非腫瘍粘膜の 70.0% で MUC5AC 発現が, 17.8% で MUC6 発現がみられ, 前者は炎症活動性に, 後者は腫瘍発生に関連するとしている. UC 罹患期間をマッチングさせた 9 組の非担癌 UC 例と担癌 UC 例の非腫瘍粘膜を対象とした須田の報告¹⁸⁾ でも, 全例で MUC5AC 発現があり, MUC5AC 発現細胞がびまん性に出現する (diffuse type) 陰窩の存在は, UC の発癌高危険群の選別に有用な指標となる可能性があるとしている. 本研究結果でも先行研究と同様に, 腺窩上皮型粘液は非担癌 UC 群の 90.4%, 担癌 UC 群の 100% に, 幽門腺型粘液はそれぞれ 42.3% と 78.6% に発現がみられ (表3), UC の大腸上皮細胞には胃型粘液を発現する細胞への形質転換 (胃化生) が起きていることが確認された. しかし一方で, 本研究で UC 群の対照とした非 IBD 群 (炎症性腸疾患を合併しない S 状結腸癌あるいは直腸癌の非癌部大腸) でも, UC 群とは発現率に有意差はあるものの, その 65.8% では腺窩上皮粘液の発現が認められた (表3). 本研究の非 IBD 群は担癌大腸であり, 年齢も UC 群に比べ高齢であるため (表1), 必ずしも健常大腸とはいえない. すなわち, UC における胃型粘液発現は UC の慢性持続性炎症により生じる特徴的現象であっても特異的なものではなく, 加齢および炎症以外の癌発生要因に暴露された大腸粘膜に生じる普遍的な現象の一つである可能性も否定できない.

UC 大腸粘膜における胃型粘液の発現が, 慢性持続性炎症による特異的現象でないとしても, その発現頻度や発現パターン (発現細胞の陰窩内分布様式) は UC の大腸癌発生高リスク群を予測するためのマーカーとして有用なものと考えられる. 本研究では, UC の非腫瘍粘膜を非担癌群と担癌群とに分けて検討したが, 後者は (既に癌が発生していることから) 前者に比べ癌発生リスクの高い大腸と考えることができる. その結果, 罹患年数からは癌発生の高リスク群とはされていない 10 年未満の群でも, 担癌 UC 群は非担癌 UC 群に比べ腺窩上皮型・幽門腺型両者の発現率が有意に高く (表4), aberrant パターン (発現細胞の

陰窩内分布も本来の胃幽門腺粘膜を模倣せず、陰窩のほぼ全長にわたって出現)の割合が有意に高かった(表5)。本研究の aberrant パターンは須田¹⁸⁾の diffuse type に相当する。須田の検討は MUC5AC 染色を用いた腺窩上皮型粘液発現に限られていたが、本研究から幽門腺型粘液に関しても同様の特徴があることが明らかとなった。これらのことから、UC 罹患年数が 10 年未満であっても、大腸癌発生リスクには差異が生じており、胃型粘液の高発現と aberrant パターンを示す陰窩の出現は、大腸粘膜が既に癌発生高リスク状態になっていることを示唆する所見と考えられる。他方、UC 罹患年数が 10 年以上の症例については、非担癌 UC 群と担癌 UC 群とで胃型粘液の発現頻度に有意差は無く(表4)、腺窩上皮型粘液の aberrant パターン割合のみに有意差が認められた(表5)。このことは、UC 罹患年数 10 年以上が疫学的にも大腸癌発生高リスク群であること^{1)–5)}と矛盾しない。UC 罹患年数 10 年以上の症例については、胃型粘液の発現ではなく、腺窩上皮型粘液の陰窩内分布パターン(aberrant パターン)のみが、発癌リスクを層別化する上で重要な所見と考えられる。

UC 粘膜における大腸上皮の胃型粘液発現細胞への形質転換は、胃化生と捉えることもできるが、大腸上皮の細胞系列が胃の細胞系列に完全に転換したものではない。本研究で認められた胃粘液形質(腺窩上皮型および幽門腺型)発現陰窩は、腸杯細胞粘液のコア蛋白である MUC2 も同時に発現していた(図2,3)。すなわち、UC における胃型粘液発現細胞は、杯細胞と胃上皮細胞のハイブリッド細胞²⁷⁾²⁸⁾であり、不完全型胃化生と考えることがより正確であると考えられる。こうしたハイブリッド粘液発現は、粘液産生制御の不安定性を意味している。近年、大腸では鋸歯状病変で MUC2 と MUC5AC や MUC6 のハイブリッド粘液発現がみられることが報告されている²⁹⁾³⁰⁾。Renaud ら³¹⁾は、マイクロサテライト不安定性を示す大腸癌における MUC5AC 発現は、CpG アイランドの低メチル化に関連しているとしている。UC でも、遺伝子のメチル化が癌化に関係すると

いう報告もあり、dysplasia を有する UC の非腫瘍性粘膜でも遺伝子の異常なメチル化が観察されている³²⁾³³⁾。UC の胃型粘液発現の機序においても、DNA のメチル化の異常が鍵となっている可能性がある。他方、担癌 UC 群で高頻度にみられた aberrant パターンの胃型粘液発現は、腺窩上皮型粘液・幽門腺型粘液の陰窩内における発現極性の制御にも異常が生じていることを意味する。このような粘液形質の陰窩内極性の制御異常は、バレット食道癌³⁴⁾や胃癌³⁵⁾などの腫瘍性病変においても認められている。UC の dysplasia でも同様の現象が観察されており¹⁶⁾¹⁷⁾、本研究の aberrant パターンの胃型粘液発現細胞が dysplasia の前段階である可能性も示唆される。

UC に発生する大腸癌や前癌病変である dysplasia は、平坦もしくは丈の低い隆起で周囲との明瞭な境界を呈さないことがあるため内視鏡的発見が容易でない場合も多い⁶⁾¹¹⁾。そのため、欧米では大腸全域から 10cm 間隔の盲目的生検が推奨されてきた⁷⁾。近年、本邦では色素内視鏡を併用し有所見部に焦点を当てた狙撃生検が行われるようになってきたが³⁷⁾、狙撃生検でも発見される腫瘍性病変の多くは隆起を呈するものであり³⁷⁾、平坦な病変は依然として見逃されている可能性も高い。また、いずれの生検法にしても、罹患年数 8 年または 10 年以上経過の全大腸炎型 UC 症例に対して年 1 回の内視鏡検査が必要であり^{7)–10)}、対費用効果や患者への負担などの点からも、UC 罹患範囲や罹患年数以外に、発癌高リスク群を更に絞り込んだサーベイランス法が望まれる。本研究結果から、UC 粘膜における胃型粘液発現の有無、特にその発現パターンが、大腸癌発生の高リスク群を絞り込むためのマーカーになりうる可能性があり、内視鏡的生検組織に胃型粘液染色を併用した新たなサーベイランス法の確立が期待される。

結 論

UC 粘膜では、胃型(腺窩上皮型および幽門腺型)粘液発現細胞への形質転換が起きている。

UC罹患年数10年未満の症例では、胃型粘液の発現および発現細胞が陰窩のほぼ全長にわたって存在する aberrant パターン陰窩の存在が、罹患年数10年以上の症例では腺窩上皮型粘液発現が aberrant パターンを示す陰窩の存在が、UCの大腸癌発生高リスク群を予測するためのマーカーになりうる可能性があると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導を賜りました新潟大学医歯学総合研究科分子・診断病理学分野、味岡洋一教授に深謝いたします。また、本研究に関して協力を頂きました同分野職員（小林和恵、山口尚之、佐藤彩子）をはじめ教室の皆様へ深謝いたします。

文 献

- 1) 潰瘍性大腸炎・クローン病診断基準・治療指針：厚生労働科学研究費助成 難治性疾患等政策研究事業「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」(鈴木班) 平成27年度分担研究報告書別冊, 2016.
- 2) Ekbohm A, Helmick C, Zack M and Adami HO: Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 323: 1228-1233, 1990.
- 3) Eaden JA, Abrams KR and Mayberry JF: The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 48: 526-535, 2001.
- 4) 平井 孝, 加藤知行, 金光幸秀: 炎症性腸疾患と大腸癌—第55回大腸癌研究会アンケート結果. *胃と腸* 37: 887-893, 2002.
- 5) Castano-Milla C, Chaparro M and Gisbert JP: Systematic review with meta-analysis: the declining risk of colorectal cancer in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 39: 645-659, 2014.
- 6) Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, Appelman HD, Fenoglio CM, Haggitt RC, Ahren C, Correa P, Hamilton SR, Morson B, Sommers SC and Yardely JH: Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 14: 931-968, 1983.
- 7) Itzkowitz SH: Inflammatory bowel disease and cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 26: 129, 1997.
- 8) 厚生労働科学研究費助成金特定疾患対策研究事業「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」(日比班) 癌化「サーベイランス法の確立」プロジェクト研究グループ, 潰瘍性大腸炎サーベイランスアトラス, 2006.
- 9) Van Assche G, Dignass A, Bokemeyer B, Danese S, Gionchetti P, Moser G, Beaugeri L, Gomollon F, Hauser W, Herrlinger K, Oldenburg B, Panes J, Portela F, Rogler G, Stein J, Tilg H, Travis S and Lindsay JO: Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 3: special situations. *J Crohns Colitis*. 7: 1-33, 2013.
- 10) Hata K, Kishikawa J, Anzai H, Shinagawa T, Kazama S, Ishii H, Nozawa H, Kawai K, Kiyomatsu T, Tanaka J, Tanaka T, Nishikawa T, Otani K, Yasuda K, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J and Watanabe T: Surveillance colonoscopy for colitis-associated dysplasia and cancer in ulcerative colitis patients. *Digestive endoscopy*. 28: 260-265, 2016.
- 11) Jain D, Warren BF and Riddell RH: Inflammatory Disorders of the Large Intestine. In: Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology. 5th ed. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 552-635, 2013.
- 12) Regalo G and Leutz A: Hacking cell differentiation: transcriptional rerouting in reprogramming, lineage infidelity and metaplasia. *EMBO Mol Med* 5: 1154-1164, 2013.
- 13) Coron E, Robaszekiewicz M, Chatelain D, Svrcek M and Flejou JF: Advanced precancerous lesions in the lower oesophageal mucosa: high-grade dysplasia and intramucosal carcinoma in Barrett's oesophagus. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27: 187-204, 2013.
- 14) Rugge M, Capelle LG, Cappellesso R, Nitti D and Kuipers EJ: Precancerous lesions in the stomach: from biology to clinical patient management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27: 205-223, 2013.
- 15) Kanoh T, Ajioka Y, Watanabe H and Hatakeyama

- K: MUC1, MUC2, and MUC5AC Mucin Core Protein Expression in Ulcerative Colitis - associated Colorectal Carcinoma. *Acta medica et biologica* 52: 21 - 27, 2004.
- 16) Tatsumi N, Kushima R, Vieth M, Mukai K, Kakinoki R, Okabe H and Hattori T: Cytokeratin 7/20 and mucin core protein expression in ulcerative colitis - associated colorectal neoplasms. *Virchows Arch* 448: 756 - 762, 2006.
- 17) Borralho P, Vieira A, Freitas J, Chaves P and Soares J: Aberrant gastric apomucin expression in ulcerative colitis and associated neoplasia. *J Crohn's and Colitis*. 1: 35 - 40, 2007.
- 18) 須田和敬：潰瘍性大腸炎の発癌背景粘膜における粘液形質変化. *新潟医学会誌* 128: 83 - 89, 2014.
- 19) Filipe MI: The value of a study of the mucosubstances in rectal biopsies from patients with carcinoma of the rectum and lower sigmoid in the diagnosis of premalignant mucosa. *J Clin Pathol* 25: 123 - 128, 1972.
- 20) Chang S - K, Dohrman AF, Basbaum CB, Ho SB, Tsuda T, Toribara NW, Gum JR and Kim YS: Localization of mucin (MUC2 and MUC3) messenger RNA and peptide expression in human normal intestine and colon cancer. *Gastroenterology* 107: 28 - 36, 1994.
- 21) Machado JC, Nogueira AMMF, Carneiro F, Reis CA and Sobrinho - Simoes M: Gastric carcinoma exhibits distinct types of cell differentiation: an immunohistochemical study of trefoil peptides (TFF1 and TFF2) and mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6). *J Pathol* 190: 437 - 443, 2000.
- 22) Nakamura N, Ohta H and Katsuyama T: Histochemical reactivity of normal, metaplastic, and neoplastic tissue to alpha-linked N-acetylglucosamine residue-specific monoclonal antibody HIK1083. *J Histochem Cytochem* 46: 793 - 801, 1998.
- 23) Shiroshita H, Watanabe H, Ajioka Y, Watanabe G, Nishikura K and Kitano S: Re-evaluation of mucin phenotypes of gastric minute well-differentiated-type adenocarcinomas using a series of HGM, MUC5AC, MUC6, M - GGMC, MUC2 and CD10 stains. *Pathol Int* 54: 311 - 321, 2004.
- 24) Ban S: *The Normal Stomach: Anatomy, Specimen Dissection and Histology Relevant to Pathological Practice In: Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology*. 5th ed. Wiley - Blackwell, pp 87 - 103, 2013.
- 25) 大腸癌研究会編：大腸癌取扱い規約，第8版，金原出版，東京，2013.
- 26) Bartkova J, Hořejší Z, Koed K, Krämer A, Tort F, Zieger K, Guldborg P, Sehested M, Nesland JM, Lukas C, Ørntoft T, Lukas J and Bartek J: DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature* 434: 864 - 870, 2005.
- 27) Ota H, Katsuyama S, Nakajima S, Nakajima H, El - Simaity, Kim JG, Graham DY and Genta RM: Intestinal metaplasia with adherent *Helicobacter pylori*: a hybrid epithelium with both gastric and intestinal features. *Human Pathol* 29: 846 - 850, 1998.
- 28) Aihara R, Ajioka Y, Watanabe H, Shiroshita H, Akazawa K and Kuwano H: Incidence and distribution of hybrid goblet cells in complete type intestinal metaplasia of the stomach. *Pathol Res and Pract* 201: 11 - 19, 2005.
- 29) Hirono H, Ajioka Y, Watanabe H, Baba Y, Tozawa E, Nishikura K, Mukai G, Honma T and Aoyagi Y: Bidirectional gastric differentiation in cellular mucin phenotype (foveolar and pyloric) in serrated adenoma and hyperplastic polyp of the colorectum. *Pathol Int* 54: 401 - 407, 2004.
- 30) Gibson JA, Hahn HP, Shahsafaei A and Odze RD: MUC expression in hyperplastic and serrated colonic polyps: lack of specificity of MUC6. *Am J Surg Pathol* 35: 742 - 749, 2011.
- 31) Renaud F, Vincent A, Mariette C, Crepin M, Stechly L, Truant S, Copin M - C, Porchet N, Leteurtre E, Seuningen IV and Buisin M - P: MUC5AC hypomethylation is a predictor of microsatellite instability independently of clinical factors associated with colorectal cancer. *Int J Cancer* 136: 2811 - 2821, 2015.
- 32) Fleisher AS, Esteller M, Harpaz N, Leytin A,

- Rashid A, Xu Y, Liang J, Stine OC, Yin J, Zou T-T, Abraham JM, Kong D, Wilson KT, James SP, Herman JG and Meltzer SJ: Microsatellite instability in inflammatory bowel disease - associated neoplastic lesions is associated with hypermethylation and diminished expression of the DNA mismatch repair gene, hMLH1. *Cancer Res* 60: 4864 - 4868, 2000.
- 33) Scarpa M, Scarpa M, Castagliuolo I, Erroi F, Kotsafti A, Basato S, Brun P, D'Inca R, Rugge M, Angriman I and Castoro C: Aberrant gene methylation in non - neoplastic mucosa as a predictive marker of ulcerative colitis - associated CRC. *Oncotarget* 7: 10322 - 10331, 2016.
- 34) Glickman JN, Blount PL, Sanchez CA, Cowan DS, Wongsurawat VJ, Reid BJ and Odz RD: Mucin core polypeptide expression in the progression of neoplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol* 37: 1304 - 1315, 2006.
- 36) Tsukashita S, Kushima R, Bamba M, Sugihara H and Hattori T: MUC gene expression and histogenesis of adenocarcinoma of the stomach. *Int J Cancer* 94: 166 - 170, 2001.
- 37) Watanabe T, Ajioka Y, Mitsuyama K, Watanabe K, Hanai H, Nakase H, Kunisaki R, Matsuda K, Iwakiri R, Hida N, Tanaka S, Takeuchi Y, Ohtsuka K, Murakami K, Kobayashi K, Iwao Y, Nagahori M, Iizuka B, Hata K, Igarashi M, Hirata I, Kudo S, Matsumoto T, Ueno F, Watanabe G, Ikegami M, Ito Y, Oba K, Inoue E, Tomotsugu N, Takebayashi T, Sugihara K, Suzuki Y, Watanabe M and Hibi T: Comparison of target vs random biopsies for surveillance of ulcerative colitis - associated colorectal cancer. *Gastroenterology* 151: 1122 - 1130, 2016.

(平成29年1月20日受付)
