

大腸 *de novo* 癌の粘液形質と遺伝子変異

岩田真弥

新潟大学大学院医歯学総合研究科分子・診断病理学分野

(指導：大橋瑠子准教授)

**Mucin Phenotypes and Genetic Alterations of Colorectal
de novo Carcinoma**

Masaya Iwata

Division of Molecular and Diagnostic Pathology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Associate Prof. Riuko OHASHI)

キーワード : 大腸 *de novo* 癌、粘液形質, 免疫染色, 遺伝子変異

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・診断病理学分野

岩田真弥

Reprint request to: Masaya Iwata

Division of Molecular and Diagnostic Pathology, Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences

要旨

大腸癌の組織発生には adenoma-carcinoma sequence、serrated neoplasia pathway、炎症性発癌が広く受け入れられており、それぞれ腺腫、鋸歯状病変、炎症性腸疾患に発生する dysplasia を前癌病変としている。一方で前癌病変を介さず直接大腸粘膜から発癌する大腸 *de novo* 発癌も存在すると考えられている。大腸癌の組織発生や生物学的悪性度については、遺伝子変異の他に粘液形質の観点からも多くの研究が行われてきたが、*de novo* 癌（以下 DN）の粘液形質についての系統的研究は極めて少ない。本研究では、DN の粘液形質および遺伝子変異との関係について検討した。DN を“肉眼型を問わず、大きさ 10mm 以下の pT1 (SM)癌で粘膜内部が全て癌からなる病変”と定義した。外科切除もしくは内視鏡的に切除された DN 44 病変を対象とした。また、10mm 以下の腺腫を併存する pT1 (SM)癌（腺腫由来癌：adenoma-carcinoma sequence: 以下 ACS）24 病変を比較対照群とした。病理形態学的検索は大腸癌取り扱い規約に準拠した。癌の粘膜内増殖様式は PG type (polyoid growth type) と NPG type (non-polypoid growth type) に分類した。粘液形質マーカーである MUC2, MUC5AC, MUC6 と小腸刷子縁のマーカーである CD10 免疫染色を行い、粘液形質を小腸型、大腸型、胃腸混合型、胃型、粘液欠失型に分類した。DN は ACS に比べ有意に NPG type が多かったが、それら以外の臨床病理学的因子に有意差は認めなかった。MUC2, CD10, MUC5AC, MUC6 のいずれの発現頻度も DN, ACS 間で有意差はなかった。粘液形質分類では、DN, ACS 間で粘液欠失型の頻度に有意差があった。粘膜内部と粘膜下層浸潤部の粘液形質の対比では、DN の 94.1%, ACS の 87.5% が一致していた。粘液形質と遺伝子変異との関係は、DN では粘液形質と遺伝子変異との間に有意な相関は認めなかったが、胃腸混合型のみが他の粘液形質とは異なり、*BRAF* 変異, MSI-H, CIMP-H を認めた。ACS でも粘液形質と遺伝子変異との間に有意な相関はなく、*BRAF* 変異, MSI-H, CIMP-H はいずれも認めなかった。ACS と比較し、粘液欠失型が DN に特異的な粘液形質と考えられたが、他の粘液形質頻度は ACS とは有意差はなかった。また、DN に特異的な粘液形質と遺伝子変異との関係も認められなかったが、DN の胃腸混合型にのみ *BRAF* 変異, MSI-H, CIMP-high がみられたことから、病理形態学的に DN と診断される病変の中には serrated neoplasia pathway を経て癌化した病変が含まれている可能性が想定された。これらのことから、DN は単一の機序により正常粘膜から直接発生する癌ではなく、様々な前癌病変が小さな段階で急激に癌化を来した、多様な集団により構成されている可能性も考察された。

緒言

大腸癌の組織発生には、①adenoma-carcinoma sequence^{1, 2)}, ②serrated neoplasia pathway^{3, 4)}, ③炎症性発癌 (inflammatory carcinogenesis)^{5, 6)}の3経路が想定されている。Adenoma-carcinoma sequenceは腺腫を前癌病変とした発癌経路であり、APC, KRAS, p53等の遺伝子変異がその発生と進展に関与している⁷⁾。Serrated neoplasia pathwayは過形成性ポリープやSSA/P (sessile serrated adenoma/polyp) (WHO第5版ではsessile serrated lesion (SSL)に名称が変更)⁸⁾等の鋸歯状病変を前癌病変とした発癌経路であり、BRAF変異, microsatellite instability (MSI), CpG island methylator phenotype (CIMP)等が発癌に関与していると考えられている⁹⁾。炎症性発癌は潰瘍性大腸炎やクローン病の慢性持続性炎症粘膜に生じる発癌過程であり、dysplasiaと呼ばれる粘膜内腫瘍を前癌病変とすることと、発癌早期のTP53変異が特徴とされている^{10, 11)}。

これらの発癌経路の他に、腺腫, 鋸歯状病変, dysplasia等の前癌病変を経ずに正常大腸粘膜から直接癌が発生する発癌経路も想定されており、*de novo*発癌と呼ばれている。大腸*de novo*癌の存在は、1960年代前後から欧米でも指摘されてきたが^{12, 13)}, 1980年代以降、日本の研究者らにより大腸癌の*de novo*発癌説が体系付けられて来た¹⁴⁻¹⁷⁾。大腸*de novo*癌は、肉眼的には平坦・陥凹型で、臨床病理学的には小さい病変でも粘膜下層浸潤率が高く¹⁷⁻²⁰⁾, 脈管浸潤が多いとされ^{17, 19, 20)}, 分子病理学的には腺腫由来癌と比較してKRAS変異が少ないと報告されている²¹⁻²⁹⁾。

他方、大腸癌の組織発生や生物学的悪性度については、遺伝子変異の他に粘液形質の観点からの研究も行われてきた。粘液形質マーカーとしてMUC2 (杯細胞マーカー), MUC5AC (胃腺窩上皮マーカー), MUC6 (胃幽門腺上皮マーカー)にCD10 (小腸刷子縁のマーカー)を加え、粘液形質を小腸型, 大腸型, 胃腸混合型, 胃型, 粘液欠失型に分類すると³⁰⁾, 小腸型では静脈侵襲や肝転移の頻度が高いこと³⁰⁾, 管状腺腫の多くは発生母組織である大腸粘膜の形質を模倣し大腸型が多いが、平坦・陥凹型病変では小腸型の頻度が高くなること³¹⁾, 絨毛腫瘍³¹⁾, 炎症性発癌^{32) 33)}, 鋸歯状病変³⁴⁾では胃腸混合型の頻度が高いこと, などが報告されている。しかし、*de novo*癌の粘液形質についての系統的研究はKogaら³⁵⁾のものがあるのみである。

我々の施設では、*de novo*癌の肉眼型を平坦・陥凹型病変に限定せず、“大きさ10mm以下の小pT1 (SM)癌で、粘膜内部が癌のみからなるもの”と定義し、それらの臨床病理学的・分子病理学的特徴について報告した³⁶⁾。本研究では既報症例を用いて*de novo*癌の粘液形質および遺伝子変異との関係を検討した。

対象と方法

対象

de novo 癌 (以下 DN)を, “肉眼型を問わず, 大きさ 10 mm 以下の pT1 (SM)癌で粘膜内部が全て癌からなる病変”と定義し, 外科切除もしくは内視鏡的に切除された DN 44 病変を対象とした. また, 10mm 以下の腺腫を併存する pT1 (SM)癌 (腺腫由来癌: adenoma-carcinoma sequence: 以下 ACS)24 病変を比較対照群とした. DN, ACS いずれも, 家族性大腸腺腫症, リンチ症候群が疑われる症例, 炎症性腸疾患合併例は除外した.

方法

対象例のパラフィンブロックを薄切し, 3 μ m 厚の連続切片 6 枚を作製した. 1 枚目の切片にはヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を行い, 2 枚目以降の切片には下記に述べる免疫染色を施行した.

1. 病理形態学的検索

肉眼分類, 組織学的検索は大腸癌取扱い規約第 9 版に準拠した³⁷⁾. 組織型, 粘膜内増殖様式, 深達度, 簇出は HE 染色標本を用いて評価した. 肉眼型は type 0-I (隆起型)と type 0-II (表面型)に大別し, 両者の併存例は type 0-I とした. type 0-II は, 更に表面隆起型 (type 0-IIa), 表面陥凹型 (type 0-IIc), 陥凹を伴う表面隆起 (type 0-IIa+IIc) に細分した. 組織型は主組織型を採用し, tub1 (管状腺癌高分化), tub2 (管状腺癌中分化), por (低分化腺癌)に分けた. 粘膜内増殖様式は, Ikegami³⁸⁾らの分類に従い, Polypoid growth type (PG type)と Non-polypoid growth type) (NPG type)とに分類した. PG type は粘膜内腫瘍部が辺縁粘膜より明らかに高いもの (肉眼型では 0-I に相当), NPG type は辺縁過形成性粘膜と同等かそれより薄いもの(肉眼型では 0-IIa, IIc, IIa+IIc に相当)である.

2. 遺伝子検索

KRAS, NRAS, BRAF, p53 遺伝子変異解析, マイクロサテライト不安定性(MSI)解析, CpG アイランドメチル化形質 (CpG island methylator phenotype: CIMP)解析の方法は, 既報³⁶⁾の通りである.

3. 免疫染色

Histofine Simple Stain MAX-PO (MULTI) 法 (ニチレイバイオサイエンス社) にて免疫染色を施行した. 一次抗体には MUC5AC (CLH2, Novocastra), MUC6 (CLH5, Novocastra), MUC2 (Ccp58, Novocastra), CD10 (56C6, Novocastra), D2-40 (D2-40, COVANCE), p53 (PAb1801, Thermo SCIENTIFIC) を用いた. 発色剤には diaminobenzidine を用い, 核染色はヘマトキシリンで行った.

MUC5AC、MUC6、MUC2 免疫染色は細胞質が茶色に染色されるものを陽性、CD10 免疫染色は管腔側細胞表面が茶色に染色されるものを陽性とし、それぞれ病変の 5%以上の細胞が陽性のものを発現陽性病変とした³⁹⁾。p53 免疫染色は核が茶色に染色されるものを陽性細胞とし、陽性細胞の分布様式を negative: 陽性細胞なし、sporadic: 陽性細胞が散在性に存在、nested: 陽性細胞集簇が散在性に存在、diffuse: 陽性細胞がびまん性に存在、に分類して、nested と diffuse を蛋白過剰発現とした⁴⁰⁾。

3. 粘液形質分類

MUC5AC、MUC6 を胃型マーカー、MUC2、CD10 を腸型マーカーとして、癌の粘液形質を胃型、胃腸混合型、腸型（小腸型と大腸型）、粘液欠失型、に分類した³⁰⁾（図 1）。

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）を用いて行った。Pearson のカイ二乗検定または Fisher の直接確率計算法、Mann-Whitney の U 検定にて検定し、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

結果

1. 臨床病理学的特徴

DN, ACS の臨床病理学的特徴を表 1 に示す（表 1）。粘膜内増殖様式で、DN は ACS に比べ有意に NPG type が多かったが、それら以外の因子については DN, ACS で有意差はなかった。

2. 粘液形質発現

DN を粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部に、ACS を腺腫部、粘膜内癌部、粘膜下層浸潤部にそれぞれ分け、粘液形質マーカーの発現頻度と粘液形質分類別頻度を比較した（表 2）。DN, ACS いずれも癌部では MUC2 と CD10 の発現頻度が高く（45.5～75.0%）、MUC6 の発現頻度は低かった（0～4.5%）。MUC5AC は ACS の粘膜内部が他の癌に比べ高頻度（20.8%）であったが、いずれのマーカー発現頻度は DN, ACS 間で有意差はなかった。ACS の腺腫部の粘液形質マーカー発現は癌部とは異なり、MUC2 が全例で、MUC5AC が 45.8% で発現陽性であり、CD10, MUC6 の発現は認めなかった。

粘液形質分類では、DN は ACS とともに小腸型の頻度が粘膜内癌部、粘膜下層浸潤部いずれも最も高かった（45.5～58.3%）（図 2）。DN は ACS に比べ大腸型の頻度が低い傾向があったが（18.2%, 13.6% vs. 25%）、有意差はなかった。DN, ACS 間で有意差を認めたものは粘

液欠失型であった（図 3）。粘液欠失型は DN の粘膜内癌部で 15.9%、粘膜下層浸潤部で 31.8%の頻度であったのに対し、ACS ではそれぞれ 0%と 8.3%であった。ACS の腺腫部の粘液形質は、大腸型と胃腸混合型がほぼ半数ずつであった。なお、いずれの病変でも胃型粘液形質は認めなかった。

3. 粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部の粘液形質の対比

DN, ACS いずれも既報³⁶⁾の遺伝子解析は粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部を合わせて行っている。従って、粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部で粘液形質が異なる場合は、遺伝子検索結果との対比を行うことができない。このことから、DN, ACS の粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部の粘液形質が対応しているかどうかを検討した（表 3, 表 4）。

DN では 37/44 (84.1%)で、ACS では 21/24 (87.5%)で、粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部は同一の粘液形質であった。粘液形質の変化は、粘膜下層浸潤部で粘液欠失型へ変化するものが多かった。DN では小腸型の 5/20 と大腸型の 2/8 が、ACS では大腸型の 1/6 と胃腸混合型の 1/4 が、粘液欠失型へ変化していた。

4. 粘液形質と遺伝子変異との関係

DN では粘液形質と遺伝子変異との間に有意な相関は認めなかったが、胃腸混合型のみが他の粘液形質とは異なり、*BRAF* 変異, MSI-H, CIMP-H を認めた（表 5）（図 4）。ACS でも粘液形質と遺伝子変異との間に有意な相関はなく、*BRAF* 変異, MSI-H, CIMP-H はいずれも認めなかった（表 6）。

考察

大腸 *de novo* 癌 (DN)はその発見頻度が低いことから、その臨床病理学および分子病理学的研究も腺腫や鋸歯状病変の癌化例にくらべ必ずしも多くはない。粘液形質との関連についても、DN では MUC2 発現が低下するという報告が散見されるのみである^{41) 42)}。DN の粘液形質に関する系統的検討は Koga ら³⁵⁾の研究があるに過ぎない。Koga らは本研究と同様の粘液形質分類を用いているが、各粘液形質の中で粘液欠失型 (unclassified type と標記されている) の頻度のみが DN (66%)と ACS(14%)との間に有意差があり、粘液欠失型が DN に特徴的な粘液形質としている。本研究結果も Koga らと同様であり、粘液欠失型の頻度のみが、DN と ACS との間で有意差があり、粘膜内癌部に限ってみると、DN の粘液欠失型が 15.9%であったのに対し、ACS では粘液欠失型はみられなかった。一方、Koga らの検討では ACS でも低頻度ながら粘液欠失型が出現している。このことは、Koga らが DN と ACS いずれも癌部を粘膜内と粘膜下層とに分けて検討していないことに起因していると推定される。本研究結果でも示した様に、癌の粘液形質は粘膜内から粘膜下層へ進展するに伴い変化し、小腸型、大腸型、

胃腸混合型の粘膜内癌が粘液欠失型の粘膜下層浸潤癌に移行する可能性がある。de novo 発癌に特徴的な粘液形質を明らかにするためには、発癌早期の段階、すなわち粘膜内癌部の所見が重要である。その点から、ACSの粘膜内癌部で粘液欠失型がみられなかった本研究結果からは、粘液欠失型がDNに特異的な粘液形質と考えることができる。他方で、粘液欠失型以外の粘液形質はDN, ACSともに有意差なく出現していることから、粘液形質の観点から、DNはACSに比べ必ずしも特殊な発癌機序をたどっているものではない可能性も示唆される。

DNの遺伝子変異を解析した我々の施設の既報研究³⁶⁾でも、DNではRAS変異率がACSに比べ有意に低いものの、p53変異、BRAF変異、MSI-H、CIMP-highの頻度はDNとACSで有意差はなく、DNに特徴的な遺伝子変異は認められなかった。本研究の粘液形質と遺伝子変異との関係の解析でも、DN、ACSいずれも粘液形質とRAS変異、BRAF変異、p53変異、MSI-H、CIMP-highとの間に有意な相関はなく、DNに特異的な粘液形質と遺伝子変異との関係も認められなかった。DNに特異的な粘液欠失型と有意な相関を示す遺伝子変異も認めなかった。他方で、有意差は認めなかったものの、DNの胃腸混合型にのみBRAF変異(50.0%)やMSI-H(25.0%)、CIMP-high(50.0%)がみられたことから、病理形態学敵意DNと診断される病変の中には、これら遺伝子変異によるserrated neoplasia pathway^{3) 4)}を経て癌化した病変が含まれている可能性も想定される。

de novo 癌とは、腺腫などの先行病変を介さず、“臓器固有の正常組織から直接発生する癌”と定義されるが、厳密には、病理形態学的にde novo 癌を診断することはできない。顕微鏡下で捉えられる癌は、既に発生し形態学的認識可能な大きさまで生長したものであり、発癌当初からの経過を観察することは不可能だからである。観察時に病変全体が純粋に癌のみで構成されていても、その発生初期に微小な腺腫等の先行病変が存在し、癌の生長に伴いそれが駆逐された可能性を否定することはできない。こうしたことから、現時点では、大腸de novo 癌は、できるだけ大きさが小さく、腺腫や鋸歯状病変などの前癌病変とされるものを併存していない(純粋に癌のみから構成される)癌と規定せざるをえないが、本研究結果および既報研究³⁶⁾からも、DNに特異的な遺伝子変異、粘液形質、粘液形質と遺伝子変異との関係は、認められないことから、DNは単一の機序により正常粘膜から直接発生する癌ではなく、様々な前癌病変が10mm以下という小さな段階で急激に癌化を来した、多様な集団により構成されている可能性も考察される。

結論

大腸de novo 癌(DN)を、“大きさ10 mm以下の小pT1(SM)癌で残存粘膜内部が癌のみからなるもの”と定義し、その粘液形質および粘液形質と遺伝子変異との関係を検討した。ACSと比較し、粘液欠失型がDNに特異的な粘液形質と考えられたが、他の粘液形質頻度はACSとは有意差はなかった。また、DNに特異的な粘液形質と遺伝子変異との関係も認められなかつ

たが、DN の胃腸混合型にのみ BRAF 変異, MSI-H, CIMP-high がみられたことから、病理形態学的に DN と診断される病変の中には serrated neoplasia pathway を経て癌化した病変が含まれている可能性が想定された。これらのことから、DN は単一の機序により正常粘膜から直接発生する癌ではなく、様々な前癌病変が 10mm 以下という小さな段階で急激に癌化を来した、多様な集団により構成されている可能性も考察された。

謝辞

稿を終えるにあたり、御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、味岡洋一前教授、同 大橋瑠子准教授、田口貴博先生に深謝いたします。また、本研究に関して協力を頂きました分子・診断学分野職員（山口尚之、佐藤彩子、小林和恵）をはじめ教室の皆様に深謝いたします。

文献

- 1) Morson BC: Precancerous and early malignant lesions of the large intestine. *Br J Surg* 55: 725-731, 1968.
- 2) Muto T, Bussey HJ, Morson BC: The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 36: 2251-2270, 1975.
- 3) Snover DC, Jass JR, Fenoglio-Preiser C, Batts KP: Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol* 124: 380-391, 2005.
- 4) Leggett B, Whitehall V: Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 138: 2088-2100, 2010.
- 5) Itzkowitz SH and Yio X: Inflammation and Cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287: G7-G17, 2004.
- 6) Vieth M and Neumann: Current issues in inflammatory bowel disease neoplasia. *Histopathology* 66: 37-48, 2015.
- 7) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL: Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 319: 525-532, 1988.
- 8) WHO Classification of Tumours Editorial Board: Digestive System Tumours. 5th

- ed, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp163-169, 2019.
- 9) Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND: WHO Classification of Tumours of the Digestive System. International Agency for Research on Cancer: Lyon, pp160- 165, 2010.
 - 10) Lashner BA, Shapiro BD, Husain A, Goldblum JR: Evaluation of the usefulness of testing for p53 mutations in colorectal cancer surveillance for ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 94: 456-462, 1999.
 - 11) Takaku H, Ajioka Y, Watanabe H, Hashidate H, Yamada S, Yokoyama J, Kazama S, Suda T, Hatakeyama K: Mutations of p53 in morphologically non-neoplastic mucosa of long-standing ulcerative colitis. *Jpn J Cancer Res* 92: 119-126, 2001.
 - 12) Spratt JS Jr, Ackerman LV, Moyer CA: Relationship of polyps of the colon to colonic cancer. *Ann Surg* 148: 682-698, 1958.
 - 13) Castleman B, Krickstein HI. Do adenomatous polyps of the colon become malignant?. *N Engl J Med* 267: 469-475, 1962.
 - 14) 中村恭一: 大腸癌の構造. 医学書院, 東京, pp73-112, 1989.
 - 15) Kuramoto S, Oohara T: Flat early cancers of the large intestine. *Cancer* 64: 950-955, 1989.
 - 16) Kudo S, Tamura S, Hirota S, Sano Y, Yamano H, Serizawa M, Fukuoka T, Mitsuoka H, Nakajima T, Kusaka H: The problem of de novo colorectal carcinoma. *Eur J Cancer* 31: 1118-1120, 1995.
 - 17) Shimoda T, Ikegami M, Fujisaki J, Matsui T, Aizawa S, Ishikawa E: Early colorectal carcinoma with special reference to its development de novo. *Cancer* 64: 1138-1146, 1989.
 - 18) Ajioka Y, Watanabe H, Kazama S, Hashidate H, Yokoyama J, Yamada S, Takaku H, Nishikura K: Early colorectal cancer with special reference to the superficial nonpolypoid type from a histopathologic point of view. *World J Surg* 24: 1075-1080, 2000.
 - 19) Kudo SE, Kouyama Y, Ogawa Y, Ichimasa K, Hamada T, Kato K, Kudo K, Masuda T, Otsu H, Misawa M, Mori Y, Kudo T, Hayashi T, Wakamura K, Miyachi H, Sawada N, Sato T, Shibata T, Hamatani S, Nemoto T, Ishida F, Niida A, Miyano S, Oshima M, Ogino S, Mimori K: Depressed Colorectal Cancer: A New Paradigm in Early Colorectal Cancer. *Clin Transl Gastroenterol* 11: e00269, 2020.
 - 20) Koga Y, Hirahashi M, Ohishi Y, Oda Y. Clinicopathological features and phenotypic classification of de novo-type colorectal carcinomas differ from those of colorectal carcinomas derived from flat adenomas: *Pathol Int* 69: 331-340, 2019.
 - 21) Laurent-Puig P, Olschwang S, Delattre O, Validire P, Melot T, Mosseri V, Salmon

- RJ, Thomas G: Association of Ki-ras mutation with differentiation and tumor-formation pathways in colorectal carcinoma. *Int J Cancer* 49: 220-223, 1991.
- 22) Aoki T, Takeda S, Yanagisawa A, Kato Y, Ajioka Y, Watanabe H, Kudo S, Nakamura Y: APC and p53 mutations in de novo colorectal adenocarcinomas. *Hum Mutat* 3: 342-346, 1994.
- 23) Fujimori T, Satonaka K, Yamamura-Idei Y, Nagasako K, Maeda S: Non-involvement of ras mutations in flat colorectal adenomas and carcinomas. *Int J Cancer* 57: 51-55, 1994.
- 24) Minamoto T, Sawaguchi K, Mai M, Yamashita N, Sugimura T, Esumi H: Infrequent K-ras activation in superficial-type (flat) colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Cancer Res* 54: 2841-2844, 1994.
- 25) Kaneko K, Fujii T, Kato S, Boku N, Oda Y, Koba I, Ohtsu A, Hosokawa K, Ono M, Shimoda T, Yoshida S: Growth patterns and genetic changes of colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 28: 196-201, 1998.
- 26) Umetani N, Sasaki S, Masaki T, Watanabe T, Matsuda K, Muto T: Involvement of APC and K-ras mutation in non-polypoid colorectal tumorigenesis. *Br J Cancer* 82: 9-15, 2000.
- 27) Yashiro M, Carethers JM, Laghi L, Saito K, Slezak P, Jaramillo E, Rubio C, Koizumi K, Hirakawa K, Boland CR: Genetic pathways in the evolution of morphologically distinct colorectal neoplasms. *Cancer Res* 61: 2676-2683, 2001.
- 28) Kaneko K, Kurahashi T, Makino R, Konishi K, Ito H, Katagiri A, Kumekawa Y, Hirayama Y, Yoneyama K, Kushima M, Kusano M, Tajiri H, Rembacken BJ, Mitamura K, Imawari M: Pathological features and genetic alterations in colorectal carcinomas with characteristics of nonpolypoid growth. *Br J Cancer* 91: 312-318, 2004.
- 29) Hirata I, Wang FY, Murano M, Inoue T, Toshina K, Nishikawa T, Maemura K: Histopathological and genetic differences between polypoid and non-polypoid submucosal colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 13: 2048-2052, 2007.
- 30) Yao T, Tsutsumi S, Akaiwa Y, Takata M, Nishiyama K, Kabashima A and Tsuneyoshi M: Phenotypic Expression of Colorectal Adenocarcinomas with Reference to Tumor Development and Biological Behavior. *Jpn J Cancer Res* 92: 755-761, 2001.
- 31) Takata M, Yao T, Nishiyama KI et al: Phenotypic alteration in malignant transformation of colonic villous tumours: with special reference to a comparison with tubular tumours. *Histopathology* 43: 332-339, 2003.
- 32) Kanoh T, Ajioka Y, Watanabe H, Hatakeyama K: MUC1, MUC2 and MUC5AC mucin

- core protein expression in ulcerative colitis-associated colorectal carcinoma. *Acta Med et Biol* 52: 21-27, 2004.
- 33) Tatum N, Kushima R, Hattori T et al: Cytokeratin 7/20 and mucin core protein expression in ulcerative colitis-associated colorectal neoplasms. *Virchows Arch* 6: 756-762, 2006.
 - 34) Fujita K, Hirahashi M, Yamamoto H, et al: Mucin core protein expression in serrated polyps of the large intestine. *Virchows Arch* 457: 443-449, 2010.
 - 35) Koga Y, Hirahashi M, Ohishi Y, Oda Y: Clinicopathological features and phenotypic classification of de novo-type colorectal carcinomas differ from those of colorectal carcinomas derived from flat adenomas. *Pathology Int* 69: 331-340, 2019.
 - 36) 田口貴博 : 大腸 *de novo* 癌の臨床病理学的・分子病理学的特徴. *新潟医学会誌* 137:8 月号, 2023 (掲載予定)
 - 37) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 第9版, 金原出版, 東京, pp6-92, 2018.
 - 38) Ikegami M: A pathological study on colorectal cancer. From de novo carcinoma to advanced carcinoma. *Acta Pathol Jpn* 37: 21-37, 1987.
 - 39) 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.
 - 40) Oohashi Y, Watanabe H, Ajioka Y and Hatakeyama K: p53 immunostaining distinguishes malignant from benign lesions of the gall-bladder. *Pathol Int* 45: 58-65, 1995.
 - 41) Blank M, Klussmann E, Kruger-Krasagakes S, Schmitt-Graff A, Stolte M, Bornhoeft G, Stein H, Xing PX, McKenzie IFC, Verstunen CPHJ, Riecken EO, Hanski C: Expression of MUC2-mucin in colorectal adenomas and carcinomas of different histological types. *Int J Cancer* 59: 301-306, 1994.
 - 42) Mizoshita t, Tsukamoto T, Inada KI, Hirano N, Tajika M, Nakamura T, Ban H, Tatematsu M: Loss of MUC2 expression correlates with progression along the adenoma-carcinoma sequence pathway as well as *de novo* carcinogenesis in the colon. *Histol Histopathol* 22: 251-260, 2007.

表1 *De novo* 癌, 腺腫由来癌の臨床病理学的特徴

n	DN (n : 44)	ACS (n : 24)	P値
大きさ (mm)	8.4 (5.0-10.0)	9.2 (5.0-10.0)	-
年齢 平均±標準偏差	69.0±10.2)	69.8±8.7	ns
性別			
男性	34 (77.3)	20 (83.3)	ns
女性	10 (22.7)	4 (16.7)	
部位			
右側 (C-T)	13 (29.5)	8 (33.3)	ns
左側 (D-S)	19 (43.2)	9 (37.5)	
直腸 (RS, Ra, Rb)	12 (27.3)	7 (29.2)	
肉眼型			
type 0-I	24 (54.5)	18 (75.0)	ns
type 0-II	20 (45.5)	6 (25.0)	
type 0-IIa	11 (25.0)	5 (20.8)	
type 0-IIa+IIc	6 (13.6)	1 (4.2)	
type 0-IIc	3 (6.8)	0	
粘膜内増殖様式			
PG type	17 (38.6)	21 (87.5)	0.001
NPG type	27 (61.4)	3 (12.5)	
SM浸潤度			
< 1000 μm	8 (18.2)	3 (12.4)	ns
≥ 1000 μm	36 (81.8)	21 (87.5)	
組織型			
tub1	37 (84.1)	17 (70.8)	ns
tub2	6 (13.6)	7 (29.2)	
por	1 (2.3)	0	
脈管侵襲			
リンパ管 (Ly)	6 (13.3)	0	ns
静脈 (V)	7 (14.3)	1 (4.2)	ns
簇出			
Grade 1	43 (97.7)	24 (100)	ns
Grade 2-3	1 (2.3)	0	

DN: *de novo* 癌, ACS: Adenoma carcinoma sequence 腺腫由来癌

PG: Polypoid growth, NPG: Non-polypoid growth

右側: 盲腸から横行結腸, 左側: 下行結腸から直腸

組織型は優勢像

表2 *De novo* 癌 と腺腫由来癌の粘液形質発現

	DN (n:44)		腺腫部	ACS (n:24)	
	粘膜内癌部	粘膜下層浸潤部		粘膜内癌部	粘膜下層浸潤部
MUC2+	28 (63.6%)	22 (50.0%)	24 (100%)	18 (75.0%)	14 (58.3%)
CD10+	25 (56.8%)	20 (45.5%)	0	15 (62.5%)	15 (62.5%)
MUC5AC+	4 (9.1%)	4 (9.1%)	11 (45.8)	5 (20.8%)	2 (9.3%)
MUC6+	2 (4.5%)	2 (4.5%)	0	0	0
小腸型	25 (56.8%)	20 (45.5%)	0	14 (58.3%)	14 (58.3%)
大腸型	8 (18.2%)	6 (13.6%)	13 (54.2%)	6 (25.0%)	6 (25.0%)
胃腸混合型	4 (9.1%)	4 (9.1%)	11 (45.8%)	4 (16.7%)	2 (8.3%)
胃型	0	0	0	0	0
粘液欠失型	7 (15.9%) ^a	14 (31.8%)	0	0 ^b	2 (8.3%)

DN: *de novo* 癌, ACS: Adenoma carcinoma sequence 腺腫由来癌

a vs b: P=0.046

表3 *De novo* 癌 (n : 44) の粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部の粘液形質の対比

粘膜内癌部	粘膜下層浸潤部				
	小腸型 (n:20)	大腸型 (n:6)	胃腸混合型 (n:4)	胃型 (n:0)	粘液欠失型 (n:14)
小腸型 (n:25)	20	0	0	-	5
大腸型 (n:8)	0	6	0	-	2
胃腸混合型 (n:4)	0	0	4	-	0
胃型 (n:0)	-	-	-	-	-
粘液欠失型 (n:7)	0	0	0	-	7

表4 腺腫由来癌 (n : 24) の粘膜内癌部と粘膜下層浸潤部の粘液形質の対比

粘膜内癌部	粘膜下層浸潤部				
	小腸型 (n:14)	大腸型 (n:6)	胃腸混合型 (n:2)	胃型 (n:0)	粘液欠失型 (n:2)
小腸型 (n:14)	14	0	0	-	0
大腸型 (n:6)	0	5	0	-	1
胃腸混合型 (n:4)	0	1	2	-	1
胃型 (n:0)	-	-	-	-	-
粘液欠失型 (n:0)	0	0	0	-	0

表5 *De Novo* 癌の粘液形質と遺伝子変異

	<i>RAS</i> 変異	<i>BRAF</i> 変異	<i>p53</i> 変異	MSI-H	CIMP-H
小腸型 (n:20)	3 (15.0%)	0	13 (65.0%)	0	0
大腸型 (n:6)	1 (16.7%)	0	4 (66.7%)	0	0
胃腸混合型 (n:4)	1 (25.0%)	3 (75.0%)	2 (50.0%)	1 (25.0%)	2 (50.0%)
胃型 (n:0)	-	-	-	-	-
粘液欠失型 (n:7)	2 (28.6%)	0	3 (42.9%)	0	1 (14.3%)

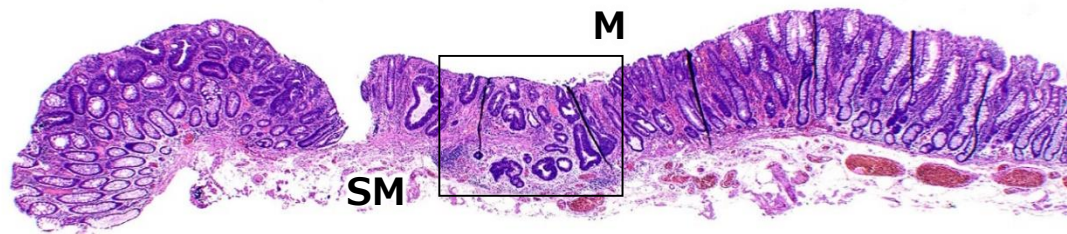
表6 腺腫由来癌の粘液形質と遺伝子変異

	RAS変異	BRAF変異	p53変異	MSI-H	CIMP-H
小腸型 (n:14)	5 (35.7%)	0	10 (71.4%)	0	0
大腸型 (n:5)	3 (60.0%)	0	1 (20.0%)	0	0
胃腸混合型 (n:2)	2 (100%)	0	2 (100%)	0	0
胃型 (n:0)	-	-	-	-	-
粘液欠失型 (n:0)	-	-	-	-	-

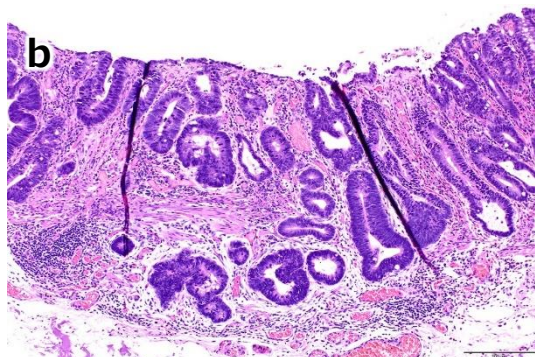
		MUC5AC and/or MUC6	
		(+)	(-)
CD10 (+)	MUC2 (+)	胃腸混合型	小腸型
	MUC2 (-)	胃腸混合型	小腸型
CD10 (-)	MUC2 (+)	胃腸混合型	大腸型
	MUC2 (-)	胃型	粘液欠失型

図1 免疫染色による粘液形質分類

a



b



c

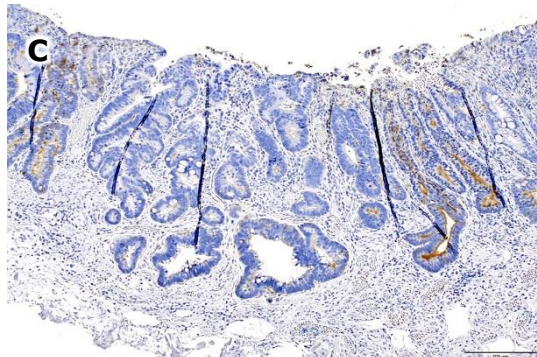


図2 小腸型の *de novo* 癌

a: IIa+IIc型, NPG typeの*de novo*癌.

b: a の四角部分の拡大像. 管状腺癌高分化

c: CD10発現陽性. MUC2も発現陽性であった.

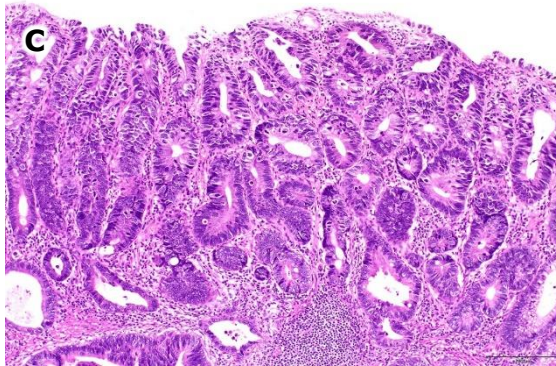
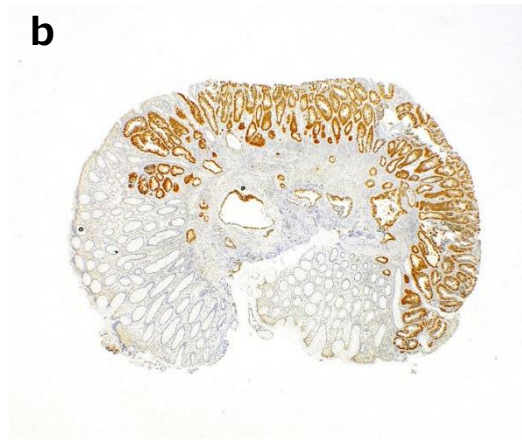


図3 粘液欠失型 *de novo*癌

a: IIa型, NPG typeの*de novo*癌.

b: p53免疫染色. 癌部はびまん性にp53蛋白過剰発現 (+).

c: a の四角部分の拡大像. 管状腺癌高分化. MUC2, CD10, MUC5AC, MUC2はいずれも発現陰性.

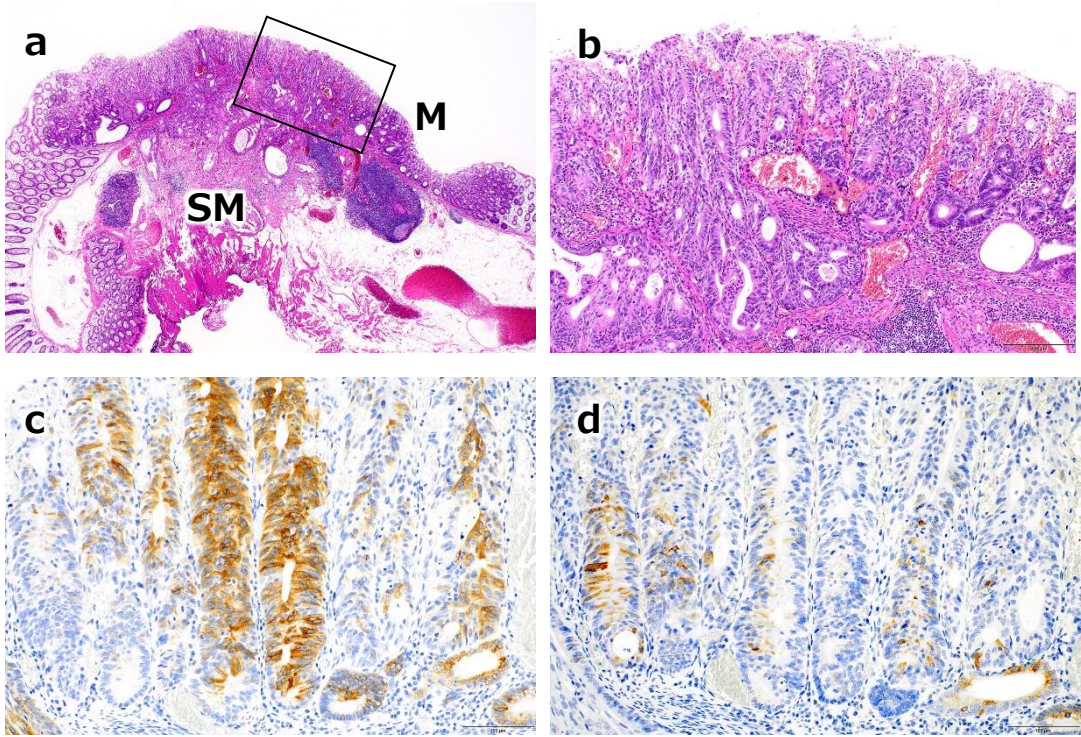


図4 胃腸混合型の *de novo* 癌

a: IIa+IIc型, NPG typeの*de novo*癌.

b: a の四角部分の拡大像. 管状腺癌高分化～中分化

c: MUC2発現陽性.

d: MUC5AC発現陽性. MUC6も発現陽性であったが CD10は発現陰性であった.
遺伝子解析では*BRAF*陽性であった.