

原 著

大腸側方発育型腫瘍の臨床病理学的特徴と発癌過程に関する検討

山梨医科大学第1外科¹⁾, 上野原町立病院外科²⁾, 松本歯科大学口腔病理³⁾

山田 治樹¹⁾ 飯野 弥¹⁾ 藤井 秀樹¹⁾

江口 英雄²⁾ 長谷川博雅³⁾ 松本 由朗¹⁾

目的: 大腸側方発育型腫瘍(LST)31症例31病変を対象とし,その臨床病理学的特徴とβ-カテニン, p53蛋白の発現ならびにマイクロサテライト不安定性(MSI)の解析から,その腫瘍化と発癌の過程を検討した。**結果:** LSTを顆粒均一型(G-H群),結節混在型(G-N群),非顆粒型(NG群)に分類した。腫瘍径はG-H,G-N群がNG群に比べ有意に大きかった。担癌率はG-N,NG群がG-H群に比べ有意に高く,とくに,NG群は腫瘍径が20mm以下で全例が癌であった。p53蛋白の発現率は異型度が増すにしたがい高くなったが,β-カテニン蛋白は異型度にかかわらず高い発現率を認めた。また,MSI-H(high)症例は認めなかった。**結論:** 1) NG群は生物学的悪性度が高かった。2) LSTの腫瘍化にβ-カテニン蛋白の関与が考えられた。3) LSTの発癌過程は主にLOH型に準じた経路が示唆された。4) LSTは単一の疾患概念とは考えられなかった。

はじめに

大腸内視鏡検査の発達と普及によって,大腸上皮性腫瘍の詳細な観察が可能となり,大腸腫瘍のなかには,顆粒や結節の集簇からなる比較的丈の低い扁平な隆起性病変の存在が明らかとなり,IIa集簇様病変¹⁾,顆粒集簇様病変²⁾,carpet lesion³⁾,結節集簇様病変⁴⁾などと記載された。これらの腫瘍群の特徴は,腸管の管腔内壁に沿って側方への発育・進展形態を示すことである。しかし,それらの一部には肉眼的に顆粒や結節を持たない病変も存在することが次第に明らかになり,工藤らはそれらを非顆粒型と呼称し,従来の顆粒・結節型と併せて,側方発育型腫瘍(laterally spreading tumor:以下,LST)と総称することを提唱し,その腫瘍径は10mm以上と定義した。そして,工藤らはこのLSTを顆粒型と非顆粒型に大別し,顆粒型を粗大結節の有無により,顆粒均一型と結節混在型に亜分類した⁵⁾⁻⁸⁾。

しかし,LSTの定義はあくまでも腫瘍の発育・進展形式から規定した腫瘍群名であって,肉眼形態の特徴からこれを規定したものではない。したがって,LSTを1つの疾患概念として分類するのに異論を唱える報告⁹⁾¹⁰⁾があり,また大腸癌取扱い規約第6版¹¹⁾にもLST(類似病変の結節集簇様病変などを含め)という名称は

いまだ記載されていない。

そこで著者らは,LSTの臨床病理学的特徴を検討し,さらにその腫瘍化と癌化への過程について,β-カテニンならびにp53蛋白の発現の異常の有無を免疫組織化学的に検討した。さらに,LSTの発癌過程にDNA修復機構の異常が関与しているか否かをmicrosatellite instability(以下,MSI)の有無によって検討した。以上より,LSTを1つの疾患概念として確立できるかどうかを考察した。

対象症例

1995年1月から2000年4月までに,山梨医科大学第1外科で内視鏡的に,あるいは外科的に切除された大腸腫瘍469症例のうち,腫瘍径が10mm以上のLST31症例(6.6%)31病変を対象とした。なお,組織学的に腫瘍全体に占める絨毛成分の比率が75%以上のLST症例は除外した。また,腫瘍の深達度は,粘膜下浸潤癌(submucosal invasive carcinoma:以下,sm)までとした。自験LST31例を工藤らの分類⁵⁾⁻⁸⁾に準じて3群に分類した。すなわち,顆粒均一型(Granular type-Homogeneous type:以下,G-H)11例,結節混在型(Granular type-Nodular mixed type:以下G-N)15例,非顆粒型(Non-Granular type:以下,NG)5例の3群である。これらのうち,内視鏡的切除は8例(G-H群:4例,G-N群:3例,NG群:1例),外科的切除は23例(G-H群:7例,G-N群:12例,NG群:4例)であった。

<2001年10月31日受理>別刷請求先:山田 治樹
〒409 3898 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東1110 山梨医科大学第1外科

対照として、同時期に切除された大腸腫瘍のうち、盲腸あるいは直腸に限局する散発性大腸腫瘍 (sporadic colorectal tumor: 以下, S-CRT) の 37 例を選択した。その理由は、自験 LST 31 例中 26 例が顆粒型であり、顆粒型は従来の報告^{3,4)}から、腫瘍の占居部位が主として盲腸と直腸であるためである。37 例の内訳は、腫瘍径が 10mm 以上で隆起型の散発性大腸腺腫 (sporadic adenoma: 以下, S-Ad) 19 例と術前未治療の散発性進行大腸癌 (sporadic cancer: 以下, S-Ca) の 18 例である。

MSI の解析は、LST 31 例について検討した。

方 法

1. 免疫組織染色法

10% ホルマリン固定でパラフィン包埋されたブロック材料から、4 μ m の連続薄切切片を作成した。58 $^{\circ}$ C、30 分間のインキュベート後、キシレンとエタノールで脱パラフィンし、親水化を行い、0.01M クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.0) 下にオートクレーブで加熱処理 (121 $^{\circ}$ C、15 分) し、抗原を不活化させた。3% hydrogen peroxide 水溶液にて 10 分間処理し、内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害した。リン酸緩衝液 (phosphate buffered saline: 以下 PBS と略記) にて洗浄後、室温下で 10% 正常ヤギ血清に 10 分間反応させ、非特異的結合を阻害した。1 次抗体として抗 mouse β -catenin monoclonal 抗体 (E-5, Santa Cruz, USA) 希釈倍率 100 倍ならびに抗 mouse p53 monoclonal 抗体 (DO-7, DAKO, Denmark) 希釈倍率 50 倍を薄切切片上にそれぞれ添加し、4 $^{\circ}$ C にて一夜反応させた。PBS で洗浄後、2 次抗体として抗 mouse histofine simple-stain MAX PO (M \times ニチレイ, 東京) を添加し、室温で 30 分間反応させた。3-3'-diaminobenzine-tetrahydrochloride (DAB) を基質として発色させ、ヘマトキシリンで対比染色後、脱水、透徹、封入を行った。

なお、腺腫の異型度はヘマトキシリン・エオジン染色の病理組織学的所見から、渡辺ら¹²⁾の分類に準じ、大腸癌取扱い規約第 6 版¹¹⁾による軽度異型腺腫ならびに中等度異型腺腫を軽度異型 (low-grade atypia: 以下, LGA) とし、高度異型腺腫を高度異型 (high-grade atypia: 以下, HGA) とした。いずれも腫瘍組織の粘膜部において、もっとも異型の強い部分をもってその異型度とした。また、腺腫あるいは腺腫部において、絨毛成分の比率が 25% 未満の場合を腺管腺腫、25~75% 未満の場合を腺管絨毛腺腫とした。なお、一部に癌組織を有する場合は腺腫成分の多寡に関わらず腺腫内

癌 (carcinoma in adenoma: 以下, CIA) とし、組織学的には癌として取り扱った。

2. MSI 解析

DNA マイクロサテライト領域における DNA replication error の検出は、既報の lino ほか¹³⁾の手法にしたがって行った。すなわち、5 μ m の薄切切片標本 2~3 枚から microdissection 法にて、正常粘膜組織ならびに腫瘍組織の双方から DNA を抽出した。PCR 法にて 6 か所のマイクロサテライト領域 (MYCL, D2S123, D5S346, BAT25, BAT26, BAT40) の MSI の有無を検討した。

3. 判定基準

a. 免疫組織染色の判定基準

β -カテニン蛋白の発現は、腫瘍腺管の細胞質の染色態度にかかわらず、細胞核が染色された場合のみ陽性とし、それ以外は陰性とした (Fig. 1a, b)。

p53 蛋白の発現は、腫瘍腺管の細胞核が 10% 以上染色された場合を過剰発現として陽性とした。それ以外は陰性とした (Fig. 2a, b)。なお、 β -カテニン、p53 蛋白の細胞核の染色態度の分布様式は、腫瘍細胞の 10% 未満のものを散在性、10~50% 未満のものを巣状、50% 以上のものをびまん性と定義した。

β -カテニン、p53 蛋白の発現の正常対照として、同一切片上の正常な大腸上皮の腺管 (全ての症例に、一部で正常腺管を認めた) を用い、陰性対照として、1 次抗体に加えて PBS を添加した。

b. MSI の判定基準

6 個のマーカーのうち MSI 陽性が 1 個あるいは 2 個のものを MSI-L (low)、3 個以上のものを MSI-H (high)、すべて陰性のものを MSS (microsatellite stable) と定義した。

統計学的解析は、数値は平均値 \pm 標準偏差 (Mean \pm SD) で表し、Student's test, Fisher's exact probability test, Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney U test を適宜選択し、危険率 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結 果

1. 臨床病理学的特徴

対象症例は男性 20 例、女性 11 例で、平均年齢は 64.0 \pm 10.3 歳 (38~83 歳) で、男性 65.8 \pm 8.5 歳 (50~77 歳)、女性 60.6 \pm 12.8 歳 (38~83 歳) であった。G-H 群、G-N 群および NG 群の 3 群間には年齢、性差に有意差は認めなかった。LST の占居部位は盲腸 7 例、上行結腸 1 例、横行結腸 2 例、下行結腸 3 例、S 状結腸 6 例、

Fig. 1 Immunohistochemical staining of β -catenin protein in resected colonic specimens from laterally spreading tumor (LST) patient. It was a strongly stained in cytoplasm and nuclear localization of β -catenin protein($\times 20$; a, $\times 100$; b)

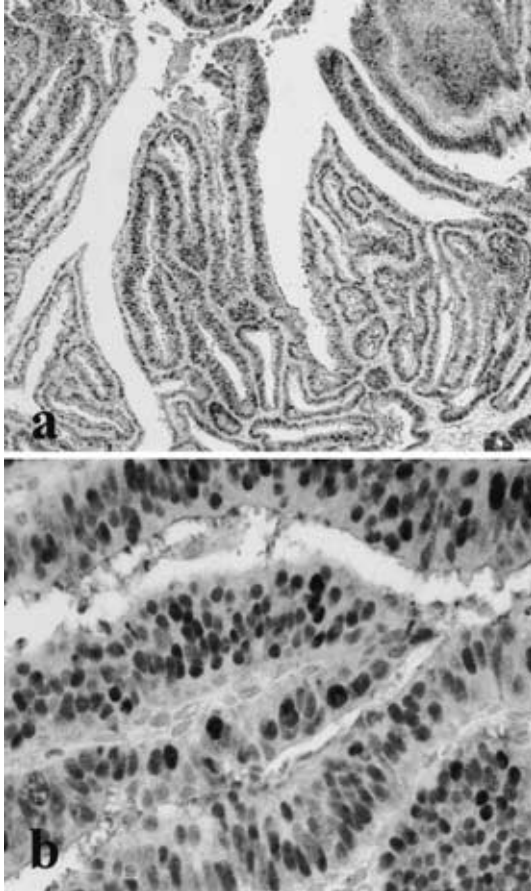
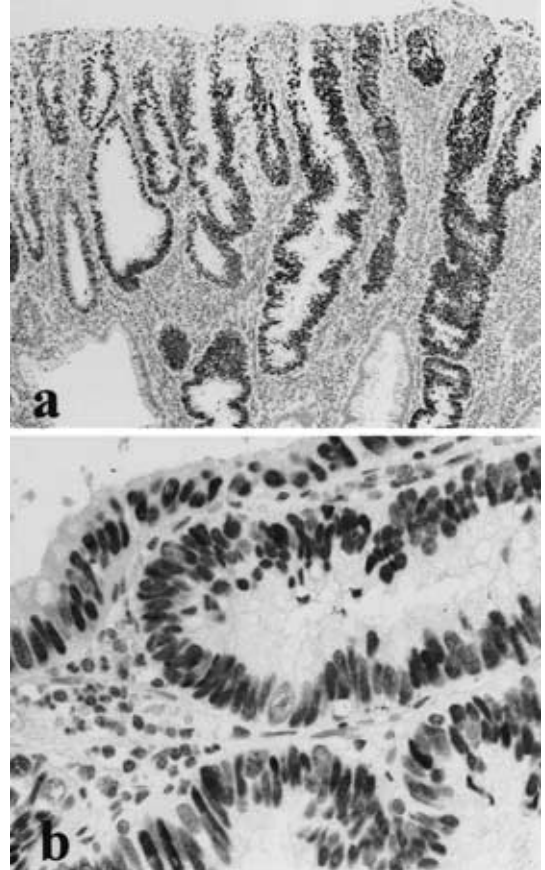


Fig. 2 Immunohistochemical staining of p53 protein in resected colonic specimens from laterally spreading tumor (LST) patient. It was a strongly diffuse stained in nuclear localization of p53 protein. ($\times 20$; a, $\times 100$; b)



直腸 12 例であり、G-N 群は G-H 群に比較し有意に直腸に多く ($p < 0.05$)、腫瘍径は平均 $26.1 \pm 11.5\text{mm}$ (12 ~ 62mm) であり、NG 群 $16.2 \pm 2.9\text{mm}$ (12 ~ 20mm) は、G-H 群 $27.1 \pm 9.8\text{mm}$ (12 ~ 48mm)、G-N 群 $28.6 \pm 13.1\text{mm}$ (13 ~ 62mm) に比較して有意に小さかった ($p < 0.05$)。病理組織学的に G-H 群は腺腫 10 例、CIA 1 例、G-N 群では腺腫 5 例、CIA 10 例、NG 群では CIA 3 例、sm2 例であった。癌あるいは癌部の組織型はすべて高分化腺癌であり、担癌率は全体で 51.6% (16/31) であった。このうち顆粒型の担癌率は 42.3% (11/26)、非顆粒型が 100.0% (5/5) で、顆粒型は非顆粒型に比べて有意に担癌率は低値であった ($p < 0.05$)。群別では、G-

N、NG 群は G-H 群と比べそれぞれ担癌率は有意に高値を示した ($p < 0.01$)。腺腫あるいは腺腫部における腺管腺腫ならびに腺管絨毛腺腫の比率は、腺管腺腫が 64.5% (20/31)、腺管絨毛腺腫が 35.5% (11/31) であった。このうち NG 群の腺腫部は全例腺管腺腫であり、G-N 群は NG 群と比較し有意に腺管絨毛腺腫の比率が高値であった ($p < 0.05$) (Table 1)。なお、G-N 群の粗大結節部は絨毛成分が主体であった。

腫瘍径と病理組織学的所見との関係を見ると、G-H 群では腫瘍径が大きくなるにしたがい腫瘍細胞の異型度が高くなる傾向にあったが、CIA は腫瘍径 40mm 以上の 1 例に認めただけであった。一方、G-N 群では

Table 1 Clinicopathological characteristics of colorectal laterally spreading tumors

	Total	G-H group	G-N group	NG group
Number of patients	31	11	15	5
Age(years \bar{x} mean \pm SD)	64.0 \pm 10.3	61.2 \pm 10.7	66.5 \pm 9.7	62.6 \pm 11.4
Sex(male/female)	20/11	8/3	8/7	4/1
Location				
C	7	4	3	0
A	1	0	0	1
T	2	1	1	0
D	3	2	1	0
S	6	3	1	2
R	12	1	9	2
Tumor size(mm \bar{x} mean \pm SD)	26.1 \pm 11.5	27.1 \pm 9.8	28.6 \pm 13.1	16.2 \pm 2.9
Histopathology				
LGA	9	7	2	0
HGA	6	3	3	0
CIA	14	1	10	3
sm	2	0	0	2
cancer(CIA + sm)	16	1	10	5
Adenoma architecture				
tubular	20	9	6	5
tubulo-villous	11	2	9	0

C : cecum, A ; ascending colon, T ; transverse colon, D : descending colon, S : sigmoid colon, R : rectum, G-H : granular type-homogeneous type, G-N : granular type-nodular mixed type, NG : non-granular type, LGA : low grade atypia, HGA : high grade atypia, CIA : carcinoma in adenoma, sm : submucosal invasive carcinoma, tubular : 25% < villous component, tubulo-villous : 25% villous component < 75%, * : p < 0.05, # : p < 0.01

66.7% と高率に CIA を認めたと、CIA はすべて 7mm 以上の粗大結節部に認められた。NG 群では全例癌細胞を内含しており、腫瘍径が 10 ~ 19mm の 4 例中 2 例 (50%) では粘膜下層に浸潤していた (Table 2)。

なお、LST に併存した他臓器癌は、同時性癌が 5 例 (胃癌 2 例、大腸癌 3 例)、異時性癌が 6 例 (胃癌 3 例、大腸癌 2 例、子宮癌 1 例) で、LST31 症例のうち G-H 群 6 例、G-N 群 3 例、NG 群 2 例の 11 症例 (35.8%) に他臓器に癌を認めた。

2. 発癌過程の解析

1) 免疫組織化学的検討

a) β -カテニン蛋白の発現

β -カテニン蛋白の陽性率は LST 全体で 83.9% (26/31) で、群別では G-H 群 81.8% (9/11)、G-N 群 80.0% (12/15)、NG 群 100.0% (5/5) であり、3 群間に有意差を認めなかった。組織学的には、LST 腺腫 (LST adenoma : 以下、LST-Ad) の陽性率は 80.0% (12/15)、

Table 2 Relationship between the size and grade of cellular atypisum in G-H, G-N, and NG of laterally spreading tumors of the colon and rectum.

	10 ~ 19	20 ~ 29	30 ~ 39	40 ~ (mm)
G-H(n = 11)				
G-N(n = 16)				
NG(n = 5)				

: low grade atypia, : high grade atypia, : carcinoma in adenoma, : submucosal invasive carcinoma, G-H : granular type, homogeneous type, G-N : granular type, nodular mixed type, NG : non-granular type, n : number

LST 癌 (LST carcinoma : 以下、LST-Ca) の陽性率は、87.5% (14/16) であり、腫瘍と癌の併存の頻度のうえで、両者間に有意差を認めなかった。一方、対照とした S-Ad の陽性率は 79.0% (15/19)、S-Ca の陽性率は 88.9% (16/18) であり、LST と同様に両者間に有意差

を認めなかった。また、腺腫の異型度別分類によるLGAとHGAとの間にも、β-カテニン蛋白の発現に差を認めなかった(Table 3a, b)。なお、LSTのβ-カテニン蛋白の細胞核の染色態度は、G-H, G-N群は共に異型性の弱い腺管には散在性の陽性態度を示し、異型性の強い腺管には巣状の陽性態度を示した。しかし、NG群では癌部のみならず腫瘍全体がびまん性に染色された。一方、腫瘍腺管の細胞質の染色態度は、細胞核が陽性の腫瘍は全例で細胞質も茶褐色に染色されたが、細胞質が不染の細胞核はすべて陰性であった。また、正常腺管の細胞質は種々の程度に染色されたが、細胞核が染色された症例は認めなかった。

b) p53 蛋白の過剰発現

p53 蛋白の陽性率はLST全体で51.6%(16/31)で、群別ではG-H群18.2%(2/11), G-N群66.7%(10/15), NG群80.0%(4/5)であり、G-N群ならびにNG群が、G-H群に比較し有意にp-53蛋白の陽性率が高かった(p<0.05)。組織学的にはLST-Adの陽性率は26.7%(4/15), LST-Caの陽性率は75.0%(12/16)であり、LST-CaはLST-Adに比べ有意にp53蛋白の陽性率が高く(p<0.05), また、LST-AdのHGAは66.7%(4/6), LGAは0.0%(0/9)で、HGAはLGA比べ有意に陽性率は高かった(p<0.05)。一方、対照群のS-CRT

におけるp53蛋白の陽性率は、S-Adは31.6%(6/19), S-Caは72.2%(13/18)で、S-CaはS-Adに比べp53蛋白の陽性率は有意に高く(p<0.05), また、S-AdのHGAは62.5%(5/8), LGAは9.1%(1/11)で、HGAはLGAより有意に陽性率が高値を示した(p<0.05)(Table 4a, b)。なお、LSTのp53蛋白の染色態度は、β-カテニン蛋白のそれと同様G-H, G-N群は共に異型性の弱い腺管には散在性の陽性態度を示し、異型性の強い腺管には巣状の陽性態度を示したが、NG群では癌部のみならず腫瘍全体がびまん性に染色された。また、正常腺管ではLST, S-CRTとも陽性像は観察できなかった。

LST-AdならびにS-Adにおけるβ-カテニン蛋白とp53蛋白の陽性率を比べると、共にβ-カテニン蛋白の陽性率が有意に高かった(LST-Ad; p<0.05, S-Ad; p<0.01)。同様に、LST-CaならびにS-Caの場合は、共に有意差を認めなかった。

2) MSIの検討

LST31例中、MSSは30例でMSI-Lは1例でのみあった。この1例はG-N群で、腫瘍径62mmのCIAであり、マイクロサテライトマーカーはBAT40であった(Fig. 3)。

Table 3 Expression of β-catenin protein in LST and sporadic tumors of the colon and rectum

a. Morphological classification of LST(%)

Expression of β-catenin	LST			S-CRT	
	G-H (n=11)	G-N (n=15)	NG (n=5)	S-Ad (n=19)	S-Ca (n=18)
(+)	9(81.8)	12(80.0)	5(100.0)	15(79.0)	16(88.9)
(-)	2(18.2)	3(20.0)	0(0.0)	4(21.0)	2(11.1)

LST : laterally spreading tumor, S-CRT : sporadic colorectal tumor, G-H : granular type, homogeneous type, G-N : granular type, nodular mixed type, NG : non-granular type, S-Ad : sporadic colorectal adenoma, S-Ca : sporadic advanced colorectal cancer, (+) : positive, (-) : negative, n : number

b. Histological classification of LST(%)

Expression of β-catenin	LST			S-CRT		
	LGA (n=9)	HGA (n=6)	CA (n=16)	LGA (n=11)	HGA (n=8)	Ca (n=18)
(+)	7(77.8)	5(83.3)	14(87.5)	9(81.8)	6(75.0)	16(88.9)
(-)	2(22.2)	1(16.7)	2(12.5)	2(18.2)	2(25.0)	2(11.1)

LST : laterally spreading tumor, S-CRT : sporadic colorectal tumor, LGA : low grade atypia, HGA : high grade atypia, CA : carcinoma in adenoma + submucosal invasive carcinoma, Ca : sporadic advanced colorectal cancer, (+) : positive, (-) : negative, n : number

Table 4 Overexpression of p53 protein in LST and sporadic tumors of the colon and rectum

a. Morphological classification of LST(%)

Overexpression of p53	LST			S-CRT	
	G-H (n=11)	G-N (n=15)	NG (n=5)	S-Ad (n=19)	S-Ca (n=18)
(+)	2 (18.2)	10 (66.7)	4 (80.0)	6 (31.6)	13 (72.2)
(-)	9 (81.8)	5 (33.3)	1 (20.0)	13 (68.4)	5 (27.8)

LST : laterally spreading tumor, S-CRT : sporadic colorectal tumor, G-H : granular type, homogeneous type, G-N : granular type, nodular mixed type, NG : non-granular type, S-Ad : sporadic colorectal adenoma, S-Ca : sporadic advanced colorectal cancer, (+) : positive, (-) : negative, n : number, * : p<0.05

b. Histological classification of LST(%)

Overexpression of p53	LST			S-CRT		
	LGA (n=9)	HGA (n=6)	CA (n=16)	LGA (n=11)	HGA (n=8)	Ca (n=18)
(+)	0 (0.0)	4 (66.7)	12 (75.0)	1 (9.1)	5 (62.5)	13 (72.2)
(-)	9 (100.0)	2 (33.3)	4 (25.0)	10 (90.9)	3 (37.5)	5 (27.8)

LST : laterally spreading tumor, S-CRT : sporadic colorectal tumor, LGA : low grade atypia, HGA : high grade atypia, CA : carcinoma in adenoma + submucosal invasive carcinoma, Ca : sporadic advanced colorectal cancer, (+) : positive, (-) : negative, n : number, * : p<0.05, # : p<0.01

Fig. 3 Analysis of microsatellite instability (MSI).

In studies on MSI, there was no MSI-High case. Only this case was seen bandshifts at the locus BAT40.(N : normal, Ad : adenoma, Ca : carcinoma)



考 察

まず LST の臨床病理学的特徴に関しては、平均年齢は 60 歳代¹⁴⁾⁻¹⁶⁾で、性比は顆粒型と非顆粒型とでは有意差を認めなかったとする報告⁹⁾⁴⁾⁵⁾と、非顆粒型で男性が有意に多いとする報告¹⁶⁾がある。自験例の解析では、顆粒型ならびに非顆粒型とも、年齢は 60 歳代で性差を認めなかった。腫瘍占居部位は、顆粒型では盲腸ならびに直腸で頻度が高く⁵⁾⁹⁾⁴⁾⁻¹⁶⁾、非顆粒型では大腸全体に比較的均一に認めたとする報告⁹⁾⁴⁾がある。自験例の解析では、顆粒型の 65.4% は盲腸あるいは直腸に認められ、そのうち G-N 群は G-H 群に比べて直腸に有意に多く認められた。一方、NG 群では自験例の症例数が少なく、一定の傾向は認めなかった。

LST では一般に、腫瘍径が増大すると共に担癌率が高くなるとされている⁷⁾⁸⁾⁹⁾⁴⁾⁻¹⁷⁾が、自験例では、腫瘍径は顆粒型が非顆粒型に比べ有意に大きいにもかかわらず、担癌率では顆粒型が 42.3%、非顆粒型は 100.0% であり、前者は後者に比べて有意に担癌率は低値であった。すなわち腫瘍径からみて、顆粒型と非顆粒型の差は、担癌率に影響するものと考えられた。顆粒型のなかでも G-H 群では、腫瘍径が大きくても癌の深達度は粘膜内に留まっていた。また G-N 群では、腫瘍の表面

性状の構造破壊(工藤らの pit pattern 分類⁵⁾⁻⁸⁾の V 型)や陥凹部が認められる症例や粗大結節の径が 11 mm 以上の腫瘍では癌の粘膜下浸潤が高頻度⁹⁾¹⁶⁾となる。しかし、これらの所見が認められなければ腫瘍径が大きくても G-H 群と同様、深達度は粘膜内に留まるものと考えられた。一方、NG 群では、腫瘍径が 20mm 以上では癌の併存率が高く、かつ粘膜下浸潤の頻度が高くなるといわれている⁵⁾⁻⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁶⁾。この傾向はとくに、工藤らの非顆粒型を亜分類した pseudo-depressed type (腫瘍の表面性状が、局面をもたない不明瞭な陥凹を有する LST)で顕著である(sm が 42.9%)と言われている⁷⁾⁸⁾¹⁰⁾¹⁶⁾。自験例でも、NG 群は腫瘍径が 20mm 以下で全例が癌成分を含んでおり、2 例の sm は共に pseudo-depressed type に相当する病変であった。

したがって、自験 LST 31 例の臨床病理学的特徴は; 1) 顆粒型、非顆粒型とも年齢は 60 歳代で、性差は認めなかった、2) 腫瘍占居部位は、顆粒型では盲腸あるいは直腸に多く認められた、3) 腫瘍径は、顆粒型が非顆粒型に比べ大きかった、4) 担癌率は、顆粒型が非顆粒型に比べ低かった、5) G-N 群の腺腫構築は、腺管絨毛腺腫の比率が高く、一方、NG 群では全例腺管腺腫であった、と結論できた。

次に、LST の腫瘍化ならびに発癌過程に関して考察する。一般に正常細胞では、 β -カテニン蛋白は細胞膜に発現しているのに対し、腫瘍細胞では細胞核に発現が見られるようになり、大腸腫瘍で β -カテニン蛋白の蓄積が、細胞膜から細胞質ならびに細胞核へと移行すると説明されている¹⁸⁾。そこで本研究では、 β -カテニン蛋白の蓄積が細胞核に見られた場合のみ、 β -カテニン蛋白の異常蓄積とした。今回の検討では、LST ならびに S-CRT 共に、病理組織学的な悪性度あるいは腺腫の異型度にかかわらず、高頻度に β -カテニン蛋白の細胞核への蓄積を認めた。Nakamura¹⁹⁾は、不要な β -カテニン蛋白の蓄積が大腸腺腫の発生に関与すると報告している。 β -カテニンそのものの遺伝子異常も否定できないが、LST の腫瘍化の要因の 1 つに β -カテニン蛋白の強い関与が考えられた。

p53 遺伝子²⁰⁾は、adenoma-carcinoma sequence (以下、ACS) のモデルにおいては、大腸腺腫後期からの癌化の過程に関与²¹⁾²²⁾していると考えられており、免疫組織染色による p53 蛋白の発現は、p53 遺伝子変異を反映することが知られている²³⁾。本研究における LST の p53 蛋白の過剰発現が、S-CRT と同様に、組織学的に腫瘍の異型度が増すに従いその発現率が有意に

高くなっているという結果は、LST では腺腫から癌への発育・進展に p53 遺伝子が関与していることを示す。さらに、LST と S-CRT においては β -カテニンならびに p53 蛋白の過剰発現が、癌の場合には、その発現に有意差を認めなかった。しかし、腺腫の場合には β -カテニン蛋白の発現頻度が p53 蛋白のそれに比べて有意に高かった。この結果より、LST でも β -カテニン蛋白の発現は p53 蛋白の発現に先行することを示す。ACS のモデル²¹⁾²²⁾で、腺腫の異型性の亢進ならびにその発育に関与すると考えられている K-ras 遺伝子については今回検討していないが、一般に顆粒型における K-ras 遺伝子の変異率は 50 ~ 60%¹⁶⁾²⁴⁾であるが、非顆粒型ではその変異を認めないと報告されている¹⁶⁾。今後、LST の発癌過程における K-ras 遺伝子変異についても検討する必要がある。

Allen²⁵⁾によれば大腸癌の発癌過程においては、以下の 2 種類の遺伝子変異によって癌化に至ることが報告されている。すなわち、前述の ACS のモデル²¹⁾²²⁾に準じた種々の癌抑制遺伝子のヘテロ接合性の消失 (loss of heterozygosity: 以下、LOH) を主体とした遺伝子変異による LOH 型と、遺伝性非ポリポーシス大腸癌²⁶⁾の原因遺伝子として同定されたミスマッチ修復遺伝子 (hMSH2 hMLH1 hPMS1 hPMS2 など) の不活化により、DNA の複製エラー (replication error: 以下、RER) が癌関連遺伝子の変異を引き起こす²⁷⁾⁻³⁰⁾とされる RER 型の 2 つに大別される。一般の散発性大腸腺腫の MSI (RER) の頻度は 0.0 ~ 1.8%³¹⁾³²⁾と低い、遺伝性非ポリポーシスでは小さな大腸腺腫の段階で、高率に MSI が確認されている³³⁾。また、非家族性大腸癌の MSI の頻度は 10 ~ 20% とされ³⁴⁾、とくに大腸多発癌や他臓器重複癌症例において、MSI の頻度は有意に高いと報告されている³⁵⁾³⁶⁾。一方、LST のうち、とくに顆粒型 (従来の結節集簇様病変など) は多発癌、他臓器癌などの背景因子を認めることがあると報告⁴⁾されており、自験例でも LST 全体で 35.5% (顆粒型では 38.5%) にこの背景因子を認めた。すなわち、LST の発癌過程に MSI が関与している可能性が考えられた。しかし LST のうち G-N 群の 1 例にのみ MSI-L を認めたに過ぎず、LST の発癌過程において MSI の関与は重要でないと考えられ、このことより LST は主に LOH 型の発癌過程をたどると考えられた。

以上より、G-H 群 11 例、G-N 群 15 例、NG 群 5 例の自験 LST 31 例の臨床病理学的特徴とその発癌過程の解析から; 1) 顆粒型は、粗大結節の有無とその結節径

が臨床上重要であり、結節径は癌の併存の有無ならびに深達度に関与した。すなわち顆粒型のうち G-N 群は、粗大結節部に癌細胞を多く認めため、G-H 群に比較し担癌率が高かったが、共に腫瘍径が大きくても CIA までの病変であり、臨床病理学的にも共通の特徴を有した。さらに、免疫組織学的に β -カテニン、p53 蛋白の染色態度は、共にいずれも同様な染色態度であったことから、G-H 群と G-N 群は生物学的に同じカテゴリーに属すると考えられた。2) 一方、NG 群は G-H、G-N 群と異なり、腫瘍径が 20mm 以下の比較的小さな段階で癌化し、とくに pseudo-depressed type では、癌の粘膜下浸潤の頻度が高い腫瘍群であった。さらに β -カテニン、p53 蛋白の染色態度が、癌部のみならず腫瘍全体にびまん性に染色されたことから、NG 群は G-H、G-N 群と異なった、より悪性度の高い生物学的特性を有すると考えられた。3) 顆粒型、非顆粒型は共に、組織発生に β -カテニン蛋白の強い関与が考えられ、また MSI の関与は否定的で、主に LOH 型の発癌過程をたどると考えられた。しかし、G-N 群に癌細胞が併存した腺腫部は、主に腺管絨毛腺腫であったのに対して、NG 群の腺腫部は全例腺管腺腫であり、さらに K-ras 遺伝子の変異率は、顆粒型は高値で非顆粒型はその変異を認めなかった^{16,24)}との報告からも、両者は LOH 型の発癌過程のなかでも異なった過程をたどるものと考えられた、と結論できた。

したがって、LST のうち G-H、G-N 群は 1 つの疾患と考えられたが、NG 群は異なる疾患と考えられた。よって、LST をその表面性状から顆粒型と非顆粒型に大別することで、その腫瘍の持つ生物学的特性を推測することができると考えられ、このことより、LST は、大腸上皮性腫瘍のなかの 1 つの疾患概念をもつ腫瘍群として取り扱うことは、不適切であることが示唆された。

文 献

- 1) 門馬久美子, 田島 強, 岡部 聡ほか: 4 年間経過観察した直腸の IIa 集簇様病変. 胃と腸 24: 197-202, 1989
- 2) 石川 勉, 牛尾恭輔, 笹川道三ほか: 顆粒集簇を主体とした大腸隆起性病変の 4 例 X 線像による経過を中心に. 胃と腸 21: 1373-1380, 1986
- 3) Rubesin SE, Saul SH, Laufer et al: Carpet lesions of the colon. Radiographic 5: 537-552, 1985
- 4) 石川 勉, 牛尾恭輔, 宮川国久ほか: “結節集簇様大腸病変”の画像診断とその経過. 胃と腸 27: 389-398, 1992
- 5) 工藤進英: 早期大腸癌 平坦・陥凹型へのアプローチ. 工藤進英編. 医学書院, 東京, 1993, p42-44
- 6) 工藤進英, 田村 智, 中嶋孝司ほか: 早期大腸癌の内視鏡診断 新しい概念; LST を含んで. 消外 18: 719-729, 1995
- 7) 工藤進英: 側方発育型腫瘍 (laterally spreading tumor; LST) について. 早期大腸癌 2: 477-481, 1998
- 8) 石川恵子, 工藤進英, 山野泰穂ほか: IIc と LST 非顆粒型の相違点と類似点 陥凹性状の成り立ちを考える. 早期大腸癌 4: 335-342, 2000
- 9) 田中信治, 春間 賢, 谷本達郎ほか: LST の臨床的意義 「Laterally spreading tumor (LST)」の臨床的意義と問題点. 早期大腸癌 2: 495-504, 1998
- 10) 寺井 毅, 阿部哲史, 坂本直人ほか: IIc と LST 非顆粒型の相違点と類似点 盆状陥凹型の LST 非顆粒型に注目して. 早期大腸癌 4: 325-333, 2000
- 11) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 第 6 版. 金原出版, 東京, 1998
- 12) 渡辺英伸, 味岡洋一: 大腸良悪性境界病変の病理. 病理と癌 6: 1280-1292, 1988
- 13) Iino H, Jass JR, Simms LA et al: DNA microsatellite instability in hyperplastic polyps, serrated adenomas, and mixed polyps: a mild mutator pathway for colorectal cancer? J Clin Pathol 52: 5-9, 1999
- 14) 田上洋一, 多田修治, 藤本貴久ほか: 側方進展型大腸腫瘍 (lateral spreading tumor) の内視鏡所見と病理組織所見 結節型と非結節型の比較. Gastroenterol Endosc 37: 2161-2166, 1996
- 15) 岡本傳男, 田中信治, 春間 賢ほか: 側方発育型大腸腫瘍 (laterally spreading tumor, LST) の臨床病理学的検討. 日消病会誌 93: 83-89, 1996
- 16) 藤井隆広, 倉橋利徳, 加藤茂治ほか: LST の臨床的意義 他の肉眼型との比較から. 早期大腸癌 2: 483-494, 1998
- 17) 有木寿史: 大腸側方発育型腫瘍における免疫組織化学的検討. 東邦医会誌 45: 61-71, 1998
- 18) Takayama T, Shiozaki H, Doki Y et al: Aberrant expression and phosphorylation of β -catenin in human colorectal cancer. Br J Cancer 77: 605-613, 1998
- 19) Nakamura Y: Cleaning up on β -catenin. Nat Med 3: 499-500, 1999
- 20) Lane DP, Crawford LV: T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 278: 261-263, 1979
- 21) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR et al: Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med 319: 525-532, 1988
- 22) Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for

- colorectal tumorigenesis. *Cell* 61 : 759-767, 1990
- 23) Navone NM, Troncoas P, Pisters LL et al : p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 85 : 1657-1669, 1993
- 24) Kusaka T, Fukui H, Sano Y et al : Analysis of K-ras codon 12 mutations and p53 overexpression in colorectal nodule-aggregating tumors. *J Gastroenterol Hepatol* 15 : 1151-1157, 2000
- 25) Allen JI : Molecular biology of colorectal cancer : A clinicians view. *Perspect Colon Rectal Surg* 8 : 181-202, 1995
- 26) Lynch HT, Smyrk TC, Watson P et al : Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer : an updated review. *Gastroenterology* 104 : 1535-1549, 1993
- 27) Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS et al : Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 260 : 812-816, 1993
- 28) Thibodeau SN, Bren G, Schaid D : Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 260 : 816-819, 1993
- 29) Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N et al : Mutation of mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 75 : 1215-1225, 1993
- 30) Fishel R, Lescoe MK, Rao MR et al : The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 75 : 1027-1038, 1993
- 31) Young J, Leggett B, Gustafson C et al : Genomic instability occurs in colorectal carcinomas but not in adenomas. *Hum Mutat* 2 : 351-354, 1993
- 32) Samowitz WS, Slattery ML : Transforming growth factor-beta receptor type 2 mutations and microsatellite instability in sporadic colorectal adenomas and carcinomas. *Am J Pathol* 151 : 33-35, 1997
- 33) Iino H, Simms L, Young J et al : DNA microsatellite instability and mismatch repair protein loss in adenomas presenting in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gut* 47 : 37-42, 2000
- 34) Senba S, Konishi F, Okamoto T et al : Clinicopathologic and genetic features of nonfamilial colorectal carcinomas with DNA replication errors. *Cancer* 82 : 279-285, 1998
- 35) Sengupta SB, Yiu CY, Boulos PB et al : Genetic instability in patients with metachronous colorectal cancers. *Br J Surg* 84 : 996-1000, 1997
- 36) Horii A, Han HJ, Shimada M et al : Frequent replication errors at microsatellite loci in tumors of patients with multiple primary cancers. *Cancer Res* 54 : 3373-3375, 1994

Clinical Pathophysiological Characteristics and Immunohistochemistry of β -catenin Protein and p53 Protein, and Analysis on Microsatellite Instability in Colorectal Laterally Spreading Tumors

Haruki Yamada¹, Hiroshi Iino¹, Hideki Fujii¹, Hideo Eguchi²,

Hiromasa Hasegawa³ and Yoshiro Matsumoto¹

¹First Department of Surgery, Yamanashi Medical University

²Department of Surgery, Municipal Uenohara Hospital

³Department of Oral Pathology, Matsumoto Dental University

Aims : We studied clinical pathophysiological characteristics and the tumorigenic and carcinogenic process from immunohistochemistry of β -catenin protein and p53 protein and microsatellite instability (MSI) analysis in 31 lesions in 31 patients of laterally spreading tumor (LST) of the large intestine. Results : LSTs were divided into three groups, of which Granular-Homogenous (G-H), Granular-Nodular mixed (G-N) and Non Granular (NG). The rate of involving cancer was significantly higher in group G-N and NG than in group G-H, particularly in group NG, in which all tumors with a diameter of less than 20 mm were cancerous. The incidence of p53 protein increased as heteromorphism advanced. The incidence of β -catenin protein was high in the nucleus and cytoplasm regardless of heteromorphism. We saw no MSI-H (high) case. Conclusions : 1) group NG was high in biological malignancy. 2) β -catenin protein played a role in LST tumorigenesis. 3) The carcinogenic process was principally LOH. 4) LST was not one distinct concept-disease.

Key words : colorectal laterally spreading tumor, β -catenin protein, p53 protein, microsatellite instability

(*Jpn J Gastroenterol Surg* 35 : 135-143, 2002)

Reprint requests : Haruki Yamada First Department of Surgery, Yamanashi Medical University
1110 Shimokato, Tamaho-cho, Nakakoma-gun, Yamanashi, 409-3898 JAPAN