

Thesis

膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) の病理組織学的・免疫組織化学的研究
—とくにその組織亜型分類について—

埼玉医科大学 国際医療センター 病理診断科

坂戸中央病院外科

内藤 善久

Histopathological and Immunohistochemical Study of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm of the Pancreas with Special Reference to Its Histologic Subtypes

Yoshihisa Naitoh (Department of Pathology, Saitama Medical University International Medical Center, Hidaka, Saitama 350-1298, and Department of Surgery, Sakado-chuuou Hospital, Sakado, Saitama 350-0233, Japan)

【Background and Aims】 Intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) is one of major cystic neoplasms of the pancreas, uniquely developing in the ductal system. IPMNs have been classified into some subtypes according to their histology and mucin phenotypes. However, the pathologic features of IPMNs in terms of their histologic subtypes have not been fully investigated. The aims of this study were: 1) to reevaluate the histologic subtypes and mucin profiles of IPMNs, 2) to clarify the pathologic features of IPMNs with regard to their histologic subtypes, and 3) to investigate differential expression of some tumor-related factors among the histologic subtypes of IPMNs. 【Design】 91 cases of surgically resected IPMNs of the pancreas were subjected to examination. Formalin-fixed and paraffin-embedded sections of each lesion were cut for hematoxylin and eosin staining (HE) and immunohistochemistry. Pathologic features of each lesion were evaluated on HE slides. Immunohistochemistry for representative sections of each lesion were performed for mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6), c-erbB-2, COX-2, and cyclin D1, using ENVISION system, and the results were evaluated semiquantitatively. 【Results】 The IPMNs were classified into the following histologic subtypes: (1) 50 cases of Gastric type (showing some resemblance to gastric foveolar epithelium), (2) 30 cases of Intestinal type (showing a colorectal villous tumor-like appearance), (3) 4 cases of Gastric+Intestinal type (coexistence of Gastric type area and Intestinal type area), and (4) 7 cases of Oncocytic type (arborizing nodular growth of oncocytic epithelium). The mucin phenotype of Gastric type was mostly MUC5AC+/MUC2-, whereas that of Intestinal type was MUC5AC+/MUC2+. Furthermore, histopathologic features were different in many respects between Gastric type and Intestinal type. However, an obvious difference was not determined with respect to the expression of c-erbB-2, COX-2, or cyclin D1. Oncocytic type showed a distinctive mucin phenotype, i.e. MUC1+ and MUC6+ in addition to MUC5AC+. IPMN-derived invasive carcinoma was observed in 7 out of 30 Intestinal type IPMNs (23%) and one out of 50 Gastric type IPMNs (2%). The histologic type of IPMN-derived invasive carcinoma included mucinous carcinoma and conventional type invasive ductal carcinoma. In Intestinal type IPMN-derived invasive carcinoma, MUC2 expression was preserved in mucinous carcinoma in contrast to the conventional type invasive ductal carcinoma. 【Conclusions】 IPMNs of the pancreas are classified into several histologic subtypes. The major subtypes are Intestinal type and Gastric type, which show distinctive pathologic features, possibly reflecting different biological behaviors. With regard to IPMN-derived invasive carcinoma, mucinous carcinoma seems to be unique as Intestinal type IPMN-derived invasive carcinoma. Oncocytic type represents a distinctive feature, whereas it is possible that it is related to Gastric type. Histologic subtypes should be considered in the diagnosis and clinical management of IPMNs of the pancreas.

Keywords: pancreas, intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN), histologic type, mucin, immunohistochemistry

緒 言

画像診断の進歩と共に、膵嚢胞性疾患の発見される機会が多くなっている¹⁾。膵嚢胞性疾患には腫瘍性および非腫瘍性の多彩な病変が含まれるが、腫瘍性病変のなかで比較的頻度の高いもののひとつが膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm: IPMN) であり²⁾、その切除件数が近年増加傾向にあるとの報告もみられる³⁾。IPMNは最初、膵管の拡張を伴い、十二指腸乳頭から粘液の排出がみられる特異な所見を呈する膵癌 (粘液産生膵癌) として報告された^{4,5)}。一時、粘液性嚢胞腫瘍 (mucinous cystic neoplasm: MCN) との間で疾患概念の混乱をみた時期もあったが^{6,7)}、その後MCNと区別され、種々の程度の粘液産生を伴いながら拡張した膵管内を進展する特異な腫瘍として、その疾患概念が確立されてきた⁸⁻¹⁰⁾。IPMNは通常の浸潤性膵管癌よりも全体として予後がよいとされる一方、IPMNに由来する浸潤癌も認められることが明らかにされ⁸⁻¹⁰⁾、臨床的に注目されている。

IPMNには多彩な異型度の病変が含まれるが⁸⁻¹⁰⁾、一方、腫瘍上皮の組織学的な形態およびその粘液形質の発現をもとにいくつかの亜型に分類されることが報告されてきた¹¹⁻¹⁷⁾。現時点では必ずしも標準的な分類にはいたっていないが、これまでの報告を総合すると、Intestinal type (villous type), Gastric type (null type), Pancreatobiliary type, Oncocytic typeなどといった亜型を挙げるができる。しかし、上皮の組織学的な亜型分類を考慮したIPMNの病理学的検討はこれまで十分になされていないと思われる。

IPMNの分子生物学的異常に関してはこれまで、浸潤性膵管癌との関連がいられているK-ras, p16, DPC4/Smad4, p53といった遺伝子の変化が検討されてきた¹⁸⁻²⁵⁾。いずれも高異型度病変で高頻度の変化を認め、K-rasの変異以外は低異型度病変における変化の頻度は低い傾向にある。一方、IPMNにおけるその他の分子生物学的異常としては、proto-oncogeneのひとつであるc-erbB-2, cell cycle関連因子のひとつであるcyclin D1, 発癌に関与するとされているプロスタグランジン合成酵素であるcyclooxygenase-2 (COX-2) の発現も報告されているが、これらは低異型度のIPMNにおいても比較的高い頻度でみられるとの報告が認められる^{18,21,22,26-30)}。しかし、いずれの因子に関しても、上記のような亜分類を意識した検討はこれまでなされていない。

本研究においては、IPMNの組織学的亜分類について再検討し、亜分類それぞれの病理学的特徴について検討するとともに、低異型度IPMN病変にも比較的高い頻度で異常がみられると報告されているc-erbB-2, cyclin D1, COX-2の発現を免疫組織化学的

に検索し、その点からも亜分類間の違いについて検討を行った。

対象と方法

1. 対象病変

1993年～2003年の期間に4施設 (埼玉医科大学, Massachusetts General Hospital, 藤田保健衛生大学, 京都大学) で病理組織学的にIPMNと診断された外科切除例91症例, 91病変を対象とした。症例の年齢は平均65.7歳 (37～85歳) で、男性55例, 女性36例 (男女比1.5:1) であった。IPMNであるとの病理診断は、WHO分類および最近のコンセンサス報告に基づいて行った^{10,31,32)}。以下の研究の遂行にあたり、症例はすべて匿名化して扱った。

2. 組織学的検討方法

各病変の代表部位のホルマリン固定、パラフィン包埋ブロックから薄切切片を作成し、hematoxylin eosin 染色 (HE) および免疫組織化学染色を行った。病変の異型度 (grade) は、WHO分類に基づき¹⁰⁾、benign, borderline, noninvasive carcinoma, invasive carcinomaに分類した。invasive carcinomaは、非浸潤性のIPMN病変に由来すると形態的に判断できるもの (IPMN由来浸潤癌) を意味する。91病変すべてに対して、MUC1 (膜結合型), MUC2 (腸型), MUC5AC (胃腺窩上皮型), MUC6 (胃幽門腺型) の各ムチンに対するモノクローナル抗体を用いて免疫染色を行い、粘液形質を検討した。また、32病変に対してはc-erbB-2, cyclin D1, COX-2に関しても同様に免疫染色を行い、その発現を検討した。なお、IPMN由来浸潤癌を伴う症例に関しては、浸潤部の検討以外では基本的に非浸潤部を検討対象とした。また、後述のごとく、間質中の、腫瘍上皮を伴わない小粘液塊の存在は、invasive carcinomaとはしなかった。

3. 免疫組織化学染色の方法と染色結果の評価法

1) 使用一次抗体

染色対象および、それぞれに対して使用した一次抗体のクローン (ロット), 使用希釈倍率, 供給元をTable 1に示した。

2) 抗原賦活・免疫染色の方法

各病変のホルマリン固定パラフィン包埋切片を脱パラフィン後、0.3%過酸化水素加メタノールによる

Table 1. Antibodies used for immunohistochemistry in this study

	Monoclonal/polyclonal	Clone/lot	Dilution	Source
MUC1	monoclonal	Ma695	1:100	Novocastra*
MUC2	monoclonal	Ccp58	1:100	Novocastra*
MUC5AC	monoclonal	CLH2	1:50	Novocastra*
MUC6	monoclonal	CLH5	1:50	Novocastra*
COX-2	polyclonal	0D-316	1:25	IBL**
c-erbB-2	monoclonal	5A2	1:50	Novocastra*
cyclin D1	monoclonal	P2D11F11	1:50	Novocastra*

* Novocastra Laboratories, Newcastle upon Tyne, UK

** Immuno-Biological Laboratories Co. Ltd, Takasaki, Japan

内因性ペルオキシダーゼのブロッキングを室温で30分間施行した。0.01 M クエン酸緩衝液 (pH6.0) 中で121℃, 5分間のオートクレーブ処理を行い, 抗原性を賦活化した。5% 正常ブタ血清 (Dako, Glostrup, Denmark) 加 TNT Wash Buffer (0.1 M Tris-HCl pH7.5, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween20) で一次抗体を希釈し, 非特異反応をブロッキングしながら, 一次抗体と組織切片とを室温で90分間反応させた。目的の抗原と結合した一次抗体の検出は, ペルオキシダーゼを結合したデキストランポリマー付加二次抗体試薬 (ENVISION/HRP: Dako, Glostrup, Denmark) と室温で1時間反応させた後, 0.02% 過酸化水素加 0.02% ジアニルベンジンに3分間反応させ発色することによって行った。背景の染色はヘマトキシリンによって行った。

3) 染色結果の評価

MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6およびCOX-2, c-erbB-2に関しては, Shimizuらの報告に基づき³³⁾, 染色範囲を4段階 (none = 0, focal = 1, multifocal = 2, diffuse = 3), 染色強度を3段階 (none = 0, mild = 1, strong = 2) で評価・スコア化し, 両者の合計を, それぞれの免疫染色スコア (0 ~ 5) とした。また, cyclin D1に関しては染色強度に差がみられなかったため, 染色範囲を4段階 (none = 0, focal = 1, multifocal = 2, diffuse = 3) で評価・スコア化し, 免疫染色スコアとした。

4. 統計的検討

統計的検定にはMann-Whitney's U test, 2×2分割表に対するFisher's exact probability testを用い, 有意水準を $p < 0.05$ あるいは $p < 0.01$ とした。

結 果

1. IPMNの組織学的亜分類

検討対象としたIPMNは, IPMN上皮の組織所見に関するこれまでの報告を考慮した上で¹¹⁻¹⁷⁾, HE染色標本の組織像に基づいて以下の4群に亜分類されたと考えられた:

- (1) Gastric type: 淡明あるいは淡好酸性の細胞質を有する円柱状~立方状細胞からなり, 核は類円形~卵円形で基底部に位置し, 偽重層化の所見はみられないか軽度で胃の腺窩上皮に類似している。平坦, 低乳頭状および乳頭状の増殖を呈する (Fig. 1a)。
- (2) Intestinal type: 暗調な好酸性もしくは淡明な細胞質を有する円柱状細胞からなり, 核は卵円形~紡錘状で偽重層化が種々の程度に目立つ。絨毛状・乳頭状の増殖を呈し, 大腸のvillous tumorに類似している (Fig. 1b)。
- (3) Gastric+Intestinal type: Gastric typeの領域とIntestinal typeの領域とが併存するもの。
- (4) Oncocytic type: 核小体の目立つ円形核と好酸性の

広い顆粒状胞体を有する細胞からなり, 複雑な乳頭状構造を呈して増殖し, 結節状増殖を呈する (Fig. 1c)。Oncocytic typeはしばしば, Gastric type様を呈する低乳頭状の領域を伴う (Fig. 1d)。

以上の亜分類に基づき, 対象とした91病変は, Gastric type 50例³⁴⁾, Intestinal type 30例³⁴⁾, Gastric+Intestinal type 4例, oncocytic type 7例に分類され, Gastric typeとIntestinal typeとが主要な亜分類であった。

各亜分類に属する患者の年齢と性別をTable 2に示した。主要な亜分類であるGastric typeとIntestinal typeとの間で, 年齢および性別に関して統計的有意差は認められなかった (年齢はMann-Whitney's U test, 性別はFisher's exact probability test on 2×2 contingency tableにより, いずれも有意水準は $p < 0.01$)。

2. IPMNの組織学的亜分類と粘液形質

MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6それぞれに関して, 各組織学的亜分類における免疫染色スコアをTable 3, Fig. 2に示した。

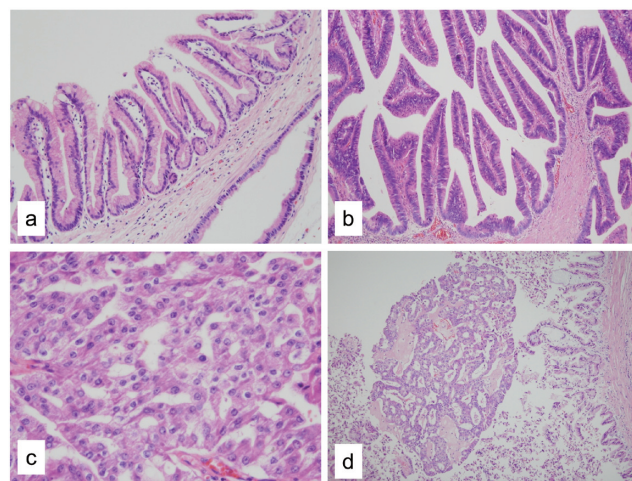


Fig. 1. Typical histology of each subtype of intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the pancreas: a. Gastric type, b. Intestinal type, c. Oncocytic type, d. Oncocytic type (left) with Gastric type-like growth (right).

Table 2. Age and sex of patients of each histologic subtype

		Gastric type (n=50)	Intestinal type (n=30)	Gastric+Intestinal type (n=4)	Oncocytic type (n=7)
Age	mean±SD	65.5±8.20	65.1±11.9	76.5±11.9	64.4±7.18
	(range)	(47 ~ 83)	(37 ~ 81)	(59 ~ 85)	(53 ~ 74)
Sex	male : female (ratio)	31 : 19 (1.63)	18 : 12 (1.50)	2 : 2 (1.00)	4 : 3 (1.33)

Table 3. Mucin immunohistochemistry scores of each histologic subtype (mean±SD)

	Gastric type (n=50)	Intestinal type (n=30)	Gastric+Intestinal type (n=4)	Oncocytic type (n=7)
MUC1	0.48±1.11	0.47±1.05	0.75±1.50	2.57±1.81
MUC2	0.42±1.08	4.48±1.09	4.25±0.96	1.29±1.60
MUC5AC	4.60±0.67	4.55±0.63	4.25±0.96	5.00±0.00
MUC6	3.30±1.15	1.41±1.57	2.50±1.73	4.43±0.79

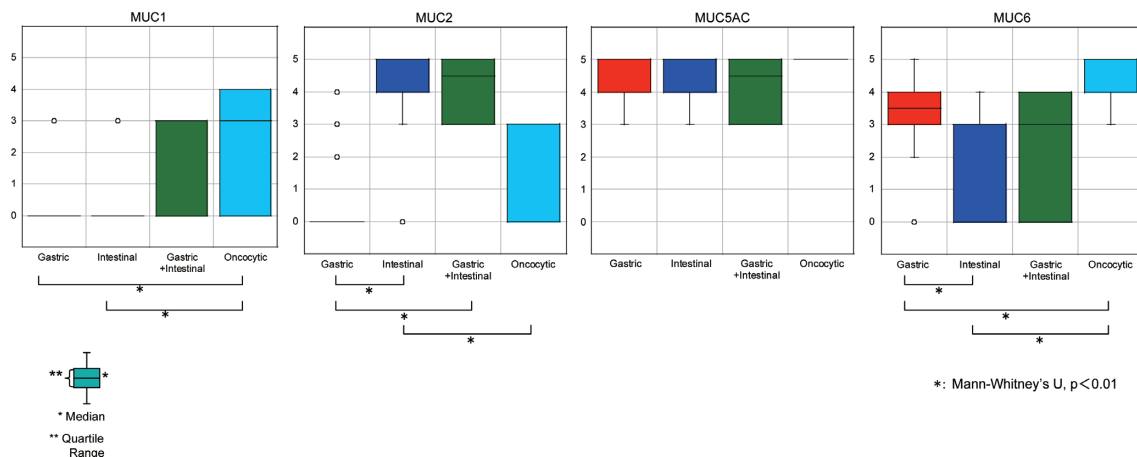


Fig.2. Differences of immunohistochemical scores of each mucin among histologic subtypes of IPMN. Vertical axes represent immunohistochemical scores.

Gastric typeとした症例のほとんどでMUC5ACが高いスコアで発現しており、MUC6の発現も多くみられたが (Fig. 3c, d), MUC2の発現は大部分の症例 (78%) で認められなかった (Fig. 3b). 11例 (22%) ではMUC2の発現も認められたが、大部分 (10例) は免疫染色スコアが3以下であり、陽性細胞は主に杯細胞の形態を呈する一部の腫瘍細胞に局限していた。したがって、Gastric typeとした症例は基本的には胃型形質を呈していた。一方、Intestinal typeとした症例の大部分ではMUC5ACとMUC2の両者の発現が高いスコアで認められ (Fig. 3f, g), 胃型と腸型の両者の形質を呈していた。MUC6は陽性 (47%) と陰性 (53%) の症例が認められたが、免疫染色スコアは概して低く、その値はばらついていて (Fig. 3h). 1例 (3.5%) のみMUC2陰性であり、組織形態と粘液形質との不一致がみられた。MUC2とMUC6のスコアに関してGastric typeとIntestinal typeとの間には統計的に有意な差が認められた (Mann-Whitney's U, $p < 0.01$)³⁴⁾. MUC1はGastric type, Intestinal typeともにほとんど発現がみられず (Fig. 3a, e), 一部の例にみられた発現もスコアは低値であった。以上のように、主要な組織学的亜分類であるGastric typeとIntestinal typeに関しては、組織形態と粘液形質の発現パターンとは、よく一致していた。

Oncocytic type 7例では、全例にMUC5ACの高いスコアでの発現がみられ、MUC6の発現スコアも多くの例で高かった (Fig. 3k, l). 2例で一部MUC2 (免疫染色スコア3) の発現が認められたが、他の例ではMUC2の発現は認められなかった (Fig. 3j). MUC1の発現は5例 (免疫染色スコア3から4) に認められた (Fig. 3i). oncocytic typeのMUC1, MUC6の免疫染色スコアは、gastric type, intestinal typeとの間で統計的に有意な差が認められた (Mann-Whitney's U, $p < 0.01$). また、oncocytic typeのMUC2スコアはintestinal typeとの間

で有意差がみられた (Mann-Whitney's U, $p < 0.01$). したがって、oncocytic typeはどちらかという胃型形質優位であったが、幽門腺型粘液であるMUC6の発現が特徴的であり、また、MUC1の発現が比較的特徴的であった。

Gastric+Intestinal type 4例では、いずれもMUC5AC (免疫染色スコア3から5) およびMUC2 (免疫染色スコア3から5) の発現が認められた。MUC6は3例 (免疫染色スコア3および4) に発現がみられ、1例にMUC1 (免疫染色スコア3) の発現が認められた。全体としては、gastric typeとintestinal typeの中間的な粘液形質の発現であった。

3. IPMN各組織学的亜分類の病理組織学的特徴

IPMNの主要な組織学的亜分類であったGastric typeとIntestinal typeに関しては、両者の病理組織学的相違を検討する目的で、1) 腫瘍上皮の異型度 (grade), 2) 腫瘍の存在部位, 3) 周囲膵実質組織の萎縮, 4) 膵管内の結節状増殖, 5) 周囲間質組織内の小粘液塊の形成, 6) 幽門腺様病変の存在, 7) Pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) 様病変の存在, の各所見に関して病理組織学的検討を行った。異型度に関しては、ひとつの病変内の異型度の多様性を考慮して、benign ~ borderline, および borderline ~ noninvasive carcinomaの二群の異型度に分類して検討した。存在部位に関しては、主膵管優位の病変か分枝膵管優位の病変かを検討した。間質組織内の小粘液塊形成は、腫瘍周囲の間質にみられた腫瘍上皮成分を伴わない粘液塊であり、明らかな粘液癌の浸潤とはいえないものである。幽門腺様病変は、通常IPMN上皮の基底部にみられる幽門腺あるいは偽幽門腺様の所見であり、PanIN様病変は、PanIN^{31,32)}に類似した組織所見、特に、粘液性上皮の小腺管が密に増生したlow-grade PanIN様の所見である。Gastric typeとIntestinal typeとの間での、それぞれの所見の比較はTable 4に示した。

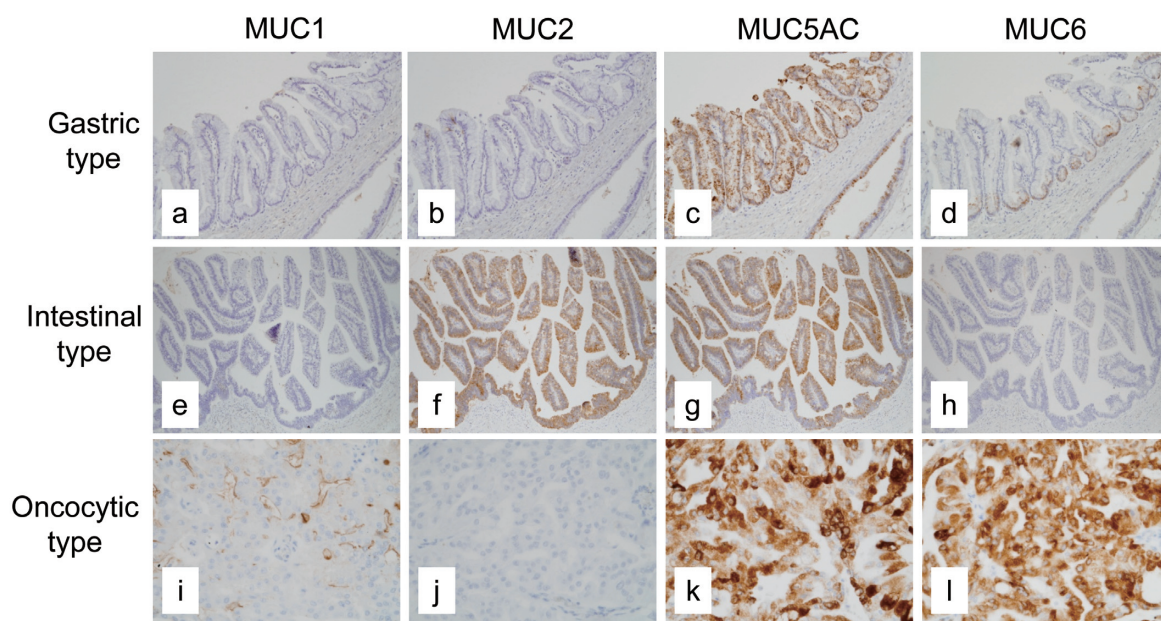


Fig.3. Mucin immunohistochemistry of each subtype of IPMN: Gastric type (a, b, c, d), Intestinal type (e, f, g, h), Oncocytic type (i, j, k, l), and MUC1 (a, e, i), MUC2 (b, f, j), MUC5AC (c, g, k), MUC6 (d, h, l).

Table 4. Differences of histopathologic findings between Intestinal type IPMN and Gastric type IPMN

		Gastric type (n=50)	Intestinal type (n=30)	Gastric + Intestinal type (n=4)	Oncocytic type (n=7)
Histologic grade	Benign ~ Borderline	46 ^a	6 ^a	1	0
	Borderline ~ Carcinoma ⁺	4 ^a	24 ^a	3	7
Dominant location	Main duct	1 ^b	22 ^b	2	4
	Branch duct	49 ^b	8 ^b	2	3
Severe parenchymal atrophy	+	1 ^c	18 ^c	1	1
	—	49 ^c	12 ^c	3	6
Intraluminal nodular growth	+	2 ^d	17 ^d	1	6
	—	48 ^d	13 ^d	3	1
Mucous lake	+	0 ^e	14 ^e	0	2
	—	50 ^e	16 ^e	4	5
Pyrolic gland-like lesion	+	48 ^f	10 ^f	3	4
	—	2 ^f	20 ^f	1	3
PanIN-like lesion	+	41 ^g	1 ^g	1	0
	—	9 ^g	29 ^g	3	7

⁺noninvasive carcinoma ; a ~ g: Fisher's exact probability, $p < 0.05$

(Case No.)

腫瘍上皮の異型度に関しては、Gastric typeには低異型度の病変が多く (Fig. 4a), Intestinal typeでは高異型度の病変が多い傾向がみられた (Fig. 4b, c). 腫瘍の存在部位はGastric typeでは分枝膵管優位な病変が多かったのに対して、Intestinal typeでは主膵管優位に存在するものが多かった (Fig. 4d, e). また、Intestinal typeでは、病変周囲の膵実質組織の強い萎縮や膵管内の結節状増殖を示す例が多く、周囲間質組織内に小粘液塊形成を伴う頻度が高かった (Fig. 4e). 一方、Gastric typeでは、周囲膵実質組織の萎縮や管腔内の結節状増殖、間質内の小粘液塊形成などの所見

がみられる頻度は低かったが、病変内に幽門腺様病変やPanIN様病変を伴う頻度が高かった (Fig. 4f, g). Intestinal typeの病変で、主膵管に進展した主病変から細かい分枝膵管に進展した像を伴うものもみられたが、分枝膵管進展部でもgastric typeのような幽門腺様病変やPanIN様病変の所見には乏しかった (Fig. 4h). 以上の所見に関してはいずれも、Gastric type, Intestinal typeとそれぞれの所見との間には統計的に有意な関連が認められた (Fisher's exact probability, $p < 0.01$)³⁴⁾.

Gastric+Intestinal typeおよびOncocytic typeに関しては、病理組織学的特徴を確定するには症例数が少

ないが, Oncocytic typeは一般的な異型の認識から判断すると, すべてborderline ~ noninvasive carcinomaの異型度に位置づけられると考えられた. また, Oncocytic typeの多くが拡張した膵管内に結節状の増殖を呈し, IPMNの組織学的亜分類のところで触れたように, しばしばgastric type様の低乳頭状増殖を伴っていた.

4. Intestinal type IPMNとGastric type IPMNにおける腫瘍関連因子(COX-2, c-erbB-2, cyclin D1)の発現

Gastric typeとIntestinal typeとの間の相違をさらに検討する目的で, Gastric type 14例, Intestinal type 18例を選び, 腫瘍関連因子としてCOX-2, c-erbB-2, cyclin D1の発現について免疫組織化学的に検討を行った. 選択した症例はいずれも, 上記の検索で組織学的な亜分類と免疫組織化学的な粘液形質とが一致したものである. 免疫染色で陽性の場合, COX-2は腫瘍細胞の細胞質に陽性(Fig. 5a), c-erbB-2は細胞膜と細胞質に陽性(Fig. 5b), cyclin D1は細胞核に陽性であった(Fig. 5c). 免疫染色スコアをTable 5, Fig. 6に示した.

COX-2の発現はGastric typeでは3例(21.4%)のみにみられ, Intestinal typeでは5例(27.8%)に認められた. い

ずれも免疫染色スコアは低値であり, Gastric typeとIntestinal typeとの間に免疫染色スコアの有意差は認められなかった(Mann-Whitney's U, $p < 0.05$). c-erbB-2はGastric typeの全例で発現がみられ, Intestinal typeでは15例(83.3%)に発現がみられたが, 免疫染色スコアはGastric typeが統計学的に有意に高値を示した(Mann-Whitney's U, $p < 0.05$). Cyclin D1は, Gastric typeの12例(85.7%), Intestinal typeの16例(88.9%)に発現が認められ, 免疫染色スコアはいずれも低値であったが, 統計学的にはIntestinal typeが有意に高値を示した(Mann-Whitney's U, $p < 0.05$). また, それぞれの発現を腫瘍上皮の異型度(grade)別にbenign ~ borderline群およびborderline ~ noninvasive carcinoma群との間で比較した. COX-2の発現はbenign ~ borderline群では3例(21.4%)のみにみられ, borderline ~ noninvasive carcinoma群では5例(27.8%)に認められた. いずれも免疫染色スコアは低値であり, benign ~ borderline群とborderline ~ noninvasive carcinoma群との間に免疫染色スコアの有意差は認められなかった(Mann-Whitney's U, $p < 0.05$). c-erbB-2はbenign ~ borderline群の全例で発現がみられ, borderline ~ noninvasive carcinoma群では11例(73.3%)で発現がみられたが, 免

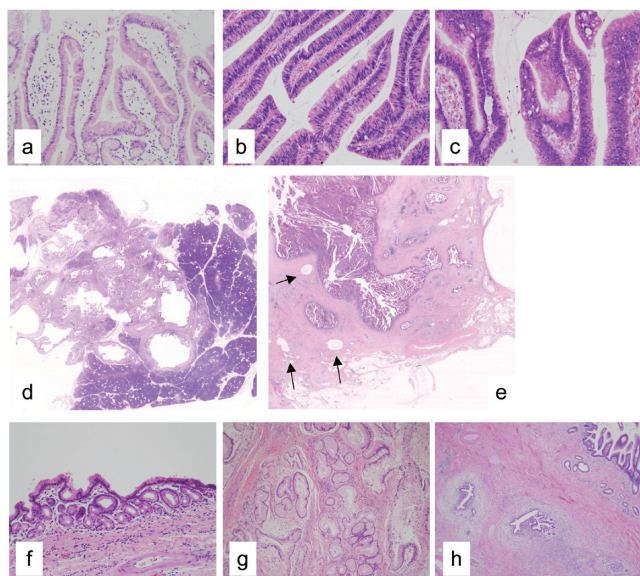


Fig.4. Histologic findings of IPMNs: Gastric type IPMN showing a benign appearance (a), and Intestinal type IPMN showing a borderline atypia (b) and an atypia of noninvasive carcinoma (c); Branch duct type growth of Gastric type IPMN showing a collection of multiple dilated ducts (d), and main duct type IPMN of Intestinal type IPMN showing marked atrophy of the surrounding parenchyma with small mucin pools (arrows) and an intraluminal nodular growth (e); Pyloric gland-like lesion (f) and PanIN-like lesion (g) observed in Gastric type IPMN; Small branch duct spread of Intestinal type IPMN showing atrophy of the surrounding parenchyma (h).

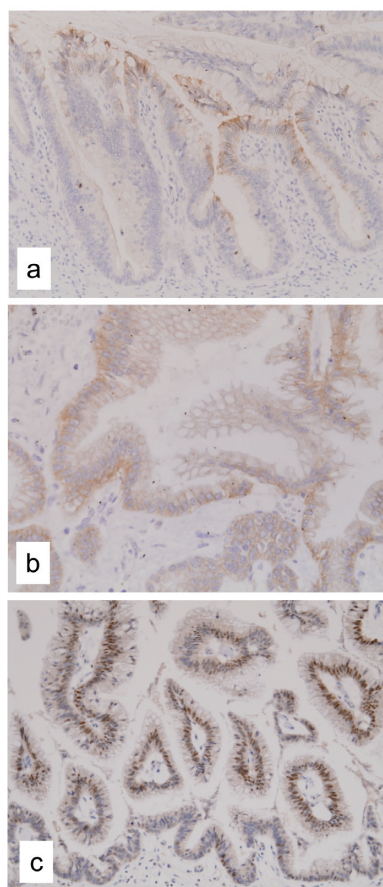


Fig.5. Immunohistochemistry of COX-2 (a), c-erbB-2 (b), and cyclin D1 (c).

疫染色スコアはbenign～borderline群が有意に高値を示した (Mann-Whitney's U, $p < 0.05$). Cyclin D1は, benign～borderline群の15例 (88.2%), borderline～noninvasive carcinomaの13例 (86.7%) に発現を認めたが, 免疫染色スコアはいずれも低値であり, 両者の間に有意差はみられなかった (Mann-Whitney's U, $p < 0.05$).

5. IPMN 由来浸潤癌の組織学的特徴と粘液形質

Gastric type 50例のうちの1例 (2%), Intestinal type 30例のうちの7例 (23%) は, 非浸潤性病変に連続した浸潤癌 (IPMN 由来浸潤癌) を伴っており, IPMN 由来浸潤癌の頻度は, Gastric typeに比較しIntestinal typeで有意に高かった (Fisher's exact probability, $p < 0.01$)³⁴⁾. Gastric+Intestinal type 4例, Oncocytic type 7例には浸潤癌の合併は認めなかった. IPMN 由来浸潤癌の組織型をIPMNの組織亜型別にみると, Gastric type由来の1例は通常型浸潤性膵管癌であり, Intestinal type由来では通常型浸潤性膵管癌が1例, 粘液癌が5例, 粘液癌と通常型浸潤性膵管癌の両者がみられたものが1例であった (Fig. 7a, b). Intestinal type 30例に関して, IPMN 由来浸潤癌を伴う7例と伴わない23例の年齢と性別をみると, 前者の平均年齢は71.4歳 (50～81歳), 男性6例, 女性1例であったの

に対し, 後者の平均年齢は63.2歳 (37～78歳), 男性12例, 女性11例であった. 前者のほうが年齢が高く, 男性が多い傾向にみえたが, 統計的な有意差は認められなかった (年齢はMann-Whitney's U test, 性別はFisher's exact probability testにより, 有意水準はいずれも $p < 0.05$).

免疫染色による粘液形質をみると (Table 6), MUC1の発現は主に通常型浸潤性膵管癌に認められた (免疫染色スコア3から5). MUC2の発現はIntestinal type IPMN由来粘液癌全例でみられ (免疫染色スコア3から5) (Fig. 7c), IPMN由来通常型浸潤性膵管癌はMUC2陰性で, Intestinal type IPMNが通常型浸潤性膵管癌の形態で浸潤する場合には, MUC2陽性から陰性へと粘液形質の変化を伴っていた (Fig. 7d). MUC5ACの発現はIPMN由来浸潤癌非浸潤部の全例及び通常型浸潤性膵管癌の2例を除いた浸潤部において認められた (免疫染色スコア3から5). MUC6の発現は非浸潤部の5例及び浸潤部の2例でみられた (免疫染色スコア2から4).

考 察

1. IPMNの組織学的亜分類と粘液形質

Table 5. Immunohistochemical scores of COX-2, c-erbB-2, and cyclin D1 (mean±SD)

	COX-2	c-erbB-2	cyclin D1
Gastric type (n=14)	0.57±1.16	4.21±0.89*	0.82±0.61**
Intestinal type (n=18)	0.83±1.38	2.56±1.54*	1.50±1.03**
Benign ~ Borderline (n=17)	0.53±1.18	3.81±1.11***	1.09±0.88
Borderline ~ Carcinoma ⁺ (n=15)	1.00±1.46	2.27±1.67***	1.47±0.99

*noninvasive carcinoma; ***, ****, *****: Mann-Whitney's U, $p < 0.05$

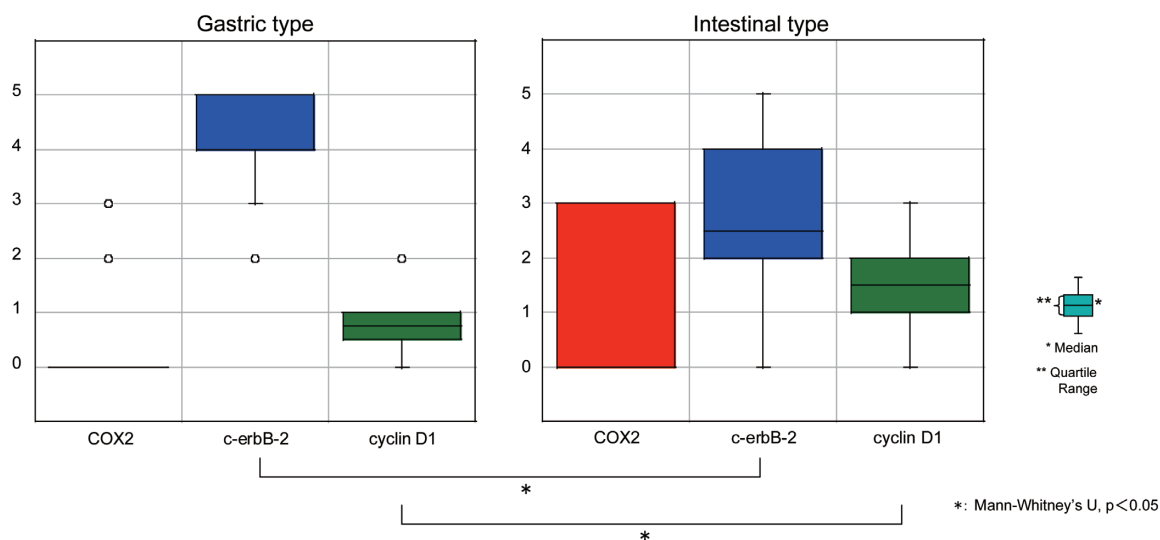


Fig.6. Differences of immunohistochemical scores of COX-2, c-erbB-2, and cyclin D1 between gastric type IPMN and intestinal type IPMN. Vertical axes represent immunohistochemical scores.

今回、われわれが検討したIPMN例は、腫瘍上皮の組織形態から、Gastric type, Intestinal type, および Oncocytic typeに亜分類され、このうちGastric typeと Intestinal typeとが主要な亜型であった。Gastric typeは、Yonezawaらのpapillary clear cell type¹¹⁾、Adsayらのnull type¹⁶⁾にほぼ相当するものと考えられ、一方、Intestinal typeはYonezawaらのvillous dark cell typeに近いが、細胞質が必ずしも暗調でないものでも核の所見や絨毛状の増殖などから同じ亜型としたほうがよいと考えられたものもIntestinal typeとしており、Yonezawaらの定義よりも広い範囲の病変を包含する可能性がある。粘液形質の点からはGastric typeとしたものの大部分がMUC5AC+/MUC2-, Intestinal typeとしたものの大部分がMUC5AC+/MUC2+と両者の間で相違がみられ、かつ組織形態とよく相関しており、われわれの行った分類は妥当であると考えられる。粘液形質の発現も、Yonezawaらをはじめとするこれまでの報告と矛盾しないものであった。

一方、Oncocytic typeは、Adsayらがintraductal oncocytic papillary neoplasm (IOPN) として提唱した病変¹⁷⁾、あるいはYonezawaらがcompact cell typeとして報告した病変¹¹⁾に相当するものと考えられる。Adsayらは当初、IPMNとは異なるentityとしてIOPNを報告した。しかし、Adsayらの報告でもIOPNのすべての細胞が厳密な意味での“oncocytic”ではなく、また、胃腺窩上皮様の細胞や杯細胞型の細胞も含むとされている。今回検討した症例でも、典型的なoncocytic領域以外にしばしばgastric type様の低乳頭状領域を伴っていた。また、oncocytic領域の細胞質にも粘液物質が確認された。したがって、組織形態的にはIPMNのひとつの亜型としてもよいように思われる。

今回検討できたOncocytic typeの症例数は多くは

ないが、粘液形質の点からはどちらかというと胃型形質が優位であり、この結果はYonezawaらのcompact cell typeの結果と一致した。TerrisらはIOPNの粘液形質に関して腸型粘液であるMUC2陽性例を報告しているが¹³⁾、杯細胞に局限して陽性であるのみのようであり、必ずしも腸型形質優位とはいえないようである。また、Lüttgesらの報告ではoncocytic typeはMUC5AC, MUC2ともに陽性とされている¹²⁾。しかし、染色範囲等の記載はなく、どちらが優位であるかは不明である。以上のごとく、oncocytic typeの粘液形質に関してはさらに検討が必要と思われるが、今回のわれわれの検討結果で特徴的であったのは、胃型粘液形質のうち腺窩上皮型のMUC5ACのみでなく、幽門腺型のMUC6の発現もOncocytic typeで目立っていた

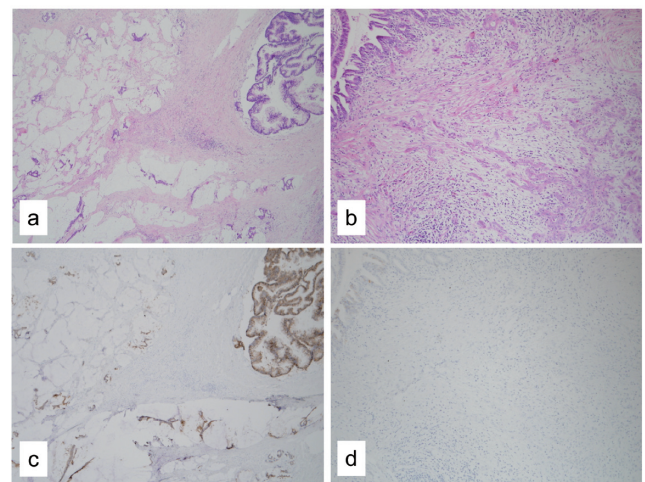


Fig. 7. Histology and MUC2 mucin immunohistochemistry of invasive carcinomas derived from IPMN: mucinous carcinoma (a) immunoreactive to MUC2 (c), and conventional type invasive ductal carcinoma (b) non-immunoreactive to MUC2 (d).

Table 6. Mucin immunohistochemical scores of invasive carcinomas derived from IPMN

Case No.	IPMN subtype	Histologic type of invasive carcinoma	Noninvasive area				Invasive area			
			MUC1	MUC2	MUC5AC	MUC6	MUC1	MUC2	MUC5AC	MUC6
1	Gastric	IDC	3	0	4	3	3	0	0	0
2	Intestinal	IDC	3	3	4	3	4	0	4	0
3	Intestinal	MC	0	4	5	3	4	3	5	2
		IDC					5	0	0	0
4	Intestinal	MC	0	5	4	0	0	5	4	0
5	Intestinal	MC	0	5	5	3	3	5	5	2
6	Intestinal	MC	0	5	4	0	0	5	3	0
7	Intestinal	MC	0	5	4	0	0	5	3	0
8	Intestinal	MC	3	5	5	4	0	5	4	0

IDC: Conventional type invasive ductal carcinoma, MC: Mucinous carcinoma

ことである。この点は最近の他の報告においても支持され³⁵⁾、注目すべき点と考えられる。また、他の亜型と比較してMUC1の発現が目立ち、この点は他の報告でも同様であった^{12,13)}。以上の結果より、Oncocytic type (IOPN) は現時点では、Gastric typeとは異なる胃型形質 (MUC6陽性) とMUC1の発現を特徴とするIPMNの一亜型として位置づけおきたいが、IOPNは他のIPMNと比較してK-rasの変異が少ないという点からIPMNと区別している報告もみられる³⁶⁾。異型度が強いと認識されるにもかかわらず浸潤癌を伴っている頻度が低いとみなされることも特徴的であり、Oncocytic type (IOPN) におけるMUC1の発現の意義 (浸潤性膵管癌に発現するMUC1と同様の意義を有するかどうか) も含め³⁷⁾、さらに検討を要する点である。

今回、われわれが検討した病変の中には、Adsayらが報告しているpancreatobiliary typeと考えられるものはみられず、pancreatobiliary typeは非常にまれな亜型と思われる。

2. 病理組織学的所見および腫瘍関連因子の発現からみたIntestinal typeとGastric typeの相違

今回検討したIPMNの中で主要な亜型であったIntestinal typeとGastric typeとの間には、いくつかの点で病理組織学的な相違が認められた。Intestinal typeは主に主膵管に存在し、高異型度の病変が多かった。また、膵管内の結節状増殖、周囲膵実質組織の高度の萎縮・線維化を呈する例が多く、間質組織内にしばしば小粘液塊形成を伴っていた。幽門腺様病変やPanIN様病変を伴う頻度は低く、一部にみられた分枝膵管への進展部でもほとんど認められなかった。一方、Gastric typeは主に分枝膵管に存在し、低異型度の病変が多く、幽門腺様病変やPanIN様病変を伴う頻度が高かった。分枝膵管を主体としたIPMNは主膵管を主体に増殖したIPMNよりも異型度が低いことが報告されており^{38,39)}、また、Nakamuraらは、MUC2陽性IPMN (主に暗調で高異型度の立方上皮からなる) は主に主膵管に存在し、MUC2陰性IPMN (低異型度の淡明な立方上皮からなる) の2/3は主に分枝膵管に存在すると報告しているが¹⁴⁾、これらの報告はわれわれの検討結果に一致している。しかし、われわれの検討結果からは、Intestinal typeとGastric typeとの間で、異型度の違いや粘液形質の違いのみではなく、病理組織学的な進展様式の違いも明らかにされたと考えられる。これらは、両者の間の異なった生物学的性質を反映していることを示唆しているものと思われる。

両者の間の相違をさらに明らかにする目的で、プロスタグランジン合成酵素であるcyclooxygenase-2 (COX-2)、proto-oncogeneのひとつであるc-erbB-2遺伝子産物であるc-erbB-2タンパク、cell cycle関連因子のひとつであるcyclin D1の発現について免疫組織化

学的に検討を行った。COX-2はプロスタグランジン産生の律速酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX) のアイソザイムのひとつであり、大腸・胃・食道・肺・乳癌などで過剰発現がみられ、これらの発癌に関与しているといわれている⁴⁰⁻⁴⁴⁾。c-erbB-2遺伝子は、上皮増殖因子 (EGF) レセプター類似のタンパク合成を指令する遺伝子で、乳癌・胃癌など主に腺癌で20%程度の頻度で遺伝子の過剰増幅やc-erbB-2タンパクの発現がみられると報告されている^{45,46)}。Cyclin D1は細胞周期制御因子であるcyclinファミリーのひとつで、G1→S期の移行に関与し、食道癌、乳癌、膵癌などでの過剰発現が報告されている⁴⁷⁻⁴⁹⁾。これらは、これまでの報告の中で、低異型度のIPMNにも発現の異常がみられるとの報告のあるものである^{18,21,22,26-30)}。今回のわれわれの検討結果では、IPMN腫瘍上皮におけるCOX-2の発現の点からIntestinal typeとGastric typeとの間の相違を浮き彫りにすることはできなかった。COX-2に関してはこれまで、IPMN上皮に高い頻度で発現があるとする報告と^{29,30)}、必ずしもそうではないとする報告とがあり²⁸⁾、必ずしも一貫していない。われわれは、非特異的な反応を十分に抑えた免疫染色を行っており、IPMN上皮におけるCOX-2の発現は低いものと考えたいが、さらに検討が必要であろう。一方、c-erbB-2およびcyclin D1に関しては、Intestinal typeとGastric typeとの間で有意差がみられ、c-erbB-2の発現はIntestinal typeよりもGastric typeで高く、cyclin D1の発現はGastric typeに比べIntestinal typeで目立った。これらの結果はIntestinal typeとGastric typeとの間の生物学的な相違を反映している可能性がある。しかし、c-erbB-2のIPMNにおける発現に関しても、これまでの報告の結果にはばらつきがみられること^{18,21,26,27)}、cyclin D1の発現範囲は必ずしも広くなかったこと、IPMNにおけるcyclin D1発現に関する報告はこれまで少ないことなどがあり、その意義に関しては、さらに検討が必要である。

3. IPMNの亜型相互間の関係およびIPMNとPanINとの関連

Adsayらは、Gastric typeとした亜型に相当するIPMN病変をnull typeとし、それらはIntestinal typeや他の亜型に進展する可能性のある“uncommitted type”の可能性があると考えている¹⁶⁾。今回検討した病変の中には、小数ながらGastric typeとIntestinal typeが明らかに併存した病変が認められたが、Gastric typeの多くがMUC5AC陽性・MUC2陰性の、異型の弱い分枝膵管病変であることを考慮すると、Gastric typeの一部が腸型形質を獲得してIntestinal typeに進展する可能性は考えられることである。しかし一方、Gastric typeとIntestinal typeとでは小膵管内の進展様式が異なっており、前者がlow grade PanIN様所見をしばしば呈するのに対して、後者はそのような所見を伴うこ

となく周囲膵組織の萎縮を来しながら進展していた。このような進展の違いを考慮すると、Gastric typeとIntestinal typeの組織発生は異なる、あるいは組織発生の初期の段階でGastric typeがIntestinal typeに置き換わってしまう可能性も考えられる。Gastric typeとIntestinal typeとの間で年齢差が認められなかったが、この点も、Gastric typeの広範な進展後にそれを背景としてIntestinal typeが生じるというよりも、組織発生が異なる、もしくはGastric typeの初期の段階でIntestinal typeが優勢になってしまう可能性が示唆される。

Oncocytic typeの粘液形質は胃型優位である点に関しては既に触れたが、この点および辺縁部にGastric type様の所見を伴うことがある点から、Gastric typeとの関連が示唆される。既に述べたごとく幽門腺型粘液であるMUC6の発現が目立ったが、通常のGastric typeでも基底部の幽門腺様領域にMUC6が陽性となり、幽門腺型分化の可能性も示唆される。その意味では、pyloric gland typeのintraductal tubular adenomaとして報告されている病変^{50,51)}との関連についても、今後、検討していく必要があるかもしれない。一方、Pancreatobiliary typeは今回検討した中には含まれなかったが、Oncocytic type (あるいはIOPN) との類似性が指摘されており¹⁵⁾、また、Oncocytic type同様、Pancreatobiliary typeでもMUC6の発現が報告されている³⁵⁾。したがって、Pancreatobiliary typeもGastric typeとの関連を検討する必要がある垂型のひとつとみなされる。実際、われわれも、今回検討した一連の症例以外で、Pancreatobiliary typeとGastric typeとの関連が示唆されるIPMN症例を経験している⁵²⁾。

Gastric type IPMNにおける幽門腺様病変やPanIN様病変の存在、MUC5AC+/MUC2-の粘液形質^{53,54)}といったことから、Gastric type IPMNとlow-grade PanINとの関連が示唆される。現時点では、PanINは顕微鏡的病変、IPMNは肉眼的病変として、大まかな大きさを主体として鑑別されているが³²⁾、組織形態および粘液形質の類似からは、Gastric type IPMNがlow grade PanINから進展する可能性は十分に考えられる。両者ともに、K-ras, p-16, DPC4/Smad4, and p53といった膵管癌に関連した遺伝子変異が報告されているが^{18,20-24,54-60)}、p16の異常はlow-grade IPMN病変よりもhigh-grade PanIN病変でより頻度が多いとの報告もみられる^{22-24,54-56,58)}。しかし、これまでの報告ではIPMNの垂分類とくにGastric type IPMNを意識した検討に乏しく、今後、その点に注目した分子生物学的検討が望まれる。

4. IPMN由来浸潤癌の組織型と粘液形質

浸潤癌を伴わないIPMNは一般的に予後良好だと認識されている(5年生存率77~100%)^{3,9,10,61)}。しかしながら、IPMNの15~45%はIPMN由来浸潤癌を

伴っていると報告されており^{3,12-14,16,61-64)}、浸潤癌を伴う場合は5年生存率が40%強まで低下すると報告されている^{3,61)}。そのため、IPMN病変内に浸潤癌が存在するかどうかは、IPMN患者の治療に関して重要である。また、IPMN由来粘液癌はIPMN由来の通常型浸潤性膵管癌よりも予後良好であるとの報告がある^{61,65)}。そのため、IPMN由来浸潤癌の組織型を認識することは重要であり、術後の病理学的診断はIPMN患者の術後経過をみる上で不可欠である。

今回の検討では、Intestinal type IPMNの23%がIPMN由来浸潤癌を伴っており、一方、Gastric type IPMNでIPMN由来浸潤癌を伴っていたのは2%のみであった。このような傾向は、これまでの報告とも合致しており¹⁴⁻¹⁶⁾、Intestinal typeはIPMN由来浸潤癌の発生の点においても、Gastric typeよりもmalignant potentialが高い腫瘍と考えられた。

IPMN由来浸潤癌の組織型は粘液癌が多かったが、小数ながら通常型の浸潤性膵管癌も認められ、両者が混在した例も認められた。特にIntestinal type IPMN由来浸潤癌7例中6例が粘液癌であったが、Intestinal type IPMN由来浸潤癌の多くが粘液癌であるという報告は他にもみられ^{13,14,16)}、Intestinal type IPMNと粘液癌との密接な関連が示唆された。今回検討した中ではGastric type由来浸潤癌は通常浸潤性膵管癌が1例のみであったが、Gastric type IPMN由来浸潤癌は頻度は少ないものの、合併するのであれば通常型浸潤性膵管癌であるという報告がみられる^{13,16)}。

Intestinal type IPMN由来粘液癌はすべてMUC2陽性であり、粘液癌の場合は非浸潤部の粘液形質を保っていた。一方、Intestinal type IPMNが通常型浸潤性膵管癌の形態で浸潤する場合には、MUC2陽性から陰性へと粘液形質の変化を伴っていた。われわれはintestinal type IPMNに浸潤癌巣が多発した症例も経験しているが⁶⁶⁾、その中にみられた浸潤癌巣にも同様の粘液形質変化が認められた。この意味でも、Intestinal type IPMNに特徴的なIPMN由来浸潤癌は粘液癌といえるかもしれない。

Intestinal type IPMNでは、周囲間質組織内に細胞成分を伴わない小粘液塊の形成がしばしば認められたが、Fukushimaらが示唆したように⁶²⁾、これらは粘液癌における粘液結節性浸潤の前駆病変である可能性も考えられる。類似した所見は大腸の絨毛腫瘍で観察されており、粘液塊がしばしば浸潤先端部に認められる^{67,68)}。今後の検討を要する所見と考えられる。

結 語

1. 膵IPMN 91症例 91病変を対象とし、とくにその組織垂分類に注目して、病理組織学および免疫組織化学的検討を行った。
2. 膵IPMNはその腫瘍上皮の組織所見から、Gastric

type, Intestinal type, Gastric+Intestinal type, Oncocytic typeに分類された。

3. Gastric typeとIntestinal typeとが主要な組織学的亜分類であり、粘液形質も前者が胃型 (MUC5AC+/MUC2-)、後者が胃腸混合型 (MUC5AC+/MUC2+)と相違がみられ、組織像による亜分類とよく関連していた。また、両者の間には、その進展増殖様式にも相違が認められた。一方、COX-2, c-erbB-2, cyclin D1といった腫瘍関連因子の発現に関しては、両者の間で若干の発現の相違を認めたものの、その点から両者の相違を明確にするまでには至らなかった。組織発生上、両者が関連している可能性は考えられるが、その初期段階で異なる増殖・進展を呈する可能性が考えられた。
4. Oncocytic typeは、MUC6の発現を特徴とする胃型優位の形質およびMUC1の発現がみられ、その点からも異なる亜型に位置づけられると考えられた。また、Gastric typeとの関連が示唆された。
5. IPMN 由来浸潤癌には粘液癌と通常型浸潤性膵管癌とが認められた。粘液癌はMUC2陽性であり、一方、Intestinal type IPMNから通常型浸潤癌が生じている場合には、MUC2の発現の消失がみられ、Intestinal type IPMN 由来浸潤癌として特徴的な癌は粘液癌と考えられた。
6. 膵 IPMN の診断・治療に際しては、その組織亜分類を考慮する必要がある。

本研究の内容の一部は、第15回日本消化器癌発生学会(2004年8月、札幌)、United States and Canadian Academy of Pathology 94th Annual Meeting (2005年2月、San Antonio, USA)、第94回日本病理学会総会(2005年4月、横浜)、United States and Canadian Academy of Pathology 95th Annual Meeting (2006年2月、Atlanta, USA)、第95回日本病理学会総会(2006年4月、東京)にて発表した。

謝 辞

本研究の遂行、論文の作成にあたり直接御指導頂きました伴慎一准教授、清水道生教授(埼玉医科大学国際医療センター病理診断科)に深謝いたします。

また、本研究にご協力いただきました小山勇教授(埼玉医科大学国際医療センター包括的がんセンター・消化器病センター)、Dr. Mari Mino-Kenudson (Gastrointestinal Pathology Service, Department of Pathology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA)、Dr. Gregory Y. Lauwers (Gastrointestinal Pathology Service, Department of Pathology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA; 埼玉医科大学客員教授)、黒田誠教授

(藤田保健衛生大学医学部病理部)、桜井孝規先生(京都大学医学部附属病院病理部、現埼玉医科大学国際医療センター病理診断科准教授)に深謝致します。

標本の作製、免疫染色に関して協力いただきました、後藤義也、鎌田孝一、細沼佑介、加藤智美(以上、国際医療センター病理診断科)、近藤凡子(病理学教室)実験助手・技師各位に深謝致します。

文 献

- 1) 嶋田紘. 膵嚢胞性疾患の新展開—IPMNを中心に—. 日外会誌2003;104:437-8.
- 2) Kosmahl M, Pauser U, Peters K, Sipos B, Lüttges J, Kremer B, et al. Cystic neoplasms of the pancreas and tumor-like lesions with cystic features: a review of 418 cases and a classification proposal. *Virchows Arch* 2004;445:168-78.
- 3) Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, Hruban RH, Fukushima N, Campbell KA, et al. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: an updated experience. *Ann Surg* 2004;239:788-97.
- 4) 大橋計彦, 村上義央, 丸山雅一, 竹腰隆男, 太田博俊, 大橋一郎, 他. 粘液産生膵癌の4例. *Progress of Digestive Endoscopy* 1982;20:348-51.
- 5) 高木国夫, 大田博俊, 大橋一郎, 霞 富士雄, 竹腰隆男, 大橋計彦, 他. ERCPによる膵癌の診断能とその限界. *胃と腸* 1982;17:1065-80.
- 6) 柳沢昭夫, 加藤 洋, 菅野晴夫, 大橋計彦, 竹越隆男, 高木国夫. 膵嚢胞の病理—異型上皮を含む嚢胞病変の分類—. *胆と膵* 1984;5:1079-85.
- 7) 山雄健次, 中澤三郎, 内藤靖夫, 瀬川昂生, 木本英三, 森田敬一, 他. 粘液産生膵腫瘍の臨床病理学的研究. *日消誌* 1986;83:2588-97.
- 8) 日本膵臓学会編. 膵癌取扱い規約 第5版. 東京: 金原出版; 2002.
- 9) Solcia E, Capella C, Klöppel G. Intraductal papillary-mucinous tumor. In: *Tumors of the Pancreas*. Washington, D.C.: AFIP; 1997. p.53-64.
- 10) Longnecker DS, Hruban RH, Adler G, Klöppel G. Intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas. In: Hamilton R, Aaltonen LA, editors. *Tumors of the Digestive System*. Lyon: IARC; 2000. p.237-40.
- 11) Yonezawa S, Horinouchi M, Osako M, Kubo M, Takao S, Arimura Y, et al. Gene expression of gastric type mucin (MUC5AC) in pancreatic tumors: its relationship with the biological behavior of the tumor. *Pathol Int* 1999;49: 45-54.
- 12) Lüttges J, Zamboni G, Longnecker D, Klöppel G. The immunohistochemical mucin expression pattern distinguishes different types of intraductal

- papillary mucinous neoplasms of the pancreas and determines their relationship to mucinous noncystic carcinoma and ductal adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001;25:942-8.
- 13) Terris B, Dubois S, Buisine MP, Sauvanet A, Ruszniewski P, Aubert JP, et al. Mucin gene expression in intraductal papillary-mucinous pancreatic tumours and related lesions. *J Pathol* 2002;197:632-7.
 - 14) Nakamura A, Horinouchi M, Goto M, Nagata K, Sakoda K, Takao S, et al. New classification of pancreatic intraductal papillary-mucinous tumour by mucin expression: its relationship with potential for malignancy. *J Pathol* 2002;197:201-10.
 - 15) Adsay NV, Conlon KC, Zee SY, Brennan MF, Klimstra DS. Intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas: an analysis of in situ and invasive carcinomas in 28 patients. *Cancer* 2002;94:62-77.
 - 16) Adsay NV, Merati K, Basturk O, Iacobuzio-Donahue CA, Levi E, Cheng JD, et al. Pathologically and biologically distinct types of epithelium in intraductal papillary mucinous neoplasms: delineation of an "intestinal" pathway of carcinogenesis in the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2004;28:839-48.
 - 17) Adsay NV, Adair CF, Heffess CS, Klimstra DS. Intraductal oncocytic papillary neoplasms of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 1996;20:980-94.
 - 18) Sessa F, Solcia E, Capella C, Bonato M, Scarpa A, Zamboni G, et al. Intraductal papillary-mucinous tumours represent a distinct group of pancreatic neoplasms: an investigation of tumour cell differentiation and K-ras, p53 and c-erbB-2 abnormalities in 26 patients. *Virchows Arch* 1994;425:357-67.
 - 19) Kaspar Z, Jaime R, Carolyn C, Michael P, Jens W, Carlos F, et al. Prevalance of activating K-ras mutations in the evolutionary stages of neoplasia in intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. *Ann Surg* 1997;226:491-500.
 - 20) Iacobuzio-Donahue CA, Klimstra DS, Adsay NV, Wilentz RE, Argani P, Sohn TA, et al. Dpc-4 protein is expressed in virtually all human intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: comparison with conventional ductal adenocarcinomas. *Am J Pathol* 2000;157:755-61.
 - 21) Islam HK, Fujioka Y, Tomidokoro T, Sugiura H, Takahashi T, Kondo S, et al. Immunohistochemical study of genetic alterations in intraductal and invasive ductal tumors of the pancreas. *Hepatogastroenterology* 2001;48:879-83.
 - 22) Biankin AV, Biankin SA, Kench JG, Morey AL, Lee CS, Head DR, et al. Aberrant p16 (INK4A) and DPC4/Smad4 expression in intraductal papillary mucinous tumours of the pancreas is associated with invasive ductal adenocarcinoma. *Gut* 2002;50:861-8.
 - 23) Wada K. p16 and p53 gene alterations and accumulations in the malignant evolution of intraductal papillary-mucinous tumors of the pancreas. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002;9:76-85.
 - 24) Sato N, Ueki T, Fukushima N, Iacobuzio-Donahue CA, Yeo CJ, Cameron JL, et al. Aberrant methylation of CpG islands in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology* 2002;123:365-72.
 - 25) Sasaki S, Yamamoto H, Kaneko H, Ozeki I, Adachi Y, Takagi H, et al. Differential roles of alterations of p53 and SMAD4 expression in the progression of intraductal papillary-mucinous tumors of the pancreas. *Oncol Rep* 2003;10:21-5.
 - 26) Yamao K, Nakazawa S, Fujimoto M, Tsuda H, Matsumoto K, Iwase T. A Mucous histochemical and immunohistochemical study of precancerous and neoplastic lesions in human pancreas. *Int J Pancreatol* 1993;14:37-44.
 - 27) Terada T, Ohta T, Nakanuma Y. Expression of oncogene products, anti-oncogene products and oncofetal antigens in intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas. *Histopathology* 1996;29:355-61.
 - 28) Koshiba T, Hosotani R, Miyamoto Y, Wada M, Lee J, Fujimoto K, et al. Immunohistochemical analysis of cyclooxygenase-2 expression in pancreatic tumors. *Int J Pancreatol* 1999;26:69-76.
 - 29) Nijima M, Yamaguchi T, Ishihara T, Hara T, Kato K, Kondo F, et al. Immunohistochemical analysis and in situ hybridization of cyclooxygenase-2 expression in intraductal papillary-mucinous tumors of the pancreas. *Cancer* 2002;94:1565-73.
 - 30) Kokawa A, Kondo H, Gotoda T, Ono H, Saito D, Nakadaira S, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in human pancreatic neoplasms and potential for chemoprevention by cyclooxygenase inhibitors. *Cancer* 2002;91:333-8.
 - 31) Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol* 2001;25:579-86.

- 32) Hruban RH, Takaori K, Klimstra DS, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV, et al. An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2004;28:977-87.
- 33) Shimizu M, Saitoh Y, Itoh H. Immunohistochemical staining of Ha-ras oncogene product in normal, benign, and malignant human pancreatic tissues. *Hum Pathol* 1990;21:607-12.
- 34) Ban S, Naitoh Y, Mino-Kenudson M, Sakurai T, Kuroda M, Koyama I, et al. Intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the pancreas: Its histopathological difference between two major types. *Am J Surg Pathol* 2006;30:1561-9.
- 35) Khayyata S, Basturk O, Klimstra D, Hruban R, Zamboni G, Levi E, et al. MUC6 expression distinguishes oncocytic and pancreatobiliary type from intestinal type papillae in pancreatic neoplasia: Delineation of a pyloro-pancreatic pathway. *Lab Invest* 2006;86 Suppl 1:275A (abstract).
- 36) Chung SM, Hruban RH, Iacobuzio-Donahue C, Adsay NV, Zee SZ, Klimstra DS. Analysis of molecular alterations and differentiation pathways in intraductal oncocytic papillary neoplasm of the pancreas. *Mod Pathol* 2005;18 Suppl 1:277A-8A (abstract).
- 37) Yonezawa S, Taira M, Osako M, Kubo M, Takao S, Sakoda K, et al. MUC1 mucin expression in invasive area of intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. *Pathol Int* 1998;48:319-22.
- 38) Kobari M, Egawa S, Shibuya K, Shimamura H, Sunamura M, Takeda K. Intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas comprise 2 clinical subtypes: differences in clinical characteristics and surgical management. *Arch Surg* 1999;134:1131-6.
- 39) Terris B, Ponsot P, Paye F, Hammel P, Sauvanet A, Molas G, et al. Intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas confined to secondary ducts show less aggressive pathologic features as compared with those involving the main pancreatic duct. *Am J Surg Pathol* 2000;24:1372-7.
- 40) Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, Dubois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994;107:1183-8.
- 41) Ristimäki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997;57:1276-80.
- 42) Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 1999;59:196-204.
- 43) Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H, Ristimäki A. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4997-5001.
- 44) Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer* 2000;89:2637-45.
- 45) Yokota J, Yamamoto T, Toyoshima K, Terada M, Sugimura T, Battifora H, et al. Amplification of c-erbB-2 oncogene in human adenocarcinoma in vivo. *Lancet* 1986;1(8484):765-6.
- 46) McCann A, Dervan PA, Johnston PA, Gullick WJ, Carney DN. c-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumors. *Cancer* 1990;65:88-92.
- 47) Jiang W, Kahn SM, Tomita N, Zhang YJ, Lu SH, Weinstein IB. Amplification and expression of the human cyclin D gene in esophageal cancer. *Cancer Res* 1992;52:2980-3.
- 48) Gillett C, Fantal V, Smith R, Fisher C, Bartek J, Dickson C, et al. Amplification and overexpression of cyclin D1 in breast cancer detected by immunohistochemical staining. *Cancer Res* 1994;54:1812-7.
- 49) Gansauge S, Gansauge F, Ramadani M, Stobbe H, Rau B, Harada N, et al. Overexpression of cyclin D1 in human pancreatic carcinoma is associated with poor prognosis. *Cancer Res* 1997;57:1634-7.
- 50) Albores-Saavedra J, Sheahan K, O'Riain C, Shukla D. Intraductal tubular adenoma, pyloric type of the pancreas: additional observations on a new type of pancreatic neoplasm. *Am J Surg Pathol* 2004;28:233-8.
- 51) Nakayama Y, Inoue H, Hamada Y, Takeshita M, Iwasaki H, Maesihiro K, et al. Intraductal tubular adenoma of the pancreas, pyloric gland type: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 6 cases. *Am J Surg Pathol* 2005;29:607-16.
- 52) Ban S, Naitoh Y, Ogawa F, Shimizu Y, Shimizu M, Yasumoto A, et al. Intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the gastric-type with focal nodular growth of the arborizing papillae: a case of high-grade transformation of the gastric-type IPMN. *Virchows Arch* 2006;449:112-6.
- 53) Kim GE, Bae HI, Park HU, Kuan SF, Crawley SC,

- Ho JJ, et al. Aberrant expression of MUC5AC and MUC6 gastric mucins and sialyl Tn antigen in intraepithelial neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology* 2002;123:1052-60.
- 54) Maitra A, Adsay NV, Argani P, Iacobuzio-Donahue C, Marzo AD, Cameron JL, et al. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Mod Pathol* 2003;16:902-12.
- 55) Biankin AV, Kench JG, Biankin SA, Lee CS, Morey AL, Dijkman FP, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia in association with intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: implications for disease progression and recurrence. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1184-92.
- 56) Fukushima N, Sato N, Ueki T, Rosty C, Walter KM, Wilentz RE, et al. Aberrant methylation of preproenkephalin and p16 genes in pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2002;160:1573-81.
- 57) Goggins M, Hruban RH, Kern SE. BRCA2 is inactivated late in the development of pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence and implications. *Am J Pathol* 2000;156:1767-71.
- 58) Heinmüller E, Dietmaier W, Zirngibl H, Heinmüller P, Scaringe W, Jauch KW, et al. Molecular analysis of microdissected tumors and preneoplastic intraductal lesions in pancreatic carcinoma. *Am J Pathol* 2000;157:83-92.
- 59) Lohr M, Klöppel G, Maisonneuve P, Lowenfels AB, Luttges J. Frequency of K-ras mutations in pancreatic intraductal neoplasias associated with pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a meta-analysis. *Neoplasia* 2005;7:17-23.
- 60) Z'graggen K, Rivera JA, Compton CC, Pins M, Werner J, Castilo FC, et al. Prevalence of activating K-ras mutations in the evolutionary stages of neoplasia in intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. *Ann Surg* 1997;226:491-8.
- 61) Yamao K, Ohashi K, Nakamura T, Suzuki T, Shimizu Y, Nakamura Y, et al. The prognosis of intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. *Hepatogastroenterology* 2000;47:1129-34.
- 62) Fukushima N, Mukai K, Kanai Y, Hasebe T, Shimada K, Ozaki H, et al. Intraductal papillary tumors and mucinous cystic tumors of the pancreas: clinicopathologic study of 38 cases. *Hum Pathol* 1997;28:1010-7.
- 63) Nakagohri T, Kinoshita T, Konishi M, Inoue K, Takahashi S. Inferior head resection of the pancreas for noninvasive intraductal papillary mucinous adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2004;51:256-8.
- 64) Seki M, Yanagisawa A, Ohata H, Ninomiya Y, Sakamoto Y, Yamamoto J. Surgical treatment of intraductal papillary-mucinous tumor (IPMN) of the pancreas: operative indications based on surgicopathologic study focusing on invasive carcinoma derived from IPMN. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003;10:147-55.
- 65) Adsay NV, Pierson C, Sarkar F, Abrams J, Weaver D, Conlon KC, et al. Colloid (mucinous noncystic) carcinoma of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2001;25:26-42.
- 66) Naitoh Y, Ban S, Tsuchiya C, Sugiura Y, Shimizu M. Multicentric invasive carcinomas derived from intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the pancreas: report of a case. *Virchows Arch* 2007;450:487-90.
- 67) 伴慎一, 大倉康男, 中村恭一. 大腸 villous tumor の病理組織学的特徴と組織診断. 早期大腸癌 2001;5:81-93.
- 68) Yao T, Kajiwarra M, Kouzuki T, Iwashita A, Tsuneyoshi M. Villous tumor of the colon and rectum with special reference to roles of p53 and bcl-2 in adenoma-carcinoma sequence. *Pathol Int* 1999;49:374-82.