



TITOLO DELLO STUDIO: ADENOCARCINOMA DEL COLON-RETTO MUCINOSO E ANELLO CON CASTONE NEI PAZIENTI CON MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI: STUDIO MULTICENTRICO

VERSIONE 1 DATA DICEMBRE 2022

Promotore no profit: A.O.U Policlinico Tor Vergata, Università degli Studi di Roma Tor Vergata

Co-Promotore: Italian Group for the Study of Inflammatory Bowel Disease (IG-IBD)

Sperimentatore: Prof.ssa Livia Biancone; U.O.C. Gastroenterologia

RAZIONALE DELLO STUDIO

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) includono la malattia di Crohn (CD) e la Rettocolite Ulcerosa (UC). La presenza di IBD di lunga durata (>8/10 anni) localizzata al colon che coinvolge >1/3 del viscere è associata ad un aumentato rischio di sviluppare il cancro del colon retto (CRC)(1). Infatti, la sequenza infiammazione cronica-displasia è un meccanismo patogenetico definito nello sviluppo del CRC nei pazienti con IBD, diverso dalla sequenza adenoma-carcinoma tipica del CRC sporadico (2). Si suppone che l'infiammazione cronica porti ad un danno diffuso del DNA delle cellule epiteliali della mucosa colica differentemente dal CRC sporadico in cui vi è una proliferazione focale di cloni cellulari aberranti (3). Pertanto, multipli foci di cellule mucosali con piccole alterazioni geniche possono essere presenti in più parti del viscere, da cui sembrano sorgere lesioni displastiche (4). Dal punto di vista genetico, come per il CRC sporadico, la maggior parte dei danni genetici porta allo sviluppo di CRC attraverso il pathway dell'instabilità cromosomica e non, come nei pazienti con sindrome di Lynch, attraverso quello dell'instabilità dei microsatelliti (3). Nel pathway dell'instabilità cromosomica sono coinvolti cambiamenti, tra gli altri, a livello dei geni codificanti per APC, TP53 e K-RAS. Sembra che queste alterazioni si verifichino in sequenze diverse tra CRC sporadico e CRC-IBD correlato. Nello specifico, è stato osservato che negli adenomi sporadici la mutazione più comune si verifichi a carico di APC, mentre nelle lesioni IBD-correlate generalmente i precursori neoplastici originano da mutazioni di TP53 (5). Queste differenze potrebbero spiegare la diversa prevalenza della morfologia delle lesioni tra adenoma sporadico e IBD-correlato, che sono più frequentemente non-polipoidi (6). Il rischio di CRC nei pazienti con IBD sembra essere di 1.4-2.2 volte maggiore rispetto alla popolazione generale (7). In particolare, nei pazienti con UC di lunga durata è stimato essere intorno al 3.7% (95% CI 3.2%-4.2%) e paragonabile nei pazienti con CD localizzata al colon (8,9). La durata di malattia è proporzionale al rischio di sviluppare il CRC, con un'incidenza cumulativa dell'1-2% a 10 anni, del 4-8% a 20 anni e del 14-18% a 30 anni dalla diagnosi (8,9). In particolare, alcuni studi hanno dimostrato come la persistente attività di malattia a livello istologico sia correlata ad un aumentato rischio di CRC (10,11). Fattori di rischio aggiuntivi per lo sviluppo del CRC sono la compresenza di colangite sclerosante e la familiarità per CRC (8,12). La difficoltà nel conseguire una diagnosi precoce delle lesioni neoplastiche porta all'osservazione che il CRC nei pazienti con IBD ha generalmente uno stadio più avanzato e presenta una sopravvivenza minore (confermata anche dopo correzione per stadio del CRC)(13,14). Nella popolazione generale l'istotipo di CRC più comune è l'adenocarcinoma "standard". Alcune varianti più rare come l'adenocarcinoma mucinoso e l'adenocarcinoma a cellule con castone sono associate ad un outcome peggiore rispetto all'adenocarcinoma standard. La frequenza di questi due istotipi nella popolazione generale è rispettivamente del 5-15% e dell'1%. L'adenocarcinoma a cellule con castone si caratterizza per la presenza di mucina a livello citoplasmatico che è responsabile del depiazzamento del nucleo (15,16). L'adenocarcinoma mucinoso è definito per la presenza di >50%

di mucina extracellulare che è prodotta dalle cellule acinari (17,18). L'importanza dell'identificazione di questi due istotipi risiede nella diversa sopravvivenza e nei diversi outcomes legati rispetto all'adenocarcinoma standard. Inoltre, è stato osservato che l'adenocarcinoma a cellule con castone generalmente si verifica ad età inferiori e presenta uno stadio più avanzato rispetto agli altri adenocarcinomi del colon (19). Meno evidenze sono invece disponibili per quanto riguarda i pazienti con adenocarcinoma mucinoso del colon, che tuttavia sembra anch'esso associato alla giovane età di insorgenza ed al pathway dell'instabilità dei microsatelliti. Alcuni studi suggeriscono una frequenza maggiore di questi due istotipi nei pazienti con IBD. Una recente review sistematica (20) che ha coinvolto >8000 pazienti con CRC-IBD associato e >810000 pazienti con CRC sporadico ha mostrato che i pazienti con CRC-IBD associato presentano un OR di 2.43 volte maggiore di sviluppare CRC con istotipo mucinoso o a cellule con castone. Lo stesso studio ha inoltre mostrato che la sopravvivenza cancro-specifica ed il grado di differenziazione istologica del CRC erano inferiori nei pazienti con IBD mentre la frequenza di tumori sincroni e la localizzazione al colon destro erano più comuni in questi stessi pazienti (20). La maggiore frequenza di CRC mucinoso e a cellule con castone nei pazienti con IBD è un'osservazione che risale già al 1994, quando è stata in una coorte retrospettiva di 84 pazienti essere del 15-20% e del 6-7% rispettivamente (21). La frequenza di neoplasie incidenti nei pazienti con IBD è stata in passato valutata in studi prospettici IG-IBD in pazienti seguiti fino a 6 anni di follow-up (22,23). Più di recente, in uno studio IG-IBD (24) sono state riportate retrospettivamente le caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti con IBD e CRC incidente relativi ai casi già riportati (23). Tuttavia, in nessuno di questi studi sono stati considerati gli istotipi di CRC né l'outcome dei pazienti in relazione all'istotipo di CRC. Lo stesso non era stato riportato in due studi multicentrici tesi a valutare il rischio di neoplasie associate all'utilizzo degli TNF- α antagonisti (25,26). Considerato l'impatto negativo di questi due istotipi di CRC sull'outcome e sulla sopravvivenza, e la loro maggiore frequenza nei pazienti con IBD, l'individuazione di eventuali fattori di rischio specifici può essere di aiuto nel contesto dello sviluppo di programmi di sorveglianza sempre più adeguati.

OBIETTIVI DELLO STUDIO:

Obiettivo primario: valutare in uno studio prospettico multicentrico, in una coorte di pazienti con IBD e CRC incidente, gli eventuali fattori di rischio per CRC mucinoso ed a cellule con castone.

Obiettivi secondari:

- Valutare, nella stessa coorte di pazienti, l'incidenza di adenocarcinoma del colon-retto di tipo mucinoso e a cellule con castone rispetto alla frequenza dei restanti istotipi di adenocarcinoma del colon-retto.
- Valutare, nella stessa coorte di pazienti, le eventuali differenze in termini di outcome tra CRC mucinoso e/o a cellule con castone e gli altri istotipi di CRC.

MATERIALI E METODI:

- Studio multicentrico, prospettico, osservazionale, no-profit. Dal Gennaio 2023 al Gennaio 2025, verranno arruolati tutti i pazienti con IBD e CRC incidente (qualsiasi istotipo) afferenti ai centri IG-IBD che aderiranno allo studio.
- La diagnosi istologica di ciascun CRC verrà quindi riportata nel database ed al termine dello studio verrà valutata l'incidenza di CRC mucinoso e/o, rispettivamente, CRC a cellule con castone, rispetto ai restanti istotipi di CRC con differente istotipo.
- Al termine dello studio verranno inoltre ricercate caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti con IBD a maggior rischio di sviluppare di CRC mucinoso o, CRC a cellule con castone.



Criteri di inclusione:

- 1) Età >18 anni
- 2) Diagnosi definita di IBD secondo gli attuali criteri standard (27,28)
- 3) Diagnosi definita di CRC con report istologico completo
- 4) Dati clinico-anamnestici di interesse riportati nella cartella clinica

Criteri di esclusione:

- 1) Dati clinici incompleti
- 2) Esame istologico non definito o incompleto.

Definizioni: L'istotipo di CRC sarà definito in base agli attuali criteri della world health organization (WHO)(29) e nello specifico:

- Adenocarcinoma mucinoso: presenza di abbondante mucina extracellulare che rappresenti >50% del volume tumorale.
- Adenocarcinoma a cellule con castone: presenza di >50% di cellule ad anello con castone, caratterizzate dalla presenza di abbondante componente mucinosa intracellulare che depiazza il nucleo.

Il grado di differenziazione, parimenti, sarà definito come (29):

- Adenocarcinoma ben differenziato: >95% della neoplasia forma ghiandole.
- Adenocarcinoma moderatamente differenziato: 50-95% della neoplasia forma ghiandole
- Adenocarcinoma scarsamente differenziato: neoplasia solida con

Lo stadio del CRC sarà valutato secondo lo score TNM corrente.

La sede del CRC sarà distinta in:

- Colon destro: dal cieco al colon trasverso
- Colon sinistro: dalla flessura splenica alla giunzione retto-sigma
- Retto

Disegno di studio:

Saranno arruolati nello studio in modo prospettico tutti i pazienti con IBD e CRC incidente, in regolare follow up presso i centri IG-IBD che aderiranno allo studio.

Verranno quindi riportati per ciascun paziente i dati demografici e clinici, nonché le caratteristiche istologiche e di staging del CRC, come sotto indicato.

RACCOLTA DEI DATI:

I dati clinici e demografici verranno registrati in un database che comprenderà: 1) tipo di IBD (MDC vs RCU); 2) localizzazione della malattia di Crohn (ileo, L1; colon, L2; ileo-colon, L3; upper, L4) ed estensione della Rettocolite Ulcerosa (proctite, E1; sinistra, E2, estesa, E3)(30); 3) fenotipo del MDC (non-penetrante, non stenosante, B1; stenosante, B2, penetrante, B3)(secondo i criteri di Montreal)(30); 4) età alla diagnosi di IBD; 5) durata della IBD (mesi); 6) storia di malattia perianale (si/no); 7) fumo di sigaretta (si/no-ex); 8) familiarità per CRC (si/no); 9) concomitante colangite sclerosante (si/no); 10) storia di pregresse polipectomie (si/no, sede e tipo polipo e displasia); 11) pregresse terapie per la IBD (steroidi, tiopurine, methotrexate, terapie biologiche: si/no, durata);

12) età alla diagnosi di CRC; 13) sede del CRC (colon destro, sinistro, retto); 14) grado di differenziazione (differenziato, G1; moderatamente differenziato, G2, non differenziato, G3); 15) istotipo; 16) stadio (TNM); 17) intervento chirurgico (si/no, tipo); 18) radicalità chirurgica (si/no, tipo); 19) chemioterapia neoadiuvante (si/no, tipo); 20) radioterapia neoadiuvante (si/no, tipo); 21) chemioterapia adiuvante (si/no, tipo); 22) radioterapia adiuvante (si/no, tipo); 23) decesso (si/no); 24) decesso CRC-correlato (si/no); 25) follow-up (si/no, durata).

ANALISI STATISTICA

Il sample size relativo alla valutazione dei fattori di rischio specifici IBD-correlati per CRC, a cellule con castone o mucinoso, è stato calcolato facendo riferimento al modello statistico della regressione logistica binaria multivariata che, in questo particolare caso, prevede il coinvolgimento di 12 variabili esplicative o covariate o concomitanti, elencate a seguire. Pertanto, con riferimento al modello approntato da Kleinbaum, Kupper e Muller (31) si prevede, con un livello di significatività statistica dello 0,05 ed una potenza del test pari al 90%, una numerosità pari a 120 pazienti. In relazione alle attuali conoscenze relative ai fattori di rischio per CRC, per il calcolo della numerosità campionaria verranno difatti considerati i seguenti 12 fattori di rischio per cancro del colon retto: età, genere, durata IBD, estensione della rettocolite ulcerosa, malattia di Crohn con fenotipo fistolizzante, pregressi adenomi o tumori del colon-retto, familiarità di I grado per cancro del colon-retto, colangite sclerosante, malattia perianale, pregressa chirurgia IBD-correlata, pregressa terapia biologica, pregressa terapia immunosoppressiva.

I dati raccolti saranno analizzati mediante statistica descrittiva (media, mediana e range). Le differenze statistiche saranno valutate mediante t-test di Student (previa valutazione della normalità di Shapiro-Wilk), tramite il test Rho di Spearman per le variabili qualitative e test del chi quadro (o test di Wald). Per la valutazione dei fattori predittivi di CRC mucinoso e a cellule con castone verranno eseguite analisi univariata e multivariata. La sopravvivenza sarà valutata mediante l'analisi di Kaplan-Meier. La significatività statistica sarà definita per valori di $p < 0.05$.

Bibliografia:

1. Murthy SK, Feuerstein JD, Nguyen GC, Velayos FS. AGA Clinical Practice Update on Endoscopic Surveillance and Management of Colorectal Dysplasia in Inflammatory Bowel Diseases: Expert Review. *Gastroenterology*. 2021; 161 (3): 1043-1051.
2. Wijnands AM, Mahmoud R, Lutgens MWMD, Oldenburg B. Surveillance and management of colorectal dysplasia and cancer in inflammatory bowel disease: Current practice and future perspectives. *Eur J Intern Med*. 2021 Nov; 93:35-41.
3. Itzkowitz SH. Molecular biology of dysplasia and cancer in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2006; 35:553-71.
4. Lai LA, Risques RA, Bronner MP, et al. Pan-colonic field defects are detected by CGH in the colons of UC patients with dysplasia/cancer. *Cancer Lett* 2012;320: 180-8.
5. Horvath B, Liu G, Wu X, et al. Overexpression of p53 predicts colorectal neoplasia risk in patients with inflammatory bowel disease and mucosa changes indefinite for dysplasia. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2015; 3: 344-9.
6. Mahmoud R, Shah SC, Torres J, et al. Association between indefinite dysplasia and advanced neoplasia in patients with inflammatory bowel diseases undergoing surveillance. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020;18:1518-27. e3.
7. Beaugerie L, Itzkowitz SH. Cancers complicating inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 2015;372:1441-145.
8. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a metaanalysis. *Gut* 2001;48:526-35.

9. Herrinton LJ, Liu L, Levin TR, et al. Incidence and mortality of colorectal adenocarcinoma in persons with inflammatory bowel disease from 1998 to 2010. *Gastroenterology* 2012;143:382–9.
10. Rutter M, Saunders B, Wilkinson K, Rumbles S, Schofield G, Kamm M, Williams C, Price A, Talbot I, Forbes A. Severity of Inflammation Is a Risk Factor for Colorectal Neoplasia in Ulcerative Colitis *Gastroenterology* 2004; 126: 451-459.
11. Gupta RB, Harpaz N, Itzkowitz S, Hossain S, Matula S, Kornbluth A, Bodian C, Ullman T. Histologic Inflammation Is a Risk Factor for Progression to Colorectal Neoplasia in Ulcerative Colitis: A Cohort Study. *Gastroenterology*. 2007 October ; 133 (4): 1099-1105.
12. Soetikno RM, Lin OS, Heidenreich PA, Young HS, Blackstone MO. Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc*. 2002; 56 (1): 48-54.
13. Ou B, Zhao J, Guan S, et al. Survival of colorectal cancer in patients with or without inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2016;61:881–9.
14. Olen O, Erichsen R, Sachs MC, et al. Colorectal cancer in ulcerative colitis: a Scandinavian population-based cohort study. *Lancet* 2020;395:123–31.
15. Borger ME, Gosens MJ, Jeuken JW, et al. Signet ring cell differentiation in mucinous colorectal carcinoma. *J Pathol*. 2007; 212:278–286. [PubMed: 17471475]
16. Messerini L, Palomba A, Zampi G. Primary signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Diseases of the colon and rectum*. 1995; 38:1189–1192. [PubMed: 7587762]
17. Symonds DA, Vickery AL. Mucinous carcinoma of the colon and rectum. *Cancer*. 1976; 37:1891-1900. [PubMed: 177180]
18. Parham D. Colloid Carcinoma. *Annals of surgery*. 1923; 77:90–105. [PubMed: 17864773]
19. Kang H, O'Connell JB, Maggard MA, et al. A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 2005; 48:1161–1168. [PubMed:15868237]
20. Lu C, Schardey J, Zhang T, Crispin A, Wirth U, Karcz KW, Bazhin AV, Andrassy J, Werner J, Kühn F. Survival Outcomes and Clinicopathological Features in Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Surg*. 2021. doi: 10.1097/SLA.0000000000005339. Online ahead of print. PMID: 34913897
21. Choi PM, Zelig MP. Similarity of colorectal cancer in Crohn's disease and ulcerative colitis: implications for carcinogenesis and prevention. *Gut* 1994; 35; 950–954.
22. Biancone L, Armuzzi A, Scribano ML, D'Inca R, Castiglione F, Papi C, Angelucci E, Daperno M, Mocciaro F, Riegler G, Fries W, Meucci G, Alvisi P, Spina L, Ardizzone S, Petruzzello C, Ruffa A, Kohn A, Vecchi M, Guidi L, Di Mitri R, Renna S, Emma C, Rogai F, Rossi A, Orlando A, Pallone F; Italian Group for the study of Inflammatory Bowel Disease. inflammatory bowel disease phenotype as risk factor for cancer in a prospective multicentre nested case-control IG-IBD Study. *Journal of Crohn's and Colitis* 2016; 10; 913-924; doi:10.1093/ecco-jcc/jjw048.
23. Biancone L, Armuzzi A, Scribano ML, Castiglione F, D'Inca R, Orlando A, Papi C, Daperno M, Vecchi M, Riegler G, Fries W, Alvisi P, Meucci G, Mocciaro F, Rogai F, Festa S, Guidi L, Testa A, Spina L, Renna S, Viola A, Patturelli M, Di Mitri R, Frankovic I, Calabrese E, Petruzzello C, De Cristofaro E, Sena G, Ruffa A, Neri B, Rossi A. Cancer risk in Inflammatory Bowel Disease: A 6-year prospective multicenter nested casecontrol IG-IBD study. *Inflammatory Bowel Diseases* 2020; 26(3): 450-459. doi: 10.1093/ibd/izz155.
24. Neri B, Scribano ML, Armuzzi A, Castiglione F, D'Inca R, Orlando A, Festa S, Riegler G, Fries W, Meucci G, Alvisi P, Mocciaro F, Papi C, Mossa M, Sena G, Guidi L, Testa A, Renna S, Frankovic I, Viola A, Patturelli M, Chiaramonte C, Biancone L, On Behalf Of Ig-Ibd Italian Group For The Study Of Inflammatory Bowel Disease. Incident colorectal cancer in Inflammatory Bowel Disease. *Cancers (Basel)*. 2022 Jan 30;14(3):721. doi: 10.3390/cancers14030721



25. Biancone L, Orlando A, Kohn A, Colombo E, Sostegni R, Angelucci E, Rizzello F, Castiglione F, Benazzato L, Papi C, Meucci G, Riegler G, Petruzzello C, Mocciaro F, Geremia A, Calabrese E, Cottone M, Pallone F. Influximab and newly diagnosed neoplasia in Crohn's disease: a multicentre matched pair study. *Gut* 2006; 55: 228-233. doi: 10.1136/gut.2005.075937.
26. Biancone L, Petruzzello C, Orlando A, Kohn A, Ardizzone S, Daperno M, Angelucci E, Castiglione F, D'Inca R, Zorzi F, Papi C, Meucci G, Riegler G, Sica G, Rizzello F, Mocciaro F, Onali S, Calabrese E, Cottone M, Pallone F. Cancer in Crohn's Disease patients treated with infliximab: a long-term multicenter matched pair study. *Inflammatory Bowel Diseases* 2011; 7;758-766.doi:10.1002/ibd.21416.
27. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, Burisch J, Gecse KB, Hart AL, Hindryckx P, Langner C, Limdi JK, Pellino G, Zagórowicz E, Raine T, Harbord M, Rieder F; European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO]. Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J Crohns Colitis*. 2017; 11(6):649-670.
28. Gomollòn F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, Peyrin-Biroulet L, Cullen GJ, Daperno M, Kucharzik T, Rieder F, Almer S, Armuzzi A, Harbord M, Langhorst J, Sans M, Chowers Y, Fiorino G, Juillerat P, Mantzaris GJ, Rizzello F, Vavricka S, Gionchetti P; ECCO. 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: Part 1: diagnosis and medical management. *J Crohns Colitis*. 2017; 11(1): 3-25.
29. Lu C, Schardey J, Zhang T, Crispin A, Wirth U, Karcz KW, Bazhin AV, Andrassy J, Werner J, Kühn F- Survival Outcomes and Clinicopathological Features in Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Surg* 2021 Dec doi: 10.1097/SLA.0000000000005339. Online ahead of print.
30. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*. 2006; 55 (6): 749-753.
31. Kleinbaum, D.G., Kupper, L.L. and Muller, K.E. (1988) Variable Reduction and Factor Analysis. *Applied Regression Analysis and Other Multivariable Methods*. PWS Kent Publishing Co., Boston, 595-640.

Proponente:

Livia Biancone, M.D., Ph.D.
Professore Ordinario di Gastroenterologia
Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"
Via Montpellier, 1
00133 Roma

Responsabile Programma Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali
Policlinico "Tor Vergata"
Viale Oxford, 81
00133 Roma
Tel. 338-1806848
Tel. +39.6.20903737; +39.6.20908390
E-mail: biancone@med.uniroma2.it