

14-12 大腸腫瘍性病変における腺口構造の診断学的意義の解明に関する研究

主任研究者 昭和大学横浜市北部病院 工 藤 進 英

研究成果の要旨

本研究の成果については、Ⅰ型ピットパターンの統一化を図ったこと、潰瘍性大腸炎合併大腸腫瘍の診断におけるピットパターン観察の有用性を検討したこと、新しい手法による腺口構造の解析を行ったことである。Ⅰ型ピットパターンは、不規則な腺口構造を示すⅠ型と、無構造なⅡ型とに亜分類されるが、従来の問題点として、両者の境界認識が困難であることが指摘されていた。従来、間質反応が著明で完全に無構造なもの（狭義のⅡ型）に加えて、高度不整腺管からなるものや、ピットの荒廃・破壊を認めるものもⅡ型に含める（広義のⅡ型）立場があったが、今後は狭義のⅡ型のみをⅡ型と呼ぶことにし、不整腺管構造をⅠ型、明らかな無構造領域を有するものをⅡ型と定義しなおすこととした。新たな亜分類におけるⅡ型 pit pattern の sm 深部浸潤の診断能は、すべての肉眼型で通常観察より精度が高く、拡大観察は正診率の向上に有用であった。

研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
工藤 進英	昭和大学横浜市北部病院 教授	大腸腫瘍性病変における腺口構造の解明と診断治療への応用
田中 信治	広島大学医学部 助教授	腺口構造解析による腫瘍の病態分析
佐野 寧	国立がんセンター東病院 医長	拡大内視鏡を用いた腫瘍・非腫瘍性病変の鑑別と非腫瘍性病変からの腫瘍化の予測
西倉 健	新潟大学医学部 講師	大腸腫瘍の腺口構造に関する病理学的解析
田村 智	高知大学医学部 助教授	大腸腫瘍性病変の腺口形態と腺管の三次元構造に関する研究
鶴田 修	久留米大学第2内科 助教授	Ⅱ型 pit 亜分類の意義とその組織構築
小泉 浩一	東京都立駒込病院 医長	通常ならびに NBI 内視鏡による腺口観察での内視鏡切除可能 sm 癌の診断能

総括研究報告

1 研究目的

本研究の目的は、大腸腫瘍性病変にみられる腺口構造（ピットパターン）の特徴的な変化を実証的に解明するとともに、その診断学的な意義を明らかにすることである。昨年度は、癌の表面構造の主体をなすⅠ型ピットパターンの認識が施設によって微妙に異なり、使用されて

いる亜分類にも差異が存在することが示された。今年度は、ピットパターン診断における施設間の認識の相違を解消し、より普遍的で国際的にも通用する分類を作成することを目標とした。

2 研究成果

本年度の成果は、Ⅰ型ピットパターンの統一化を図ったこと、潰瘍性大腸炎合併大腸腫瘍の診断におけるピットパターン観察の有用性を検討したこと、新しい手法による腺口構造の解析を行ったことである。

1) Ⅰ型ピットパターンの検討

Ⅰ型ピットパターンは、不規則な腺口構造を示すⅠ_Ⅰ型と、無構造なⅠ_Ⅱ型とに亜分類されるが、従来の問題点として、両者の境界認識が困難であることが指摘されていた。どの程度の領域があればⅠ_Ⅱ型と捉えられるのか、scratch sign は、ピット様構造を呈するがⅠ_Ⅱ型と認識できるのか、一方 invasive pattern という概念がsm 癌の指標となり得るのか、など、決着をみていない問題があった。Ⅰ型ピットパターンの統一に向けて、基本理念として、(1) 簡便である(2) 理解しやすく、初学者や外国人も理解できる(3) 分類に意味があり、深達度診断や治療方針決定のための指標になる(4) 過去長年の研究に基づいた知見を反映させる、などを重視するし、不整腺管構造をⅠ_Ⅰ型、明らかな無構造領域を有するものをⅠ_Ⅱ型と定義することとした。従来、DR 著明な完全に無構造なもの(狭義のⅠ_Ⅱ型)に加えて、高度不整腺管からなるものや、ピットの荒廃・破壊を認めるものもⅠ_Ⅱ型に含める(広義のⅠ_Ⅱ型)立場があったが、今後は狭義のⅠ_Ⅱ型のみをⅠ_Ⅱ型と呼ぶことにした。ただし、従来 sm 癌の指標として用いられてきた“invasive pattern”“高度不整腺管群”“scratch sign”などの用語は付記してよいものとした。“明らかな無構造領域”の定義については、今後 prospective study などで客観化を図り、また、軽度不整腺管と高度不整腺管の境界についても今後の研究で明らかにしていく必要がある。以上のような合意がなされた。この班研究でⅠ_Ⅰのさらなる検討を継続する予定である。

拡大内視鏡による sm 浸潤度診断能について検討した。対象は拡大観察および実体顕微鏡観察を行った Isp, Ip 型を除く早期大腸癌 76 例(m 癌 8 例, sm 癌 68 例)である。Ⅰ_Ⅱ型 pit pattern は、その程度により Grade A: 通常観察では分からないが拡大観察することにより微小な無構造領域の散在を認める状態, Grade B: Grade A と Grade C の中間, Grade C: 白苔を伴う広範囲の無構造領域(癌性潰瘍)を呈する状態、の 3 つに細分類した。また実体顕微鏡観察下でⅠ_Ⅱ型 pit pattern 領域の長径と sm 浸潤実測値の関連を検討した。Ⅰ_Ⅱ型 pit pattern を呈した病変のうち Grade A は 27 病変, Grade B は 29 病変, Grade C

は 20 病変であった。Ⅰ_Ⅱ型 pit pattern 亜分類における sm 浸潤実測値の平均は, Grade A $637.2 \pm 651.2 \mu\text{m}$, Grade B $2036.7 \pm 1256.3 \mu\text{m}$, Grade C $3689.3 \pm 1352.6 \mu\text{m}$ であり, Grade A に比べ Grade B、Grade C で有意に深かった。sm 浸潤実測値 $1500 \mu\text{m}$ 以上の割合は Grade A 4% (1/27), Grade B 72% (21/29), Grade C 95% (19/20) で、Grade B・C 例は Grade A 例に比べ有意に多かった。また、Ⅰ_Ⅱ型 pit pattern 部の長径と sm 浸潤実測値は有意な相関を示し ($r=0.856$, $p<0.0001$)、Ⅰ_Ⅱ型 pit pattern 部の長径が 5mm 以上の病変では、sm 浸潤実測値 $1500 \mu\text{m}$ 以上の割合が 89% (16/18) であった。sm 浸潤実測値 $1,500 \mu\text{m}$ の術前予測診断にⅠ_Ⅱ型 pit pattern 亜分類が有用であることが明らかになった。

早期大腸癌内視鏡的切除後根治判定基準の一つとして sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ という基準が大腸癌研究会から提案されたので、これに基づいて、新たに「sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ 」を指標にして通常観察と拡大観察の sm 浸潤度診断能を比較検討した。対象は、詳細な拡大観察が可能であった早期大腸癌 482 例(隆起型 210 例、表面型 188 例、結節集簇型 84 例、うち sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ 以深 77 例)である。sm 浸潤 $1,000 \mu\text{m}$ の通常観察診断能は、有所見 2 項目以上を拾い上げにより、各肉眼型別に検討した。sm 浸潤 $1,000 \mu\text{m}$ の拡大観察診断能は、pit 診断により、各肉眼型別に検討した。いずれも卒後 10 年未満の内視鏡医 3 人が診断を行った。なお、通常観察による sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ の有所見は、あらかじめ卒後 10 年以上の内視鏡医 3 人が各肉眼型別に retrospective に検討した有所見を用いた。(検討項目: ひだ集中、緊満感、壁硬化像、発赤、易出血性、びらん、白苔、凹凸不整、表面粗造、表面の崩れ、陥凹の有無)。結果は、通常観察による sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ 以深の正診率は、隆起型 84%、表面型 87%、結節集簇型 67% であった。拡大観察によるⅠ_Ⅱ pit pattern の sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ 以深の正診率は、隆起型 97%、表面型 97%、結節集簇型 100% で、いずれの肉眼型においても通常観察より有意に高かった ($p<0.01$)。Ⅰ_Ⅱ型 pit pattern の新たな亜分類におけるⅠ_Ⅱ pit pattern の sm 浸潤度 $1,000 \mu\text{m}$ の診断能は、すべての肉眼型で通常観察より精度が高く、拡大観察は正診率の向上に有用であった。

2) 潰瘍性大腸炎合併大腸腫瘍におけるピットパターンの検討

潰瘍性大腸炎合併大腸癌は、早期発見が困難で予後不良であることより、以前から surveillance colonoscopy と random step biopsy が施行されてきた。しかし、より確

実な診断方法の確立が望まれる。拡大内視鏡の発達やピットパターン診断の普及により、肉眼的に癌や dysplasia の疑わしい部位を同定し、そこを狙った target biopsy によって、より確実に潰瘍性大腸炎合併大腸癌を発見する方法が期待される。high grade dysplasia や cancer では、ピットの増大や不規則化、消失などの所見が認められるが、low grade dysplasia ではピット間隔の増大の傾向はあるが、非腫瘍性炎症性粘膜との鑑別は困難であることが判明した。従来のピットパターン分類と比較すると、dysplasia や cancer では、III 型や IV 型に類似した腺口構造を、緩解期粘膜は II 型に類似した表面模様を呈していたが、活動性炎症部位ではピットパターン同定が困難であった。また、ほとんどの症例で粘膜病変を残したまま深部浸潤しており、間質反応が評価できないため、ピットパターンによる深達度診断は現時点では困難であった。

3) 新しい手法による腺口構造の解析

a. Narrow band imaging (NBI) system を用いた pit pattern 診断

消化管の腫瘍は上皮から発生するが(粘膜下腫瘍は除く)これらを内視鏡で効率良く早期発見するには粘膜表層の微細構造(pit pattern、毛細血管構築など)の変化を高感度で捉える内視鏡が適するはずである。このような内視鏡システムを実現するために、1999 年より光の生体組織への深達度の波長依存性を考慮した、内視鏡照明光源の改良を検討してきた。

一般的に、波長の短い光は生体への深達度が浅く、表面付近で散乱吸収を受け反射光として観測される。一方で、波長が長くなれば、光は生体深く伝播し、その一部は透過光となる。このような深達度の波長依存性は、主に血液の特異な吸収特性と、生体組織の散乱特性の波長依存性によるものと考えられる。したがって、粘膜表層の微細構造の変化に感度を合わせるには、内視鏡の感度特性を短波長側にシフトさせれば良いことになる。電子内視鏡システムの一方式である面順次方式に着目し、照明光の分光特性を変更することでこれを実現した。面順次方式は、白色光源の前面に RGB 3 枚の光学フィルタを装着したターレットが高速に回転することで 3 色光を時系列的に照射し、各色光に対応するモノクロ画像を順次信号処理することでカラー画像を生成するシステムである。NBI では、この RGB 3 つのフィルタ特性の中心波長を調整し、半値幅を通常用いられているフィルタ特性より狭帯域化している。現在のプロトタイプ機器では、手元操作で通常光、NBI 観察が瞬時に切り替え可能とな

り”digital chromoendoscopy”ともいえる内視鏡観察が容易に可能となっている。

大腸病変を対象にした pilot study の結果からは NBI は通常観察群と比較し視認性(病変の毛細血管、周囲とのコントラスト、病変表面の pit pattern 構造)が有意に向上し($P < 0.05$)、腫瘍・非腫瘍の鑑別能(病理を正解とした正診率)は通常観察 79.1%より、NBI 93.4%へ向上することが確認されており、本臨床試験で大腸腫瘍の効率的な発見に寄与することがランダム化比較試験で示されれば、スクリーニング検査への応用が期待される。

また、内視鏡技術の向上、内視鏡の高画素化や色素内視鏡の普及により多くの大腸病変が見つかるようになってきたが、腫瘍が非腫瘍の鑑別は治療する必要の有無を決める上で必須な内視鏡診断である。大腸の非腫瘍性病変はほとんどが過形成性ポリープであり、頻度的には全ポリープの約 10-30%と多くを占めている。さらに、5mm 以下の場合、40-60%が過形成性ポリープに及ぶ報告もある。NBI 観察は表面構造観察能の向上が確認されており、大腸病変切除の効率化にも寄与する可能性がある。

現段階での NBI system の臨床応用効果として、1) 毛細血管構築の描出の向上、2) 表面構造観察能の向上が確認されており、内視鏡の更なる発展につながる可能性があると考えている。今後の展望・問題点としては、1) 観察される画像の基礎的・病理組織学的対比の必要性(何をみているのかの再確認)、2) 光量の確保(存在診断への応用)などが考えられ、研究を継続中である。

b. 大腸腫瘍性病変の腺口形態と腺管の三次元構造に関する研究

内視鏡的 pit pattern に観察される pit pattern は何を見ているのか、どのような腺管を反映しているのか、という疑問に答えを出すためには、2 次元的なプレパラートによる垂直断面像からの検討のみでは、推測の域を脱しえず不十分である。しかし、腺管の再構築から、その三次元構造を求めることは膨大な労力と時間を要するため、これまで殆ど行われなかった。この pit pattern と対応する腺管の三次元構造を、腺管単離という手法を用いて検討した。内視鏡的ないし外科的に切除された標本を、ホルマリン固定後に実体顕微鏡観察を行い、割を入れた後、対応する腺管の観察を目的とする pit pattern の部分を単離に供した。採取する標本は、腺腫や m 癌では病理診断に差し支えない部位(均一な部分の辺縁等)とした。腺管の単離は塩酸消化法にて行った。

pit pattern 分類の、実体顕微鏡像と各腺口形態に対応する単離腺管を提示した。I 型 pit pattern に対応す

る正常腺管は、表面平滑な試験管状であり分枝や結節は認めなかった。II型 pit pattern に対応する過形成腺管は、腺底部から裂開するような分枝状であるが表面平滑で結節は認めなかった。III型 pit pattern に対応する腫瘍腺管は、小結節や切れ込みを伴う逆三角形ないし舌状であり、表面はI型やII型の対応腺管に比し粗造であった。IIIs型 pit pattern に対応する腫瘍腺管は、表面はI型やII型の対応腺管に比しやや粗であるが分枝や結節のない単一の腺管で、腺底部(粘膜筋板に接する位置)で先細りし屈曲していた。IV型 pit pattern に対応する腫瘍腺管は、ここに提示した分枝を伴う長く伸びた腺口形態を反映して、分枝や結節を伴う表面粗造な腺管であった。V型 pit pattern に対応する腺管は、統一性を欠く様々な構造を呈する、“奇怪な”形態の腺管の集合からなっていた。

3 倫理面への配慮

倫理面への配慮については、一般の大腸内視鏡検査と同様に、予め充分口頭および文書で説明してインフォームド・コンセントを得た。得られた結果に関しては、個人が特定できないように、プライバシーの保護に配慮した。遺伝子の解析については、施設倫理委員会の承認を得て実施している。

研究成果の刊行発表 外国語論文

1. Huang, Q., Kudo, S., et al. Interobserver and intra-observer consistency in the endoscopic assessment of colonic pit patterns. *Gastrointest Endosc*, 60:520-526, 2004.
2. Inoue, H., Kudo, S., et al. In vivo observation of living cancer cells in the esophagus, stomach, and colon using catheter-type contact endoscope, “Endo-Cytoscopy system”. *Gastrointes Endoscopy Clin N Am*, 14:589-594, 2004.
3. Hirono, H., Nishikura, K., et al. Bidirectional gastric differentiation in cellular mucin phenotype (foveolar and pyloric) in serrated adenoma and hyperplastic polyp of the colorectum. *Pathol Int*, 54:401-407, 2004.
4. Sano, Y., et al., A novel endoscopic device for retrieval of polyps resected from the colon and rectum. *Gastrointest Endosc*, 59:716-719, 2004.

5. Sano, Y., et al., Endoscopic mucosal resection and submucosal dissection method for large colorectal tumors. *Dig Endoscopy*, 16:s93-s96, 2004.
6. Sano, Y., et al., A multicenter randomized controlled trial designed to evaluate follow-up surveillance strategies for colorectal cancer: the Japan Polyp Study. *Dig Endoscopy*, 16: 376-378, 2004.
7. Fu, K.I., Sano, Y., et al., Chromoendoscopy using indigo-carmin dye-spraying with magnifying observation. Is the most reliable method for differential diagnosis between non-neoplastic and neoplastic colorectal lesions? A prospective study. *Endoscopy*, (in press)
8. Machida, H., Sano, Y., et al., Narrow band imaging for differential diagnosis of colorectal mucosal lesions: a pilot study. *Endoscopy*, (in press)
9. Sano, Y., Saito, Y., et al., Efficacy of magnifying chromoendoscopy for the differential diagnosis of colorectal lesions. *Dig Endoscopy*, (in press)
10. Sano, Y., Tanaka, S., et al., Endoscopic appearance of 0-IIc neoplastic colorectal lesions. *Endoscopy*, (in press)
11. Yano, T., Sano, Y., et al., Distribution and prevalence of colorectal hyperplastic polyps using magnifying pan-mucosal chromoendoscopy and its relationship with synchronous colorectal cancer: a prospective study. *J Gastro Hepatol*, (in press)
12. Ochiuni, T., Tanaka, S., et al., Clinical significance of angiopoietin-2 expression at the deepest invasive tumor site of advanced colorectal carcinoma. *Int J Oncol*, 24:539-547, 2004.
13. Oka, S., Tanaka, S., et al., Clinicopathologic and endoscopic features of colorectal serrated adenoma: differences between polypoid and superficial types. *Gastrointest Endosc*, 59:213-219, 2004.
14. Onogawa, Y., Tanaka, S., et al., Expression of VEGF-C and VEGF-D at the invasive edge correlates with lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal carcinoma. *Cancer Sci*, 95:32-39, 2004.

15. Kuwai, T., Tanaka, S., et al., Mutation of the von hippel-lindau(VHL)gene in human colorectal carcinoma: association with cytoplasmic accumulation of hypoxia-inducible factor(HIF)-1 α . Cancer Sci, 95:149-153, 2004.
16. Onogawa, Y., Tanaka, S., et al., Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D expression by the organ microenvironment in human colon carcinoma. Eur J Cancer, 40:1604-1609, 2004.
17. Tanaka, S., et al., The state-of-the-art of endoscopic treatment of colorectal stenosis in Japan: survey of participating institutions in endoscopy forum Japan. Digestive Endoscopy, 16:S64-S65, 2004.
18. Tamura, S., Nakajo, K., Evaluation of endoscopic mucosal resection for laterally spreading rectal tumors. Endoscopy, 36:306-312, 2004.
19. Tadokoro, T., Tamura, S., et al., Evaluation of tumor development from a viewpoint of the three-dimensional configuration of isolated crypts in colorectal adenomas with a type III L pit pattern. J Gastroenterol, 39:635-639, 2004.
20. Iwama, T., Koizumi, K., et al., A clinical overview of familial adenomatous polyposis derived from the database of the polyposis registry of Japan. Int J Clin Oncol, 9:308-316, 2004
8. 田中信治、陥凹型大腸癌の IIc について、Medical Practice 21 : 1200、2004
9. 田中信治、他、早期大腸癌・内科治療の進歩、日消誌 101 : 486-494、2004
10. 田中信治、大腸腫瘍に対する拡大内視鏡観察・V 型 pit pattern 診断の問題、胃と腸 39 : 743-745、2004
11. 田中信治、他、大きな表面陥凹型腫瘍の臨床的位置づけ、早期大腸癌 8 : 225-227、2004
12. 田中信治、他、表在型早期大腸癌の内視鏡診断、消化器内視鏡 16 : 502-505、2004
13. 田中信治、他、表面型早期大腸癌の内視鏡的粘膜切除術－適応・切除手技選択と治療成績－、Gastroenterological Endosc, 46 : 243-252、2004
14. 味岡洋一、西倉 健、他、Colitic cancer と dysplasia の拡大観察と病理形態、消化器内視鏡 16: 1189-1196、2004
15. 田村 智、他、腫瘍径 20mm の II c 型大腸 sm 癌の 1 例、早期大腸癌、8:230-231、2004
16. 田村 智、他、Pit pattern -大腸腫瘍の診断と発育進展へのアプローチ、早期大腸癌、8:285-291、2004
17. 河野弘志、鶴田 修、他、早期大腸癌の深達度診断、通常内視鏡、拡大内視鏡および超音波内視鏡を用いて、消化器外科、27:295-303、2004
18. 鶴田 修、早期大腸癌 -診断の進歩-、日本消化器病学会雑誌、101:477-485、2004
19. 吉森建一、鶴田 修、他、大腸癌の内視鏡的治療法、臨床と研究 81:1413-1417、2004
20. 千野晶子、小泉浩一、他、10mm の表面陥凹型腺腫内癌の 1 例、早期大腸癌、8:245-246、2004

日本語論文

1. 工藤進英、倉橋利徳、他、大腸腫瘍に対する拡大内視鏡観察と深達度診断、胃と腸 39 : 747-752、2004
2. 遠藤俊吾、工藤進英、他、大腸 sm 癌のサーベイランス法 b. 外科的切除後、早期大腸癌 18:127-131、2004
3. 竹内 司、工藤進英、他、10mm 以上の表面陥凹型腫瘍 Pit Pattern の特徴、早期大腸癌 8:189-196、2004
4. 原 栄志、工藤進英、他、精査患者を対象とした大腸陥凹型腫瘍の頻度 早期大腸癌 8 : 15-20、2004
5. 石田文生、工藤進英、他、LST 由来の進行癌の臨床病理学的特長 早期大腸癌 7 : 121-127、2004
6. 倉橋利徳、工藤進英、他、大腸 sm 癌摘除後のサーベイランス 消化器内視鏡 15 : 971-978、2004
7. 味岡洋一、工藤進英、他、Ⅱ型 pit pattern 診断の現状と問題点、胃と腸 39: 769-791、2004