

主論文の要旨

***In vivo* histological diagnosis for gastric cancer
using endocytoscopy**

〔 Endocytoscopy を用いた胃癌の生体内組織学的診断 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 消化器内科学分野

(指導：後藤 秀実 教授)

鶴留 一誠

【緒言】

近年の消化器内視鏡診断技術の進歩は著しく、拡大内視鏡や新たな画像強調観察法の出現により、内視鏡診断の精度は向上している。消化管悪性腫瘍診断のゴールドスタンダードは病理組織診断であり、確定診断には内視鏡下生検が必須である。しかし、近年超拡大観察を可能とする内視鏡として、**Confocal endomicroscopy** と **Endocytoscopy** が開発され、生体内での生きた細胞の観察が可能となっている。**Confocal endomicroscopy** では蛍光色素を使用することで細胞が染色され、構造異型を評価することができるが、核は染色されず、核異型を評価することはできない。一方、**Endocytoscopy** では色素散布することにより細胞と核が染色され、病理組織診断に匹敵する画像を得ることが可能となり、生検組織を採取することなく、リアルタイムに組織学的診断を行う仮想生検への応用が期待されている。これまでに食道癌と大腸癌において、**Endocytoscopy** による仮想生検の有用性が報告されているが、胃癌を生体内で評価した報告はこれまで少ない。そこで本研究では、胃癌に対する生体内 **Endocytoscopy** 画像を病理組織像と対比し、仮想生検の有用性を検討した。

【方法】

2011年1月から2012年10月までに名古屋大学医学部附属病院にて **Endocytoscopy** 検査を施行した早期胃癌30例(分化型癌26例、未分化型癌4例)を対象とした。本研究は名古屋大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を得ており、全ての患者より **informed consent** が得られた。**Endocytoscope (GIF-Y0002, Olympus社, Tokyo, Japan)** を胃内に挿入後、**CM混合液(0.05%クリスタルバイオレット+0.1%メチレンブルー)** を観察部位に散布し、スコープ先端を病変部に接触させ、手元のレバーで拡大倍率を調節し、超拡大観察(最大拡大倍率380倍)を行った。**Endocytoscopy** にて腫瘍部と周辺の非腫瘍部を観察し、得られた画像を前情報の無い内視鏡専門医1名と病理専門医1名が評価し、**Endocytoscopy** 診断と病理組織診断を比較した。

1) **Endocytoscopy** 画像と病理組織像との対比

観察部位より生検もしくは内視鏡切除を行い、粘膜面に対して水平方向に組織像を作成した。標本は **hematoxylin** と **eosin** で染色され、病理専門医は **the revised Vienna Consensus** に従って病理診断を行った。**The revised Vienna classification** で **Category 4** と判定された病変は胃癌としたが、**category 3** と判定された病変は胃腺腫として、本研究において胃癌の範疇から除外した。

2) **Endocytoscopy** 画像の評価

得られた **Endocytoscopy** 画像は、臨床情報を盲目化された内視鏡専門医 A と病理専門医 B により個別に解析された。判定医は撮影医により選択された 3 枚の写真を読影し、画質を評価可能(核や腺管構造が判定可能)・評価不能(核・腺管構造ともに判定不能)に分け、評価可能な画像については組織が癌もしくは非癌かを判定した。これらの結果を実際の病理組織像と対比し、その一致率を判定した。

【結果】

1) Endocytoscopy画像と病理組織像との対比

胃底腺粘膜では、円形のピットを呈する腺腔とそれを取り囲むように配列する腺窩細胞を認め(Figure 1A)、幽門腺粘膜ではスリット状の腺腔と畝状に配列する腺窩細胞を認めた(Figure 2A)。腺窩細胞の配列は整であり、これらの所見はHE染色の水平断病理組織像とよく似ていた(Figure 1B,2B)。核はかすかに染色され、核異型は認めなかった。

腸上皮化生粘膜では、腺窩細胞は大小の絨毛状構造を呈しており、腺腔は萎縮により開大していた(Figure 3A)。腺窩細胞内には杯細胞と思われる透明な胞体も認めた。この所見はHE染色の水平断とよく似ていた(Figure 3B)。核は正常粘膜よりも染色が良好であったが、核異型は認めなかった。

分化型癌では腺管の異常分岐が見られ、腺窩上皮の配列が不整で、腺腔も不整形であった(Figure 4A)。核は濃染し、偽重層化し、核密度が上昇し、核異型を認めた。未分化型癌では腺管構造が消失し、核密度の上昇した大小の濃染した核を認めた(Figure 5A)。これらの所見はHE染色の水平断とよく似ていた(Figure 4B,5B)。

2) Endocytoscopy 画像の評価

腫瘍部の Endocytoscopy 画像は内視鏡専門医 A により 25 例(83.3%)、病理専門医 B により 27 例(90%)が評価可能と判定され、非腫瘍部の Endocytoscopy 画像は内視鏡専門医 A により 28 例(93.3%)、病理専門医 B により 23 例(76.7%)が評価可能と判定され、評価不能とされた画像は解析から除外した。

内視鏡専門医と病理専門医による EC 画像の解釈を Table 1 に示す。これらの結果により算出された Endocytoscopy 診断を用いた胃癌診断の感度・特異度・正診率は、内視鏡専門医 A にて 88.0%、92.9%、90.6%であり、病理専門医 B にて 88.9%、91.3%、90%であった(Table 2)。Endocytoscopy 診断の一致率(κ 値)は 0.745 であった。

【考察】

本研究にて正常粘膜・腸上皮化生粘膜・胃癌から得られた Endocytoscopy 画像は、生検や内視鏡切除で得られた HE 染色での水平断と同様であり、胃癌の Endocytoscopy 画像は高い感度・特異度・正診率をもって非腫瘍粘膜と鑑別することが可能であった。

Endocytoscopy で細胞や核を評価するためには生体染色が必要であり、メチレンブルーが一般的に使用されているが、胃では粘液が染色性を悪くし、また胃粘膜の多様性が観察および評価を困難にするため、胃癌に対する人の生体内での実験はこれまで報告が少なかった。それ故、クリスタルバイオレット・メチレンブルー二重染色法が考案され、メチレンブルーが細胞核を紫に、クリスタルバイオレットが細胞をピンクに染色することで擬似ヘマトキシリン・エオジン染色ともいえる画像の獲得が可能で、食道や大腸ではこの二重染色を用いた腫瘍性病変の Endocytoscopy 診断の有用性が報告されている。今回われわれはクリスタルバイオレット・メチレンブルー二重染色

を使用した。その他の染色法としてトルイジンブルー等も今後検討する必要があると考える。

今回の検討では Endocytoscopy による診断が困難であった未分化型癌の症例を経験した(Figure 6A,6B)。未分化型癌は腺頸部より発生し、既存の腺管周囲の間質を縫うように水平方向に浸潤増殖し、粘膜表層が非癌上皮に被覆される。このような粘膜表層に露出のない未分化型癌の症例に対しては Endocytoscopy による診断は困難であると考えられた。Endocytoscopy による観察はごく表層 50 μ m までのごく表層の観察となるため、粘膜表層を膨張置換性に発育する分化型癌に対しては有用であるものの、未分化型癌の症例に対しては限界があることを念頭にいれ使用する必要がある。

現行の拡大内視鏡では、粘膜模様による表面構造と微小血管による血管構造が観察され、構造異型による評価が中心となるが、Endocytoscopy では核の認識も可能となり、核異型を加味した評価が可能である。さらに、一体型 Endocytoscopy により通常観察、拡大観察、超拡大観察までを1本のスコープで連続性に施行することが可能となり、この内視鏡を使用することにより、腫瘍性病変を発見した場合、生検することなく、仮想生検まで行えるようになることが期待される。

【結語】

本研究により Endocytoscopy では病理組織像に近似した生体内画像を得ることが可能となることが明らかになるとともに、胃癌診断において仮想生検への応用が期待できることも示唆された。