

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

小林俊介より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 544 号

学位申請者 : 小 林 俊 介

学位審査論文 : Immunohistochemical assessment of a unique basal pattern of p53 expression in ulcerative-colitis-associated neoplasia using computer-assisted cytometry

(潰瘍性大腸炎関連腫瘍の拾い上げにおける p53 免疫染色の unique basal pattern に関する検討)

著 者 : Shunsuke Kobayashi, Takahiro Fujimori, Hiroyuki Mitomi, Shigeki Tomita, Kazuhito Ichikawa, Johji Imura, Shigehiko Fujii, Michihiro Itabashi, Shingo Kameoka, Yoshinori Igarashi

公 表 誌 : Diagnostic Pathology 2014, 9 : 99 DOI: 10.1186/1746-1596-9-99

論文内容の要旨 :

背景 :

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis ; UC) 関連腫瘍の発生率は長期罹患ならびに広範囲な罹患部位になるほど増加するため、その早期診断は重要である。しかし、潰瘍性大腸炎関連早期腫瘍は病変の背景における慢性的および持続的な炎症、または再生性変化のため内視鏡的に検出することが難しく、また病理学的にも生検診断において HE 染色で腫瘍と炎症性良性異型上皮との鑑別が困難である。

潰瘍性大腸炎関連腫瘍の発生における早期のイベントとして p53 遺伝子の変異が指摘されている。p53 遺伝子変異と p53 タンパク質の一致があることから、p53 免疫組織染色は潰瘍性大腸炎関連腫瘍の早期検出において有用な方法である。過去に p53 免疫染色の陽性率は low-grade dysplasia で 11-75%、high-grade dysplasia で 45-83%、再生性上皮では陰性であったと報告されている。

また Noffsinger らは、潰瘍性大腸炎において大腸腺管の基底部から半分に限定された免疫反応を p53 basal pattern と定義し、p53 basal pattern の発現が、早期腫瘍性病変と関連していると過去に報告した。しかし、この所見における臨床的有用性

は“視覚評価”（正確なカウントなしに標本の免疫染色性評価を行うこと）により制限されている。本研究はコンピューターを利用した細胞数測定を用いて p53 basal pattern を分析し、潰瘍性大腸炎関連早期腫瘍と再生性異型性を鑑別するための至適カットオフ値を明確にすることを目的とした。

方法:

対象とした患者は2010年から2011年の期間に、獨協医科大学と東京女子医科大学において潰瘍性大腸炎関連腫瘍のため大腸全摘術を施行された潰瘍性大腸炎患者8例(5例男性、3例女性)であった。年齢の平均値/中央値は46.0歳/47.5歳(21-67歳)、罹患期間の平均値/中央値は21.3年/15年(6-43年)であった。得られた検体に対してHematoxylin-Eosin染色を行った。3人の病理医により日本厚生労働省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班による病理組織学的分類に準じて以下のように分類した。UC-IIa (炎症性か腫瘍性が判定に迷う変化、炎症性変化がより疑われるもの)、UC-IIb (炎症性か腫瘍性が判定に迷う変化、腫瘍性変化がより疑われるもの)、UC-III (腫瘍性変化であるが、癌とは判定できないもの)。分類を終えたのち検体にp53免疫染色を実施した。陰窩基底半分のp53免疫反応陽性細胞のパーセンテージに基づいて視覚の評価を行い、p53 basal positivityを以下の3つのカテゴリーに分類した: grade 1 (1-9%)、grade 2 (10-19%)、grade 3 ( $\geq 20\%$ )。次に、視覚評価でgrade 3と分類された陰窩に対してコンピューターを利用した画像解析を行い分析した。統計はStat Flex Version 6.0を用いてMann-Whitney U検定を行った。

結果:

合計103病変から得られた1039腺管を対象とした。内訳はUC-IIa 626腺管、UC-IIb 256腺管、UC-III 157腺管であった。視覚評価を行った結果p53 basal positivityを示した腺管はUC-IIaで44.4%(626腺管中278腺管)、UC-IIbで24.6%(256腺管中63腺管)、UC-IIIで54.8%(157腺管中86腺管)であった。そのうちgrade-3を示した腺管はUC-IIa 46.0%(278腺管中128腺管)、UC-IIb 61.9%(63腺管中39腺管)、UC-III 94.2%(86腺管中81腺管)であった。コンピューターを利用した画像の結果を分析したところ、grade-3 p53 basal positivityの中央値は、UC-IIa 30.3%(25-75パーセンタイル: 25.6-37.6%)、UC-IIb 52.3%(25-75パーセンタイル: 33.3-64.7%)、UC-III 65.4%(25-75パーセンタイル: 47.2-80.6%)であった ( $P \leq 0.002$ )。

UC-IIaとUC-IIIの鑑別における診断有用性を測定するために受信者動作特性曲線(ROC曲線)を作成した。このコホートにおいてp53 basal positivityのカットオフ値を46.1%としたときarea under the curveは0.928、感度は0.78、特異度は0.98、陰性的中率は87.4%、陽性適中率は95.5%、正診率は90.2%であった。この基準を用いるとUC-IIaの2.3%(128腺管中3腺管)、UC-IIbの61.5%(39腺管中24腺管)が陽性となり、UC-IIIの22.2%(81腺管中18腺管)が陰性となった。

結論:

潰瘍性大腸炎関連早期腫瘍の正確な検出において、コンピューターを利用した画像解析を行い至適な閾値においてp53 basal positivityを評価することが視覚評価の代わりになるということが示された。今後、潰瘍性大腸炎患者から得られた生検検体を用いてp53 basal positivityを評価することにより適切な治療方針の選択できる可能性がある。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 544 号	氏 名	小 林 俊 介
学位審査担当者	主 査	鈴 木 康 夫
	副 査	三 上 哲 夫
	副 査	前 谷 容
	副 査	金 子 弘 真
	副 査	島 田 英 昭

学位審査論文の審査結果の要旨 :

本邦において急速に患者数が増大する難治性炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis ; UC) では、長期経過例において炎症性発癌を背景にした UC 関連発症大腸癌が高率に出現することが明らかにされており、UC 関連発症大腸癌は通常大腸癌に比べ予後不良であることから早期病変である dysplasia を的確に診断することが重要で、dysplasia の早期診断法を確立することは世界的緊急の課題とされている。通常大腸癌に対しては詳細な内視鏡診断法によって早期診断は可能になったが、UC 関連腫瘍病変の背景に慢性的および持続的な炎症粘膜が存在し詳細な内視鏡観察によっても非腫瘍部位と腫瘍部位とを明確に区別することが困難であることや、腫瘍発生粘膜自体が再生性変化を繰り返しているため生検標本における病理学的診断の HE 染色でも dysplasia と炎症性良性異型上皮とを鑑別することが困難とされている。UC 関連腫瘍発生における早期イベントとして p53 遺伝子の変異が報告され、p53 遺伝子変異と p53 タンパク質過剰発現が一致することから、p53 免疫組織染色法は UC 関連腫瘍の早期検出において有用な方法と考えられる。本研究では UC 関連腫瘍のため大腸全摘術を施行された UC8 例の標本を用い、dysplasia と炎症性良性異型上皮との鑑別に有用とされる p53 免疫染色の陽性率、さらに大腸腺管の基底部分から半分に限定され p53 免疫反応を示す p53 basal pattern の発現を“視覚評価”(正確なカウントなしに標本の免疫染色性評価を行うこと)法の精度向上が期待されるコンピューターを利用した細胞数測定を用いて p53 basal pattern を分析し、dysplasia と再生性異型性を鑑別するための至適カットオフ値を明確化した。この研究成果によって、コンピューターを利用した画像解析による至適な閾値において p53 basal positivity を評価することが視覚評価の代わりになるということが示された。審査においては、コンピューター解析と視覚解析との間には乖離があったのか、コンピューター解析で存在する偽陰性症例への対応はどうするのか、大腸全摘術と局所切除術といった術式の選択に役立つのか、臨床的背景や肉眼的あるいは内視鏡所見との対比はなされているかなど種々の質問があったが、申請者はこれら質問全てに対し適切に回答した。視覚解析では病理医間のバラつきが生じるが、コンピューター解析ではバラつきが解消し、より精度が向上すること、コンピューター解析での偽陰性や偽陽性症例が疑われる場合は p53 遺伝子変異の解析との組み合わせの検討が望まれること、コンピューター解析結果とマクロ所見との対比や術式の選択等決定への寄与に関しては今回の研究から結論が出せず今後の検討課題であることが回答された。UC 関連大腸癌の早期診断に重要な dysplasia の検出にコンピューター画像解析法の有用性を示した優れた研究であり、審査員全員一致で本論文は学位に値するとの判断になった。