

が期待される。他方、フラクタル次元から癌の sm 浸潤や浸潤度を推定することは困難であり、これらの診断については pit pattern 以外の所見も加味した内視鏡診断学が必要と考えられた。

Key words: フラクタル, pit pattern, 大腸腺腫, 大腸早期癌, 癌の異型度, sm 浸潤度

緒 言

大腸の粘膜表面には腺管開口部 (pit) が形成する幾何学模様 (腺口形態: pit pattern) があり、上皮性腫瘍では様々なパターンの腺口形態が観察される。実体顕微鏡観察による解析から腺口形態 (pit pattern) と病理組織診断との間には一定の対応関係があることが明らかにされ^{1)–3)}、近年では、内視鏡による大腸粘膜表面の拡大観察から病変の病理組織診断を推定する pit pattern 診断学⁴⁾ が発展してきた。工藤らは pit pattern を I 型 (円形)、II 型 (星芒状)、III 型 (管状・類円形)、IV 型 (樹枝状・脳回転状)、V 型 (不整・無構造) の 5 型に分け、III 型～V 型は上皮性腫瘍の pit pattern であり、その中でも V 型は癌 (粘膜内癌および sm 浸潤癌) に特徴的な pattern としている⁴⁾。

これまでに、大腸の腫瘍・非腫瘍判定における pit pattern 診断の有用性については内視鏡医の間でコンセンサスが得られている。しかし、癌に特徴的とされる V 型 pit pattern の認識は観察者によって必ずしも一致せず⁵⁾、pit pattern が病変の良悪性判定や癌の sm 浸潤判定にどれだけ寄与しうるのかが、現在の検討課題となっている。pit pattern 診断は、大腸粘膜表面拡大内視鏡像のパターン認識によって行われる。しかし形のパターン認識は観察者特有の感性や経験が総合された主観に左右されることが多く、V 型 pit pattern に関する観察者間の不一致は、このことに主に起因している。

フラクタル (Fractal) は、Mandelbrot により自己相似性を有する複雑な図形の総称として提唱された造語であり⁶⁾、フラクタル解析により「形の複雑さ」や「パターン認識」をフラクタル次元 (fractal dimension: FD) として定量化することができる⁷⁾。フラクタル次元はその図形のユークリッド次元 (n : 整数次元) に対して、 $n < FD < (n + 1)$ の自然数として表現され、複雑なパター

ンを持つ図形ほど、高いフラクタル次元が与えられる⁷⁾。フラクタル解析は、形態のパターン認識定量化の有力な手法として、腫瘍病理学の様々な分野で応用されてきている^{8)–13)}。これまで、pit pattern のフラクタル解析は、粘膜内腫瘍を対象として本間・味岡らにより行われており¹⁴⁾¹⁵⁾、pit pattern とそれに対応する病変の腺管構造 (構造異型) のフラクタル次元には有意の相関関係があることが明らかにされている¹⁵⁾。フラクタル解析により、従来観察者の主観的パターン認識で判定されてきた pit pattern の定量化が可能であると同時に、それにより pit pattern と病理組織診断との間のより客観的な対応関係 (規則性) の確立が期待されている¹⁵⁾。

こうした背景を踏まえ本研究では、粘膜内腫瘍 (大腸腺腫, 粘膜内癌) の他に sm 癌も対象に加え、それらの pit pattern をフラクタル解析により定量評価し、大腸上皮性腫瘍の良悪性, sm 浸潤および浸潤度が病変のフラクタル次元により推定可能かどうかを検討した。

材料と方法

1. 検討対象

外科切除または内視鏡的摘除された大腸上皮性腫瘍 92 病変を対象とした。メチレンブルー散布後、病変表面の実体顕微鏡観察を行い、フラクタル解析を行うための pit pattern 対象領域 (1 病変 1 領域) を選択した。病変の実体顕微鏡写真と HE 染色組織標本とを対比させ、pit pattern 対象領域と対応する組織領域を決定し、同部の病理組織診断を行った。pit pattern 対象領域および対応する HE 染色組織領域とをデジタルカメラで撮影し、画像をコンピューターに保存した。

病理組織診断は、腺腫, 粘膜内癌, sm 癌に分け、癌は更に高・低異型度癌¹⁶⁾ に、sm 癌は sm 浅層

表1 検討対象

| | 深達度 | | | 合計 |
|-------|-----|------|------|----|
| | m | sm-s | sm-d | |
| 腺腫 | 36 | 0 | 0 | 36 |
| 低異型度癌 | 8 | 5 | 1 | 14 |
| 高異型度癌 | 14 | 8 | 20 | 42 |
| 合計 | 58 | 13 | 21 | 92 |

m (粘膜内癌), sm-s (sm 浅層癌), sm-d (sm 深層癌)

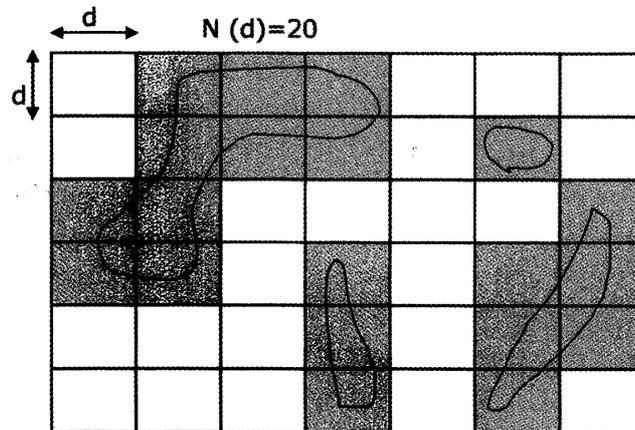


図1 Box-counting 法

対象図形を一辺の長さが d の正方格子で覆った場合、対象図形が含まれる格子の数 $N(d)$ は 20 になる。

癌と sm 深層癌とに亜分類した。高異型度癌と低異型度癌では、その生物学的悪性度が異なる。高異型度癌は低異型度癌に比べ細胞増殖能が高く¹⁷⁾、発生からより早期に sm 浸潤を開始すると推定されている¹⁸⁾。sm 以深浸潤癌では、高異型度癌は低異型度癌に比べ脈管侵襲やリンパ節転移陽性率が有意に高い¹⁹⁾。sm 癌は、sm 垂直浸潤長 $1000\mu\text{m}$ 未満のものを sm 浅層 (sm-s)、 $1000\mu\text{m}$ 以上のものを sm 深層 (sm-d) としたが、sm 垂直浸潤長 $1000\mu\text{m}$ 未満の癌はリンパ節転移リスクが極めて少なく、内視鏡的摘除の適応とされている²⁰⁾。対象とした 92 領域の内訳を表 1 に示した。

2. フラクタル次元の計測

フラクタル次元の計測には、box-counting 法を用いた⁷⁾。同法は、対象とする図形を一辺の長さが d の正方格子で覆い、その図形の一部でも含む正方形 (box) の数 $N(d)$ を求め (図 1)、一辺の長さ d を変化させたときの d と $N(d)$ との関係性を log-log プロットし、回帰直線の傾きの絶対値をフラクタル次元とするものである。

pit pattern と HE 病理組織像のフラクタル次元は、box-counting 法をプログラムしたフラクタル解析ソフト (Rise 社, 1991.04) を用いて計測した。コンピューター保存された画像の pit 輪郭、および組織標本上の腫瘍腺管外縁をマニュアルト

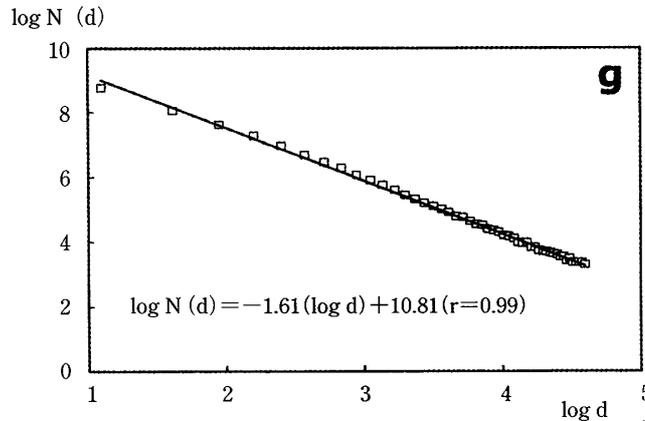
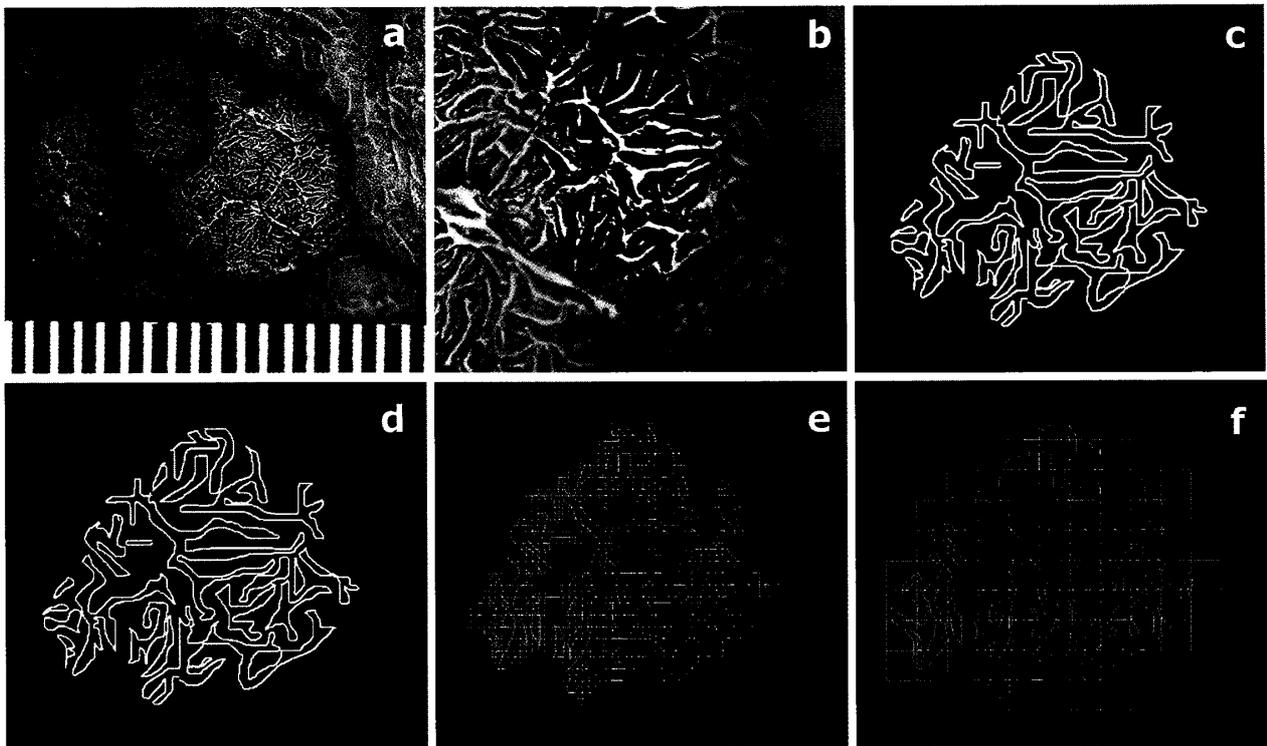


図2 pit pattern のフラクタル解析の具体例

- a : 病変の特定部位をフラクタル解析領域として選択する (メチレンブルー散布像)
- b : 選択部位の実体顕微鏡拡大像. pit の輪郭をコンピューター画面上マニュアルトレースする.
- c : pit 輪郭のマニュアルトレース像.
- d-f : フラクタル解析ソフトで, 画面を構成する正方格子の画素数を変化させ, マニュアルトレースした pit pattern 図形が含まれる格子数を自動計算させる. d は画素数 1, e は画素数 10, f は画素数 50 の場合の例. それぞれの画素数で対象図形が含まれる格子の数は, 29047 個, 1134 個, 78 個になる.
- g : フラクタル解析結果. 正方格子の画素数 (d) とマニュアルトレースした pit pattern 図形が含まれる格子数 (N (d)) を log-log グラフにプロットし, その回帰直線の傾きの絶対値 (1.61) が図形のフラクタル次元となる.

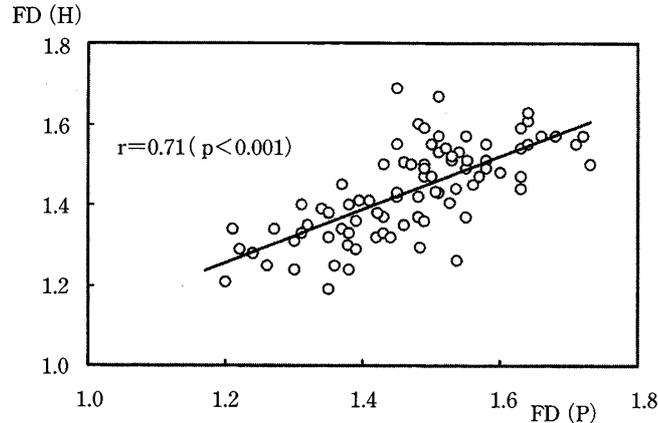


図3 pit patternと病理組織像のフラクタル次元の相関

FD (P) (pit patternのフラクタル次元)と対応するFD (H) (HE標本病理組織像のフラクタル次元)とは有意の正の相関を示していた。

レースし、トレースされた線分の集合を対象図形としてコンピューター画面上に取り込み、解析ソフトにより画像処理を行った。図2にpit patternのフラクタル次元計測具体例を示す。

統計検定にはピアソンの相関分析, One-way Fractional ANOVA and Multiple Comparison tests, Fisherの直接確率法を用い, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

1. pit patternと病理組織像のフラクタル次元の相関

92領域のpit patternと、対応する病理組織像のフラクタル次元には有意の相関関係が認められた(図3, $r = 0.71, p < 0.0001$)。

2. pit patternのフラクタル次元と病変の良悪性、癌の異型度との関係

腺腫、低異型度癌、高異型度癌のpit patternフラクタル次元の分布は重複していたが、高異型度癌のフラクタル次元の大部分は1.4以上であり、フラクタル次元1.6以上に腺腫はなかった(図

4-a)。3者のフラクタル次元の平均値は腺腫(1.38 ± 0.09)、低異型度癌(1.50 ± 0.12)、高異型度癌(1.54 ± 0.09)であった。腺腫と低異型度癌、高異型度癌との間には有意差があったが(それぞれ $p = 0.004$ と $p < 0.0001$)、低異型度癌と高異型度癌との間には有意差はなかった(図4-b)。フラクタル次元1.4と1.6をそれぞれ閾値として、腺腫、低異型度癌、高異型度癌の分布を比較した(表2)。フラクタル次元1.4未満と以上では、腺腫と高異型度癌($p < 0.001$)、低異型度癌と高異型度癌($p = 0.03$)との間に有意差があり、高異型度癌の40/42(95%)がフラクタル次元1.4以上であった。フラクタル次元1.6未満と以上では、腺腫と高異型度癌との間にのみ有意差がみられた($p < 0.001$)。

3. pit patternのフラクタル次元と癌の深達度

粘膜内病変(m)とsm浅層癌(sm-s)のフラクタル次元の分布は類似し、1.2から1.6以上までほぼ均一に分布していた。sm深層癌(sm-d)のフラクタル次元は1例を除き1.4以上であったが(図5-a)、3者のフラクタル次元の平均値はm(1.45 ± 0.14)、sm浅層癌(1.48 ± 0.11)、sm

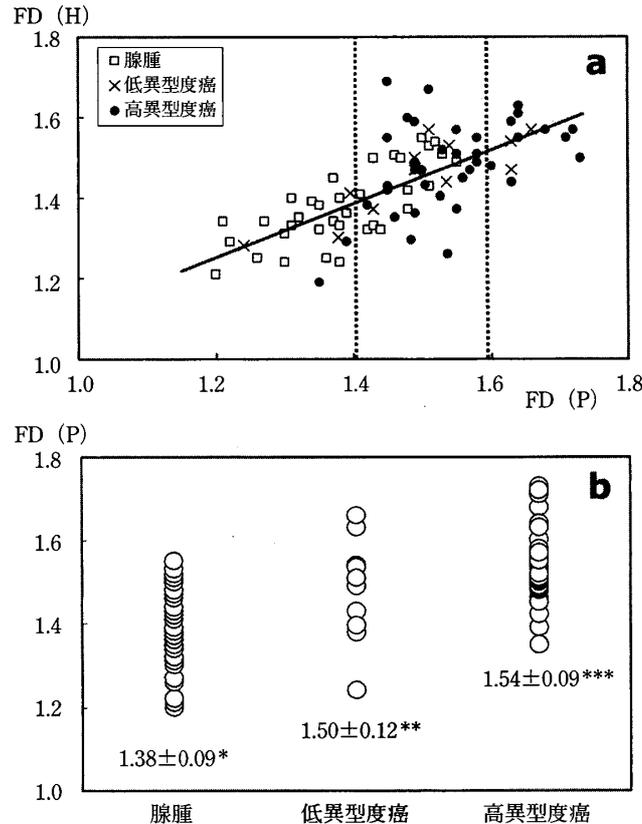


図4 腺腫, 低異型度癌, 高異型度癌別にみた pit pattern のフラクタル次元

a : 高異型度癌の FD (P) (pit pattern のフラクタル次元) は大部分が 1.4 以上であり, FD (P) が 1.6 以上に腺腫はなかった.

b : 腺腫, 低異型度癌, 高異型度癌の FD (P) (pit pattern のフラクタル次元) の平均値の比較.

* vs **: $p = 0.0004$, * vs ***: $p < 0.001$,

** vs ***; ns

深層癌 (1.51 ± 0.07) で, いずれの組み合わせでも有意差はなかった (図 5-b).

考 察

大腸粘膜に発生する上皮性腫瘍の大多数は腺腫であり, 更に粘膜内癌は腺腫内癌であることが多いこと²¹⁾ から, 大腸内視鏡検査では病変の良悪性鑑別 (腺腫か癌か) が第一に問題となる. また, その内視鏡像から癌の sm 浸潤度判定を行うこと

も, その後の治療方針を決定する上で不可欠である. 大腸 sm 癌の sm 浸潤量とリンパ節転移との関係の系統的研究²²⁾⁻²⁴⁾ から, sm 癌であってもその浸潤量が垂直距離で 1000 μ m を越えないものはリンパ節転移リスクが極めて低く, 内視鏡的摘除で根治が期待されること²⁰⁾ が明らかにされてきたからである. 拡大内視鏡による粘膜腺口構造 (pit pattern) の観察が, こうした大腸腫瘍の良悪性鑑別や sm 浸潤度判定にどれだけ寄与するかについては, 有用とする報告⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾ と, 必ず

表2 FD (P) (pit pattern のフラクタル次元) 1.4 と 1.6 を閾値とした場合の, 腺腫, 低異型度癌, 高異型度癌の分布

1) FD (P) : 1.4を閾値とした場合

| | FD (P) | | 合計 |
|-------|--------|-------------|----|
| | <1.4 | ≥1.4 | |
| 腺腫 | 21 | 15 (42%)* | 36 |
| 低異型度癌 | 4 | 10 (71%)** | 14 |
| 高異型度癌 | 2 | 40 (95%***) | 42 |
| 合計 | 27 | 65 | 92 |

2) FD (P) : 1.6を閾値とした場合

| | FD (P) | | 合計 |
|-------|--------|-------------|----|
| | <1.6 | ≥1.6 | |
| 腺腫 | 36 | 0 * | 36 |
| 低異型度癌 | 12 | 2 (14%)** | 14 |
| 高異型度癌 | 32 | 10 (24%***) | 42 |
| 合計 | 80 | 65 | 92 |

1) * vs **; ns, * vs ***; p < 0.0001, ** vs ***; p = 0.03

2) * vs **; ns, * vs ***; p = 0.001, ** vs ***; ns

しも通常内視鏡診断より優れているとは言えないとの報告²⁷⁾²⁸⁾とがあり, 研究者によって意見の一致をみていないのが現状である。

pit pattern 診断の有用性について統一の見解が得られていない理由の大きなものに, pit pattern 判定の主観性がある。pit pattern 判定は pit の形態や分布, 密度などの形態情報の (観察者による) 主観的パターン認識により行われるため, 客観性や再現性に欠ける面がある。特に工藤らの pit pattern 分類で癌に特徴的とされる V 型 pit pattern (不整・無構造) の判定には診断者によるバラツキがある⁵⁾。V 型 pit pattern は, 不整な pit 模様もしくは pit の消失と定義されている⁴⁾が, 形の不整さの認識に個人差が生じることは避け得ない。pit pattern 診断の有用性を客観的に検証するためには, pit pattern の客観化 (定量化) が不可欠である。フラクタル解析により pit pattern の定量化 (フラクタル次元の算定) を行った本研究結果では, pit pattern のフラクタル次元は大腸上皮性腫瘍の良悪性判定や癌の異型度判定には寄与する

が, フラクタル次元で癌の sm 浸潤や浸潤度を推定することは困難と考えられた。

腺腫, 低異型度癌, 高異型度癌別の pit pattern の検討では, 異型度の高い病変ほどフラクタル次元は高く表現され, より複雑な形態パターンを呈していた。腺腫と高・低異型度癌のフラクタル次元の平均値には有意差があり (図 4), pit pattern は原理的に大腸上皮性腫瘍の良悪性を表現していると推定された。更に pit pattern のフラクタル次元の分布様式から 1.4 と 1.6 の二つの閾値を設定した場合 (表 2), フラクタル次元が 1.6 を越える病変は全てが癌であり, 1.4 以上では生物学的悪性度の高い高異型度癌¹⁶⁾の可能性を念頭に置く必要があることがわかった。pit pattern のフラクタル解析から, より客観的な pit pattern 診断学の確立が期待される。腺腫と低異型度癌との間には (フラクタル次元の平均値には有意差はあったものの), 1.4, 1.6 いずれの閾値で分けてもその分布に差はなかったが, これは, 低異型度癌の病理診断が pit pattern に反映される腺管構造 (構造異型)

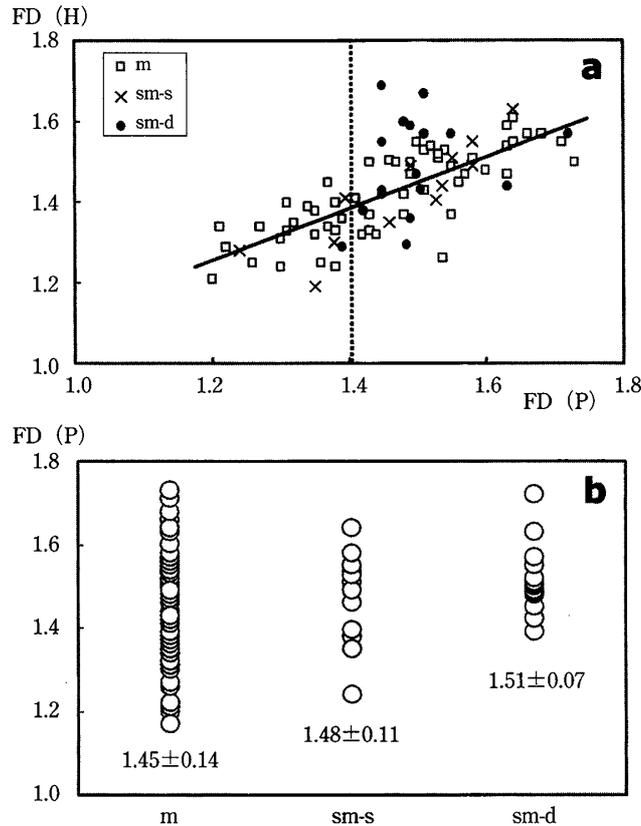


図5 粘膜内癌 (m), sm 浅層癌 (sm-s), sm 深層癌 (sm-d) 別にみた pit pattern のフラクタル次元

- a : m 癌と sm-s 癌の FD (P) (pit pattern のフラクタル次元) の分布は類似している. sm-d 癌の FD (P) は 1 例を除き 1.4 以上.
- b : m 癌, sm-s 癌, sm-d 癌の FD (P) (pit pattern のフラクタル次元) の平均値の比較. いずれの組み合わせでも有意差はない.

よりも細胞像 (細胞異型) を重視しているため¹⁶⁾と推定される.

他方, 粘膜内癌 (m), sm 浅層癌 (sm-s), sm 深層癌 (sm-d) の pit pattern フラクタル次元の平均値に差はなく (図5), フラクタル次元から癌の sm 浸潤や, 治療方針を左右する sm 浸潤度²⁰⁾の推定は不可能であった. これは, 癌の sm 浸潤による病理組織像の変化が, 粘膜筋板の変化や粘膜内部の残存状態など, 腺管構造以外の因子にも影響されている²⁹⁾ためと考えられ, pit pattern

のみから癌の sm 浸潤やその浸潤度を推定することは原理的に困難である可能性を示唆している. 更に, sm 浸潤部の癌異型度 (高・低異型度) の違いも pit pattern のフラクタル次元を左右している可能性もある. このことも, 検討すべき課題と考えられる. 癌の sm 浸潤や浸潤度の推定について林ら³⁰⁾は, pit pattern よりもむしろ (癌の sm 浸潤に伴う間質反応などで起きる) pit 周囲の被覆上皮野の色素染色性の低下などが有用な所見であると報告している. 今後はそうした pit 周囲被

覆上皮野の異常所見も総合した pit pattern 診断およびその定量評価が、大腸の内視鏡診断学にとって重要な課題の一つになると考えられる。

結 論

本研究は、pit pattern のフラクタル次元から、大腸上皮性腫瘍の良悪性および癌の異型度の推定が可能であることを明らかにした。フラクタル解析を用いたより客観的な pit pattern 診断学の確立が期待される。他方、pit pattern のフラクタル次元から癌の sm 浸潤や sm 浸潤度を推定することは困難であり、これらについては、pit pattern 以外の所見を加味した内視鏡診断学が必要と考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました青柳豊教授、渡辺英伸教授（分子・診断病理学分野）に深謝いたします。また、貴重な症例を供与頂いた林俊彦クリニック院長 林 俊彦先生、臨港総合病院消化器内科 鈴木裕先生、済生会新潟第二病院病理部長 石原法子先生に感謝いたします。

文 献

- 1) 小坂知一郎：大腸微小隆起性病変に関する臨床病理学的研究。大腸肛門誌 28: 218-228, 1975.
- 2) 多田正大, 川井啓市, 赤坂裕三：大腸隆起性病変の拡大観察とその病態。胃と腸 13: 625-636, 1978.
- 3) 工藤進英, 三浦宏二, 高野征雄, 坂内 均, 大塚和朗, 桧森昌門, 斉藤純夫, 林 俊一：微小大腸癌の診断。実体顕微鏡所見を含めて。胃と腸 25: 801-811, 1990.
- 4) 工藤進英, 中城一男, 田村 智, 山野泰穂, 中嶋孝司, 伊藤 治, 日下尚志, 福岡岳美, 洗川佐代子, 後藤英世, 鈴木章男, 白坂大輔, 坂下正典, 福富尉, 田中義規, 吉村 孟, 井手口尚生, 松井保憲, 小松泰介：臨床からみた大腸腫瘍の pit pattern 診断。胃と腸 31: 1311-1323, 1996.
- 5) 味岡洋一, 工藤進英, 林 俊彦, 佐藤明人, 渡辺英伸：V型 pit pattern 診断の現状と問題点。胃と腸 39: 769-791, 2004.
- 6) Mandelbrot BB: How long is the coast of Britain? Statistical self-similarity and fractal dimension. Science 155: 636-638, 1967.
- 7) 高安秀樹：フラクタル。初版, 朝倉書店, 東京, 1986.
- 8) Cross SS, Bury JP, Silcocks PB, Stephenson TJ and Cotton DWK: Fractal geometric analysis of colorectal polyps. J Pathol 172: 317-323, 1994.
- 9) Cross SS, McDonagh AJG, Stephenson TJ, Cotton DWK and Underwood JCE: Fractal and integer-dimensional geometric analysis of pigmented skin lesions. Am J Dermatopathol 17: 374-378, 1995.
- 10) Landini G and Rippen JW: Quantification of nuclear pleomorphism using an asymptotic fractal model. Analyt Quant Cytol Histol 18: 167-176, 1996.
- 11) Losa GA and Nonnenmacher TF: Self-similarity and fractal irregularity in pathologic tissues. Mod Pathol 9: 174-182, 1996.
- 12) Einstein AJ, Wu H-S, Sanchez M and Gil J: Fractal characterization of chromatin appearance for diagnosis in breast cytology. J Pathol 185: 366-381, 1998.
- 13) Baish JW and Jain RK: Fractals and cancer. Cancer Res 60: 3683-3688, 2000.
- 14) 本間 照, 味岡洋一, 渡辺英伸：ヒト大腸粘膜における癌および前癌病変表面模様のフラクタル性の検討。形の科学会報 2: 36-38, 1991.
- 15) 味岡洋一, 林 俊彦, 渡辺英伸, 本間 照, 西倉健, 橋立英樹：大腸腫瘍のミクロとマクロの対比における新しい知見—pit pattern のフラクタル解析と組織所見との対比—。胃と腸 34: 1599-1606, 1999.
- 16) 渡辺英伸, 味岡洋一：大腸良悪性境界病変の病理。病理と臨床 6: 1280-1292, 1988.
- 17) Maeo S, Ajioka Y, Watanabe H, Kobayashi M and Kobayashi M: The proliferating cell nuclear antigen (PCNA) index correlates with the grade of cytologic atypia in well-differentiated early adenocarcinomas of the large intestine. Pathol Int 45: 359-365, 1995.
- 18) 味岡洋一, 渡辺英伸, 片桐耕吾, 小林正明, 前尾

- 征吾, 吉田光宏, 植木淳一：異型度と進展様式からみた早期大腸癌. 消化器外科 15: 1321-1328, 1992.
- 19) 片桐耕吾, 渡辺英伸, 味岡洋一, 吉田光宏, 酒井義浩：高分化型進行大腸癌の高・低異型度による生物学的悪性度の差について. 胃と腸 29: 841-849, 1994.
- 20) Kitajima K, Fujimori T, Fujii S, Takeda J, Ohkura Y, Kawamata H, Kumamoto T, Ishiguro S, Kato Y, Shimoda T, Iwashita A, Ajioka Y, Watanabe H, Watanabe T, Muto T and Ngasako K: Correlations between lymph node metastasis and depth of submucosal invasion in submucosal invasive colorectal carcinoma: a Japanese collaborative study. J Gastroenterol 39: 534-543, 2004.
- 21) 味岡洋一：大腸癌・腺腫の病理形態学的検討—癌・腺腫の肉眼鑑別の癌の組織発生について. 新潟医学会誌 104: 131-142, 1990.
- 22) 岡部 聡：大腸 sm 癌の転移のリスクファクターに関する検討. 大腸肛門誌 47: 564-575, 1994.
- 23) 小林正明, 渡辺英伸, 前尾征吾, 味岡洋一, 吉田光宏, 齊藤英俊, 人見次郎, 須田武保：大腸 sm 癌の新しい sm 浸潤度分類からみた組織異型度・発育先進部簇出像と脈管侵襲・リンパ節転移との相関. 胃と腸 29: 1151-1160, 1994.
- 24) Tanaka S, Haruma K, Teixeira CR, Tatsuta S, Ohtsu N, Hiraga Y, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G and Shimamoto F: Endoscopic treatment of submucosal invasive colorectal carcinoma with special reference to risk factors for lymph node metastasis. J Gastroenterol 30: 710-717, 1995.
- 25) 藤井隆広, 永田和弘, 齊藤 豊, 神津隆弘, 藤城光弘, 後藤田卓志, 小野裕之, 近藤 仁, 加藤茂治, 佐野 寧, 吉田茂昭：大腸拡大内視鏡診断はどこまで病理診断に近づいたか—大腸上皮性腫瘍を対象として—. 胃と腸 34: 1653-1664, 1999.
- 26) 田中信治, 永田信二, 岡志郎, 吉原正治, 春間賢, 茶山一彰：拡大内視鏡による表面型早期大腸癌の深達度診断. 消化器内視鏡 13: 401-409, 2001.
- 27) 津田純郎, 菊池陽介, 佐藤 茂, 平井郁仁, 山本淳也, 帆足俊男, 松井敏幸, 八尾恒良, 岩下明德：大腸腫瘍性病変の通常内視鏡診断はどこまで病理診断に迫れるか. 胃と腸 34: 1623-1633, 1999.
- 28) 鶴田 修, 河野弘志, 辻雄一郎, 藤田三丈, 宮崎士郎, 富安信夫, 古波倉充, 中原慶太, 立石秀夫, 伴 茂樹, 前川隆一郎, 佐田通夫, 豊永 純：早期大腸癌深達度診断における拡大内視鏡と超音波内視鏡の役割. 胃と腸 36: 791-799, 2001.
- 29) 味岡洋一, 林 俊彦, 松田知己, 渡辺英伸：大腸 sm 癌の病理組織と実体顕微鏡下 pit pattern との対比. 早期大腸癌 5: 549-561, 2001.
- 30) 林 俊彦, 味岡洋一, 太田宏信, 渡辺孝治, 石川達, 吉田俊明, 武者信行, 坪野俊広, 酒井靖夫, 石原法子, 馬場靖幸, 上村朝輝：病変表層の組織構築からみた sm massive 癌の診断—pit pattern と SA pattern を中心に—. 胃と腸 39: 753-767, 2004.

(平成 17 年 1 月 12 日受付)