

潰瘍性大腸炎の炎症性発癌早期病変（dysplasia）と  
散発性腺腫との病理学的鑑別

**長島 藍子**

新潟大学医歯学総合研究科消化器内科学分野  
（指導：寺井崇二教授）

**Pathological Differences between Ulcerative Colitis-associated  
Dysplasia and Sporadic Adenoma**

**Aiko NAGASHIMA**

*Division of Gastroenterology and Hepatology,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
(Director: Prof. Shuji TERAII)*

**キーワード：**潰瘍性大腸炎、dysplasia、散発性腺腫、アポトーシス、AMACR

別冊請求先：〒 951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757

新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科学分野  
長島 藍子

Reprint request to: Aiko NAGASHIMA

Division of Gastroenterology and Hepatology, Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences

## 要 旨

【背景】長期経過の潰瘍性大腸炎（ulcerative colitis: 以下 UC）の合併症として大腸癌の発生がある。UC に発生する大腸癌は dysplasia と呼ばれる粘膜内腫瘍を前癌病変とすること、および dysplasia には同時性異時性の癌発生を予測するリスクマーカーとしての意義もあることから、内視鏡的サーベイランスの生検で dysplasia の病理診断がなされた場合は、大腸全摘が治療第一選択として推奨されてきた。他方、UC 大腸粘膜には dysplasia 以外に、通常の腺腫も偶発することがある（散発性腺腫）。これらに対しては、経過観察もしくは内視鏡的切除が治療第一選択である。しかし、治療方針が全く異なる両者の生検組織による鑑別は困難なことも少なくない。本研究は、UC の dysplasia と散発性腺腫の病理学的鑑別法を確立することを目的として、細胞増殖動態、p53 蛋白過剰発現、アポトーシス、 $\alpha$ -methylacyl-CoA racemase (AMACR) 発現の dysplasia と通常の腺腫における発現様式を検討した。

【対象と方法】UC に認められた dysplasia 29 病変と、炎症性腸疾患を合併しない通常の大腸に発生した腺腫 40 病変を対象として、Ki-67 免疫染色、p53 免疫染色、AMACR 免疫染色、M30 cytoDeath 免疫染色を行い、増殖帯の分布様式、p53 蛋白過剰発現の有無、AMACR の発現頻度と陽性細胞の分布様式、アポトーシスの頻度、を検討した。

【結果】Ki-67 染色では、dysplasia 群と腺腫群で中央値に有意差はなかったが、両者で増殖帯の分布は有意に異なっており（ $P<0.001$ ）、dysplasia 群では basal の頻度が最も高く（55.2%）、腺腫群では superficial の頻度が最も高かった（65.0%）。p53 蛋白過剰発現の頻度は、dysplasia 群が腺腫群に比べ有意に高かった（51.7% vs. 15.0%、 $P<0.0001$ ）。AMACR 発現頻度は dysplasia 群と腺腫群とで有意差はなかった（82.8% vs. 82.5%）が、発現細胞の分布様式は、dysplasia 群の 72.5%が basal であったのに対し、腺腫群では 70.0%が diffuse であった。AI (apoptotic index)は、dysplasia 群が腺腫群に比べ有意に高かった（1.76% vs. 0.61%）。AI のカットオフ値を 2.0 に設定すると、dysplasia 群は 2.0 以上と未満がほぼ半数であったが、腺腫群では 1 病変を除き全例が 2.0 未満であった。検討した 4 因子をもとに対象病変を層別化し、dysplasia と散発性腺腫鑑別のためのアルゴリズムを作成した。アルゴリズムにより本研究で対象とした dysplasia の 75.9%と腺腫の 87.5%は排他的診断が可能であった。

【結論】UC の dysplasia と散発性腺腫の病理組織学的鑑別には、従来よりその有用性が報告されている増殖帯の分布様式、p53 蛋白過剰発現に加え、AMACR 発現様式とアポトーシス頻度も有用な因子と考えられた。これら 4 つの因子を組み合わせた系統的病理診断を行うことにより、dysplasia と散発性腺腫のより精度の高い鑑別が可能になるものと期待される。今後、UC 粘膜に発生した種々の異型上皮に本アルゴリズムを適用した前向き研究を行うことで、その有効性を検証することが必要である。

## 緒 言

長期経過の潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: 以下 UC) の合併症として大腸癌の発生があり<sup>1, 2)</sup>、炎症性発癌と呼ばれている<sup>3)</sup>。UC に発生する大腸癌は dysplasia と呼ばれる粘膜内腫瘍を前癌病変とすることから<sup>4)</sup>、従来より UC に発生する dysplasia の内視鏡的発見と生検による診断を目的としたサーベイランス<sup>5-7)</sup>が行われてきた。また、dysplasia はそれ自体が前癌病変 (発癌早期病変) であると同時に、同時性異時性の癌発生を予測するリスクマーカーとしての意義もあることから<sup>8, 9)</sup>、内視鏡的サーベイランス生検で dysplasia が発見された場合は、大腸全摘が治療第一選択として推奨されてきた<sup>10, 11)</sup>。他方、UC 大腸粘膜には炎症性発癌早期病変である dysplasia 以外に、通常の腺腫も偶発することがある (散発性腺腫)。これらに対しては、経過観察もしくは内視鏡的切除が治療第一選択であり、大腸切除は必要としない。しかし、治療方針が全く異なる両者は内視鏡のおよび生検組織学的にも鑑別が困難なことも少なくない<sup>12-15)</sup>。UC 粘膜に発生した dysplasia を散発性腺腫と診断すると大腸癌を見逃すことになる。逆に散発性腺腫を dysplasia と診断すると大腸切除という過剰治療を加えることとなるため、両者の病理組織学的鑑別には精度の高い診断基準が必要とされている。

これまで、dysplasia と散発性腺腫を病理組織学的に鑑別するための補助手段としては、細胞増殖動態と p53 蛋白過剰発現の有用性が高いとされてきた<sup>15, 16)</sup>。細胞増殖動態については、通常の大腸粘膜に発生する腺腫では、一般に、増殖帯は腺管表層～中層に存在する<sup>15, 17, 18)</sup>のに対して、炎症性発癌早期病変に特徴的とされる平坦で周囲との境界が不明瞭な dysplasia では、増殖帯は腺管中層～深部に存在することが多い<sup>15, 16)</sup>。前者は top-down morphogenesis、後者は bottom-up morphogenesis と呼ばれる<sup>19)</sup>。p53 遺伝子異常は免疫組織学的に蛋白過剰発現として同定することが可能である<sup>20)</sup>。同遺伝子異常は、炎症性発癌ではその早期段階で、通常の大腸における発癌過程ではその後期段階で出現することが知られている<sup>21, 22)</sup>。このことから、UC 粘膜に発生した粘膜内腫瘍性病変で p53 蛋白過剰発現が認められた場合は dysplasia の可能性が高い。しかし、これら 2 つの補助的手段については幾つかの問題点が残されている。通常の腺腫の中にも、top-down morphogenesis を示さないもの<sup>18)</sup>があり、UC に発生した粘膜内腫瘍には、top-down、bottom-up いずれのパターンにも分類できないものも存在する。p53 蛋白過剰発現については、通常の腺腫でも p53 蛋白過剰発現を示すものがある<sup>23)</sup>と同時に、p53 蛋白過剰発現には偽陰性 (遺伝子異常があっても免疫染色では陰性となる) が存在することから<sup>20)</sup>、p53 蛋白過剰発現陰性がならずし dysplasia を否定することにはならない。

本研究は、UC の dysplasia と散発性腺腫の病理学的鑑別法を確立することを目的として、従来の細胞増殖動態と p53 蛋白過剰発現に加え、p53 蛋白によって誘導されるアポトーシス<sup>24)</sup>と、近年 dysplasia での高い発現率が報告されている  $\alpha$ -methylacyl-CoA racemase (AMACR)<sup>25-27)</sup> 発現の dysplasia と通常の腺腫における発現様式を検討した。

なお、本研究は新潟大学倫理委員会の承認 (承認番号 2146)を得て行った。

## 対象と方法

### 1. 対象

外科切除潰瘍性大腸炎 17 例に認められた dysplasia 29 病変と、炎症性腸疾患を合併しない通常の大腸に発生し内視鏡的粘膜切除が施行された腺腫 40 病変を対象とした。dysplasia の病理組織診断は、厚生労働省研究班による UC における異型上皮の病理組織分類<sup>28)</sup>に従い、UC-III (腫瘍性変化であるが、癌とは判定できない) としてものの中で、平坦もしくは軽度の隆起で周囲との境界が不明瞭な肉眼形態を呈するものとした。dysplasia の異型度分類は Riddell らの基準<sup>4)</sup>に従った。腺腫の診断は大腸癌取扱い規約<sup>29)</sup>に従い、管状腺腫のみを選択した。

検体は全てホルマリン固定され、パラフィン包埋の後 3 $\mu$ m で薄切し、hematoxylin and eosin (HE) 染色と下記に述べる免疫染色を施行した。

### 2. 免疫染色

細胞増殖マーカー Ki-67 に対する免疫染色<sup>30)</sup>には抗 MIB-1 モノクローナル抗体 (Dako、Glostrup、Denmark) を、p53 蛋白発現の同定<sup>31)</sup>には抗 PAb1801 モノクローナル抗体 (Novocastra、Leica、UK)、AMACR 発現の同定<sup>32)</sup>には抗 13H4 モノクローナル抗体 (Dako、Glostrup、Denmark) を、アポトーシス同定<sup>33)</sup>には抗 M30 cytoDeath モノクローナル抗体 (Roche Diagnostic、Mannheim、Germany) をそれぞれ一次抗体として用いた。

3 $\mu$ m パラフィン切片を脱パラ水洗後、0.01M クエン酸緩衝液に浸し、121 $^{\circ}$ C 20 分オートクレーブで抗原賦活を行った。内因性ペルオキシダーゼのブロッキングを 0.3%過酸化水素加メタノール室温 20 分間で行い、一次抗体を希釈倍率 200 倍で 4 $^{\circ}$ C 一晚反応させた。その後、酵素標識二次抗体 (ヒストファインシンプルステイン MAX-PO (MULTI) ニチレイ) を室温 20 分間反応させ、0.02%DAB.4HCL・0.02%過酸化水素・0.05 M トリス緩衝液 pH7.6 で発色後、ヘマトキシリンで後染色した。

### 3. 免疫染色標本の評価

#### Ki-67 染色

核が茶色に染色されるものを陽性細胞とし、その高密度領域をランダムにサンプリングし、1000 個の細胞中の陽性細胞数を labeling index (LI) (%) として算出した。また、陽性細胞高密度領域を増殖帯として、その分布様式を、basal: 腺管深部もしくは中層～深部、superficial: 腺管表層もしくは中層～表層、diffuse: 腺管全層、others: それら以外、に分類した。

#### p53 染色

核が茶色に染色されるものを陽性細胞とし、陽性細胞の分布様式を、negative: 陽性細胞なし、sporadic: 陽性細胞が散在性に存在、nested: 陽性細胞集簇巣が散在性に存在、diffuse: 陽性細胞がびまん性に存在、に分類した<sup>31)</sup>。nested と diffuse を蛋白過剰発現とした<sup>23, 31)</sup>。

#### AMACR 染色

細胞質全体がびまん性もしくは顆粒状に茶色に染色されるものを陽性細胞とし、病変内の全細胞に対して 5%以上陽性細胞が認められるものを陽性例とした<sup>32)</sup>。腺管内の陽性細胞の分布様式を、Ki-67 染色と同様に basal、superficial、diffuse、others に分類した。

### **M30 cytoDeath 染色**

細胞質全体がびまん性もしくは顆粒状に茶色に染色されるものを陽性細胞とし、陽性細胞が最も高頻度に認められる領域をサンプリングし、1000 個の細胞中の陽性細胞数を apoptotic index (AI) (%)として算出した。

## **4. 統計解析**

統計解析は PASW statistics 22 (日本アイ・ビー・エム株式会社) を用いて行いて行った。Pearson のカイ二乗検定または Fisher の直接確率計算法、Mann-Whitney の U 検定にて検定し、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

# **結 果**

## **1. dysplasia 群と腺腫群の臨床病理学的特徴**

dysplasia 群の平均年齢は腺腫群より有意に低く、病変の大きさは dysplasia 群が有意に大きかった。性別、発生部位、異型度は両者間で有意差はなかった (表 1)。

## **2. 免疫染色態度**

### **Ki-67 染色**

dysplasia 群と腺腫群の陽性率は中央値でそれぞれ 40.4%、44.3%であり、両群間には有意差はなかった。陽性細胞高密度領域 (増殖帯) の分布は両群間で有意差を認めた ( $P < 0.0001$ )。dysplasia 群では basal の頻度が最も高く (16/29、55.2%)、diffuse が 9/29 (31.0%)、others が 4/29 (13.8%)で、superficial はなかった。一方、腺腫群では superficial の頻度が最も高く (26/40、65.0%)、diffuse が 10/40 (25.0%)、others が 4/40 (10.0%)で、basal はなかった (図 1)。dysplasia、腺腫ともに増殖帯の分布が diffuse なものは、異型度の高いものに多い傾向があった。others については、増殖帯が腺管中層に位置するものや、腺管内に散在性に分布するものがあった。

### **p53 染色**

p53 蛋白過剰発現 (nested および diffuse) の頻度は dysplasia 群で 15/29 (51.7%)、腺腫群で 6/40 (15.0%) であり、dysplasia 群が有意に高頻度であった ( $P < 0.001$ )。腺腫群の蛋

白過剰発現には diffuse はなく、全て nested で、p53 染色陽性細胞は単一あるいは数個の腺管単位で集簇を形成していた。一方、dysplasia 群では蛋白過剰発現の 9/15 (60.0%) は diffuse であり、nested は腺腫とは異なり、陰窩中層から深部にかけて陽性細胞がほぼ連続性に集簇していた (図 2)。

#### AMACR 染色

AMACR 発現は dysplasia 群、腺腫群それぞれ 24/29 (82.8%) と 33/40 (82.5%) に認められ、陽性率では両群間に有意差はなかった。陽性細胞の分布様式は、dysplasia 群の 21/26 (72.5%) が basal であったのに対し、腺腫群では diffuse が 28/40 (70.0%) を占め、両群間で分布様式には有意差を認めた ( $P < 0.0001$ ) (図 3)。

#### M30 cytodeath 染色

AI (apoptotic index) の中央値は dysplasia 群が 1.76%、腺腫群が 0.61% であり、dysplasia 群が有意に高かった ( $P < 0.0001$ )。カットオフ値を 2.0% に設定すると、dysplasia 群は 2.0 以上が 12/29 (41.6%)、2.0 未満が 17/29 (58.4%) とほぼ半分に別れたが、腺腫群では 1 病変を除き全例が 2.0% 未満であった (図 4)。

### 3. dysplasia 群と腺腫群の層別化と病理組織学的鑑別アルゴリズム

Ki-67 染色で判定した細胞増殖動態 (増殖帯の位置)、p53 染色で判定した p53 蛋白過剰発現、AMACR 発現、M30 cytoDeath 染色で判定したアポトーシス (AI 2.0 をカットオフ値とした場合) の 4 因子を用いて、対象病変は 4 つのグループ (A~D 群) に層別化された (図 5)。

Ki-67 染色で、病変は増殖帯の分布から、basal (A 群)、diffuse または others (B, C 群)、superficial (D 群) に大きく大別された。A 群は他の染色の染色態度に関わらず、全例 (16 病変) が dysplasia であり、D 群も同様には全例 (26 病変) が腺腫であった。B 群は p53 蛋白過剰発現 (+) もしくは AMACR 染色が basal で、AI が 2.0 以上のものは全例 (6 例) が dysplasia であったが、それ以外は (12 例) は dysplasia と腺腫が混在していた。C 群は p53 蛋白過剰発現 (-) かつ AMACR 染色が others で、全例 (9 病変) が腺腫であった。

図 5 の層別化を元に、腺腫の病理組織学的鑑別アルゴリズムを作成した (図 6)。4 因子を組み合わせることで、dysplasia の 22/29 (75.9%) (A 群と B 群で  $AI \geq 2$ ) と腺腫の 35/40 (87.5%) (C 群と D 群) では両者の鑑別が可能であったが、増殖帯が diffuse または others で、p53 蛋白過剰発現 (+) もしくは AMACR 発現が basal で AI が 2.0 未満のもの (B 群で  $AI < 2$ ) では、dysplasia と腺腫との鑑別は困難であった。

## 考 察

UC の慢性持続性炎症を背景に発生する腫瘍性病変（炎症性発癌）の病理組織像は、1. 通常型（通常の高分化腺癌や腺腫と組織学的に区別がつかないもの）、2. 特殊型（通常の大腸に発生する腫瘍性病変とは明らかに異なる組織学的所見を示すもの）に大別される<sup>34)</sup>。特殊型には、1) 表層分化を示す高分化腺癌、2) 分化細胞（異常杯細胞、パネート細胞、内分泌細胞）を抱負に持つ高分化腺癌、3) 細胞分化に乏しい高分化腺癌、4) 低分化または分化型腺癌の脱分化、5) 腺腫とも癌とも判定が困難な腫瘍、の5つの型がある。これらの中で、1. 通常型で腺腫との組織学的区別がつかないもの、と2-5)腺腫とも癌とも判定が困難な腫瘍、の2つは、組織所見のみでは炎症性発癌早期病変か通常の腺腫が炎症粘膜に偶発したものか(散発性腺腫)、の鑑別が容易ではない。厚生労働省班研究によるUCにおける異型上皮の組織分類<sup>28)</sup>では、2-5)はUC-IIIに分類されている。

上述した“1. 通常型で腺腫との組織学的区別がつかないもの、と2-5)腺腫とも癌とも判定が困難な腫瘍”の病理組織学的鑑別には、Ki-67 染色による増殖帯の分布様式と p53 染色による p53 蛋白過剰発現の有無が、有用な補助的手段とされてきているが<sup>15, 16)</sup>、解決すべき問題点も残されている。増殖帯の分布様式は、それが腺管中層～表層に存在する（本研究の superficial）top-down morphogenesis と、腺管中層～深層に存在する（本研究の basal）bottom-up morphogenesis に大別され<sup>19)</sup>、前者は散発性腺腫、後者は dysplasia の指標と考えられているが<sup>15, 16)</sup>、これら2つ以外の増殖帯パターン（本研究の diffuse または others）を示す病変については散発性腺腫と dysplasia との鑑別はできない。他方、p53 蛋白過剰発現については、同蛋白過剰発現は dysplasia に必ずしも特異的なものではなく、通常の腺腫でも少数ながら蛋白過剰発現を示すものがある<sup>23)</sup>。また、遺伝子異常が存在しても p53 染色で蛋白過剰発現(-)とされる偽陰性も存在するため<sup>20)</sup>、p53 蛋白過剰発現がないことから dysplasia を否定し、散発性腺腫と診断することもできない。これらのことから、UC の dysplasia と散発性腺腫の鑑別精度を高めるためには、増殖帯の分布と p53 蛋白過剰発現の他に、あらたな病理組織学的マーカーを加える必要がある。

本研究では、dysplasia の p53 蛋白過剰発現偽陰性の問題を解決する手段として、アポトーシスの発現状況に着目した。アポトーシスは主に内因系経路と外因系経路の2つにより誘導されるが、p53 は内因系経路を制御しており、p53 蛋白は転写因子としてミトコンドリアに働き、bcl-2 ファミリー蛋白の Bax 等を介してアポトーシスを誘導する<sup>24)</sup>。従って、p53 遺伝子変異によりアポトーシスの誘導に障害が生じると、組織学的に同定されるアポトーシスの頻度も減少することが予想される。p53 遺伝子変異は、変異型 p53 蛋白の分解遅延による核内蓄積<sup>35)</sup>により、免疫染色で蛋白過剰発現として同定することが可能である。他方で、遺伝子変異として蛋白の truncation を来す nonsense mutation や deletion、insertion などの frameshift mutation、splicing site mutation が生じた場合は、p53 蛋白自体が形成されないため、蛋白過剰発現は陰性となる（蛋白過剰発現偽陰性）<sup>36)</sup>。しかし、p53 蛋白過剰発現陰性病変でも、

組織学的同定されるアポトーシスが減少していれば、背景に同遺伝子変異が存在する（p53 蛋白過剰発現偽陰性）ことの推定が可能である。こうしたことから、本研究では p53 遺伝子変異が高率に出現する<sup>22)</sup> dysplasia では p53 蛋白過剰発現の有無にかかわらずアポトーシスが抑制されており、その評価が p53 蛋白過剰発現偽陰性の dysplasia と散発性腺腫を鑑別するためのマーカーになりうることを予想した。結果は予想とは異なり、M30 cytoDeath 染色でみたアポトーシスは、dysplasia 群が腺腫群に比べ AI (apoptotic index) が有意に高く (1.76% vs. 0.61%,  $P < 0.0001$ )、dysplasia 群ではアポトーシスの抑制は生じていなかった (表 2)。p53 免疫染色でみた p53 蛋白過剰発現の頻度は、dysplasia 群が腺腫群に比べ有意に高かったことから (51.7% vs. 15.0%,  $P < 0.0001$ )、同蛋白過剰発現偽陰性例の存在を考慮しても、dysplasia 群は腺腫群に比べ p53 遺伝子変異は高率に生じていることが推定される。このことから、dysplasia におけるアポトーシスは、p53 により制御された経路以外で誘導されている可能性が示唆される。他方で、dysplasia におけるアポトーシス誘導のメカニズムは不明であるものの、本研究での予想とは逆の意味で、M30 cytoDeath 染色で評価したアポトーシスは、dysplasia と散発性腺腫を鑑別するためのマーカーとして有用と考えられる。AI のカットオフ値を 2.0 に設定した場合、dysplasia 群の AI は 2.0 以上と未満とでほぼ半数に別れたが、腺腫群では 1 例を除き全例が AI 2.0 未満であった (図 4-C)。すなわち、AI が 2.0 以上の病変は、dysplasia の可能性が高いと考えることができる。

UC の dysplasia を診断する新たなマーカーとしては、近年、 $\alpha$ -methylacyl-CoA racemase (AMACR) が注目されている。AMACR は胆汁酸生合成や分岐脂肪酸の $\beta$ 酸化に関与する酵素<sup>37)</sup>であり、前立腺癌や各種腫瘍性病変で高発現し、非腫瘍粘膜ではほとんど発現しないと報告されている<sup>38)</sup>。UC では dysplasia や癌では 60-90% 程度の発現が確認されているが<sup>25-27)</sup>、これまで dysplasia と通常の腺腫とを直接比較した研究は少ない<sup>39)</sup>。本研究結果では、AMACR 染色陽性率は dysplasia 群、腺腫群ともに 80% 以上であり、両群間に有意差はなかった。しかし、陽性細胞の分布様式には明かな違いがあり、dysplasia 群では腺管中層～深部 (basal) に分布するものが 72.5% であったのに対し、腺腫群では腺管全長にわたってびまん性に分布するもの (diffuse) が 70.0% であった (表 2, 図 3)。AMACR 陽性細胞の分布様式は、UC の dysplasia と散発性腺腫の鑑別に有効はマーカーと考えられるが、UC の大腸粘膜には種々の程度の炎症や、炎症再生異型上皮も存在する。今後は、こうした非腫瘍性・炎症性粘膜における AMACR 発現を系統的に検討する必要がある。

本研究では、UC の dysplasia と散発性腺腫の病理学的鑑別法を確立することを目的として、「AMACR 発現様式」と「アポトーシス出現状況」について検討したが、これら 2 つの因子を新たに加えることで、従来より有用とされてきた「増殖帯の分布」「p53 蛋白過剰発現」の問題点に関して一定の解決がなされたものと考えられる。4 つの因子を用いた層別化では (図 5)、対象病変は、A 群：増殖帯の分布が basal, B 群：増殖帯の分布が diffuse または others で、p53 蛋白過剰発現 (+) もしくは AMACR 陽性細胞分布が basal、C 群：増殖帯の分布が diffuse または others で、p53 蛋白過剰発現 (-) かつ AMACR 陽性細胞分布が others、D 群：増殖帯の分布



が superficial. の 5 群に分類された。これらの中で、A 群と D 群は増殖帯の分布から、従来の報告<sup>15, 16)</sup>通り、全例が dysplasia と腺腫であった。増殖帯の分布の点で dysplasia か散発性腺腫かの鑑別が困難である B 群と C 群で、p53 蛋白過剰発現も AMACR の basal の発現もみられない C 群は、全例が腺腫であり、AMACR の basal の発現は p53 蛋白過剰発現偽陰性を除外する所見として有用と考えられた。B 群については、p53 蛋白過剰発現と AMACR 発現には様々なパターンがあり、その中には dysplasia も腺腫も含まれたが、M30 cytoDeath 染色で AI が 2.0 以上のものは全例が dysplasia であり、B 群に入る病変の鑑別にはアポトーシスが有用と考えられた。図 5 を元に作成した、dysplasia と散発性腺腫の病理組織学的鑑別アルゴリズム(図 6)を用いることで、本研究で対象とした dysplasia の 75.9%と腺腫の 87.5%は排他的診断可能であった。本アルゴリズムに沿って系統的な病理組織診断を行うことで、UC に発生する dysplasia の内視鏡的サーベイランス生検の診断精度が向上するものと期待される。今後は、UC 粘膜に発生した種々の異型上皮に本アルゴリズムを適用した前向き研究を行うことで、その有効性を検証することが必要である。また、鑑別精度が低いまま残されている、[増殖帯分布が diffuse または others/p53 蛋白過剰発現 (+)もしくは AMACR 発現が basal/AI<2] (B 群で AI<2) の鑑別精度を上げるための新規補助手段の開発が必要と考えられた。

## 結 論

UC の dysplasia と散発性腺腫の病理組織学的鑑別には、従来よりその有用性が報告されている増殖帯の分布様式、p53 蛋白過剰発現に加え、AMACR 発現様式とアポトーシス頻度も有用な因子と考えられた。これら 4 つの因子を組み合わせた系統的病理診断を行うことにより、dysplasia と散発性腺腫のより精度の高い鑑別が可能になるものと期待される。

## 謝辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学医歯学総合研究科消化器内科学分野、寺井崇二教授、同分子・診断病理学分野、味岡洋一教授に深謝いたします。また、本研究に関して協力を頂きました分子・診断学分野職員（山口尚之、佐藤彩子、小林和恵）をはじめ教室の皆様に深謝いたします。

## 文 献

1. Ekblom A, Helmick C, Zack M and Adami HO: Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 323: 1228-1233, 1990.
2. Pohl C, Hombach A and Kruis W: Chronic inflammatory bowel disease and cancer. *Hepatogastroenterol* 47: 57-70, 2000.
3. Vieth, M. and H. Neumann, Current issues in inflammatory bowel disease neoplasia. *Histopathology* 66: 37-48, 2015.
4. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, Appelman HD, Fenoglio CM, Haggitt RC, Ahren C, Correa P, Hamilton SR, Morson B, Sommers SC, Yardely JH: Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 14: 931-68, 1983.
5. Itzkowitz SH: Inflammatory bowel disease and cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 26: 129, 1997.
6. 厚生労働科学研究費助成金特定疾患対策研究事業「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」(日比班)癌化「サーベイランス法の確立」プロジェクト研究グループ, 潰瘍性大腸炎サーベイランスアトラス, 2006.
7. Hata K, Kishikawa J, Anzai H, Shinagawa T, Kazama S, Ishii H, Nozawa H, Kawai K, Kiyomatsu T, Tanaka J, Tanaka T, Nishikawa T, Otani K, Yasuda K, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T: Surveillance colonoscopy for colitis-associated dysplasia and cancer in ulcerative colitis patients. *Digestive endoscopy*. 28: 260-265, 2016.
8. Blackstone M, Riddell R, Rogers B and Levin B: Dysplasia-associated lesion or mass (DALM) detected by colonoscopy in long-standing ulcerative colitis: an indication for colectomy. *Gastroenterology* 80: 366-374, 1981.
9. Murphy J, Kalkbrenner KA, Pemberton JH, Landmann RG, Heppell JP, Yong-Dadok TM, Etzioni DA: Dysplasia in ulcerative colitis as a predictor of unsuspected synchronous colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 57: 993-998, 2014.
10. Itzkowitz S and Harpaz N: Diagnosis and management of dysplasia in patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 126: 1634-1648, 2004.
11. Ullman T, Odze R and Farraye FA: Diagnosis and management of dysplasia in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon. *Inflamm Bowel Dis* 15: 630-638, 2009.
12. 味岡洋一、渡辺英伸、小林正明、松田圭二、太田玉紀、斉藤英俊、佐々木正貴. 潰瘍性

- 大腸炎に合併する大腸癌・dysplasia の肉眼・実体顕微鏡像と生検組織診断. 胃と腸 30: 629-642, 1995.
13. Odze R: Adenomas and adenoma-like DALMs in chronic ulcerative colitis: a clinical, pathological, and molecular review. *Am J Gastroenterol* 94: 1746-1750, 1999.
  14. 味岡洋一、松本誉之、日比紀文：症例検討 colitic cancer/dysplasia の病理組織診断の現状と実際. 胃と腸 43: 1343-1350, 2008.
  15. Neumann H, Vieth M, Langner C, Neurath MF, Mudter J: Cancer risk in IBD: How to diagnose and how to manage DALM and ALM, *World J Gastroenterol* 21: 3184-3191, 2011.
  16. 味岡洋一、渡辺英伸、須田和敬、馬場洋一郎、清水大喜、西倉 健、渡辺 玄：IV. 病理学的診断 (2) Dysplasia、癌の生検診断のプロセス. 早期大腸癌 9: 63-71, 2005.
  17. Kobayashi M, Watanabe H, Ajioka Y, Honma T, Asakura H: Proliferating cell nuclear antigen/cyclin expression in small adenomas of the large intestine in relation to size and macroscopic appearance. *J Gastroenterol* 29: 139-146, 1994.
  18. Koji K, Ajioka Y, Watanabe H, Oda K, Nimura Y: Proliferation kinetics and apoptosis of serrated adenoma of the colorectum. *Pathol Int* 53: 277-283, 2003.
  19. Shih I-M, Wang T-L, Traverso G, Romans K, Hamilton SR, Ben-Sasson S, Kinzler KW, Vogelstein B: Top-down morphogenesis of colorectal tumors. *PNAS* 98: 2640-2645, 2001.
  20. Baas IO, Mulder JWR, Johan G, Offerhaus GJ, Vogelsein B, Hamilton SR: An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *J Pathol* 172: 5-12, 1994.
  21. Ajioka Y, Watanabe H and Matsuda K: Over-expression of p53 protein in neoplastic changes in ulcerative colitis: immunohistochemical study. *J Gastroenterol* 30 Suppl 8: 33-35, 1995.
  22. Walsh S, Loda M, Torres C, Antonioli D and Odze R: P53 and beta catenin expression in chronic ulcerative colitis--associated polypoid dysplasia and sporadic adenomas: an immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 23: 963-969, 1999.
  23. 味岡洋一、渡辺英伸、西倉 健、桑原明史、桑原史郎、松田圭二：形態計測と p53 蛋白、Ki-67 免疫染色からみた大腸腺腫と腺癌. 病理と臨床 16: 37-43, 1998.
  24. Zeestraten, E.C., et al., The Prognostic Value of the Apoptosis Pathway in Colorectal Cancer: A Review of the Literature on Biomarkers Identified by Immunohistochemistry. *Biomark Cancer* 5: 13-29, 2013.

25. Dover R and Odze R: AMACR immunostaining is useful in detecting dysplastic epithelium in Barrett's esophagus, ulcerative colitis, and Crohn's disease. *Am J Surg Pathol* 30: 871-877, 2006.
26. Marx A, Simon P, Simon R, Mirlacher M, Izbicki JR, Yekebas E, Kaifi JT, Terraciano L, Sauter G: AMACR expression in colorectal cancer is associated with left-sided tumor localization. *Virchows Arch* 453: 243-248, 2008.
27. van Shaik FDM, Oldenburg B, Johan G, Offerhaus A, Schipper MEI, Vleggaar FP, Siersema PD, van Oijen MGH, ten Kate FJW: Role of immunohistochemical markers in predicting progression of dysplasia to advanced neoplasia in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 18: 480-488, 2012.
28. 武藤徹一郎、若狭治毅、喜納勇、渡辺英伸、名倉宏、小西文雄：潰瘍性大腸炎に出現する異型上皮の病理組織学的判定基準 – surveillance colonoscopy への応用を目的とした新判定基準の提案 – . *日本大腸肛門誌* 47: 547-551, 1994.
29. 大腸癌研究会編：大腸癌取扱い規約、第 8 版、金原出版、東京、2013.
30. Kobayashi M, Watanabe H, Ajioka Y, Honma T, Asakura H: Effect of K-ras mutation on morphogenesis of colorectal adenomas and early cancers: relationship to distribution and proliferating cells. *Human Pathol* 27: 1042-1049, 1996.
31. Oohashi Y, Watanabe H, Ajioka Y, Hatakeyama K: p53 immunostaining distinguishes malignant from benign lesions of the gall-bladder. *Pathol Int* 45: 58-65, 1995.
32. Annenkov A, Nishikura K, Domori K, Ajioka Y: Alpha-methylacyl-coenzyme A racemase expression in neuroendocrine neoplasms of the stomach: *Virchows Arch* 461: 169-175, 2012.
33. Carr NJ: M30 expression demonstrates apoptotic cells, correlates with in situ end-labeling, and is associated with Ki-67 expression in large intestinal neoplasms. *Arch Pathol Lab Med* 124: 1768-1772, 2000.
34. 味岡洋一、佐野知江：潰瘍性大腸炎における大腸癌の病理組織学的特徴と生検診断. *日消誌* 110: 379-384, 2013.
35. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Eliyahu D, Oren M and Levine AJ: Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 8: 531-539, 1988.
36. Georg B, Datar RH, Wu L, Cai J, Patten N, Beil SJ, Groshen S, Stein J, Skinner D, Jones PA, Cote RJ: p53 gene and protein status: the role of p53 alterations in predicting outcome in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol* 25: 5352-5358, 2007.

37. Fingerhut SWR and Conzelmann E: Purification and properties of an alpha-methylacyl-CoA racemase from rat liver. *Eur J Biochem* 222: 313-323, 1994.
38. Jiang Z, Fanger GR, Woda BA, Banner BF, Algate P, Dresser K, Xu J, Chu PG: Expression of  $\alpha$ -methylacyl-CoA racemase (P504S) in various malignant neoplasms and normal tissues: a study of 761 cases. *Human Pathol* 34: 792-796, 2003.
39. Strater J, Wiesmuller C, Perner S, Kuefer R, Moller P:  $\alpha$ -methylacyl-CoA racemase (AMACR) immunohistochemistry in Barrett's and colorectal mucosa: only significant overexpression favours a diagnosis of intraepithelial neoplasia. *Histopathology* 52: 399-402, 2008.

表 1 対象病変の臨床病理学的特徴

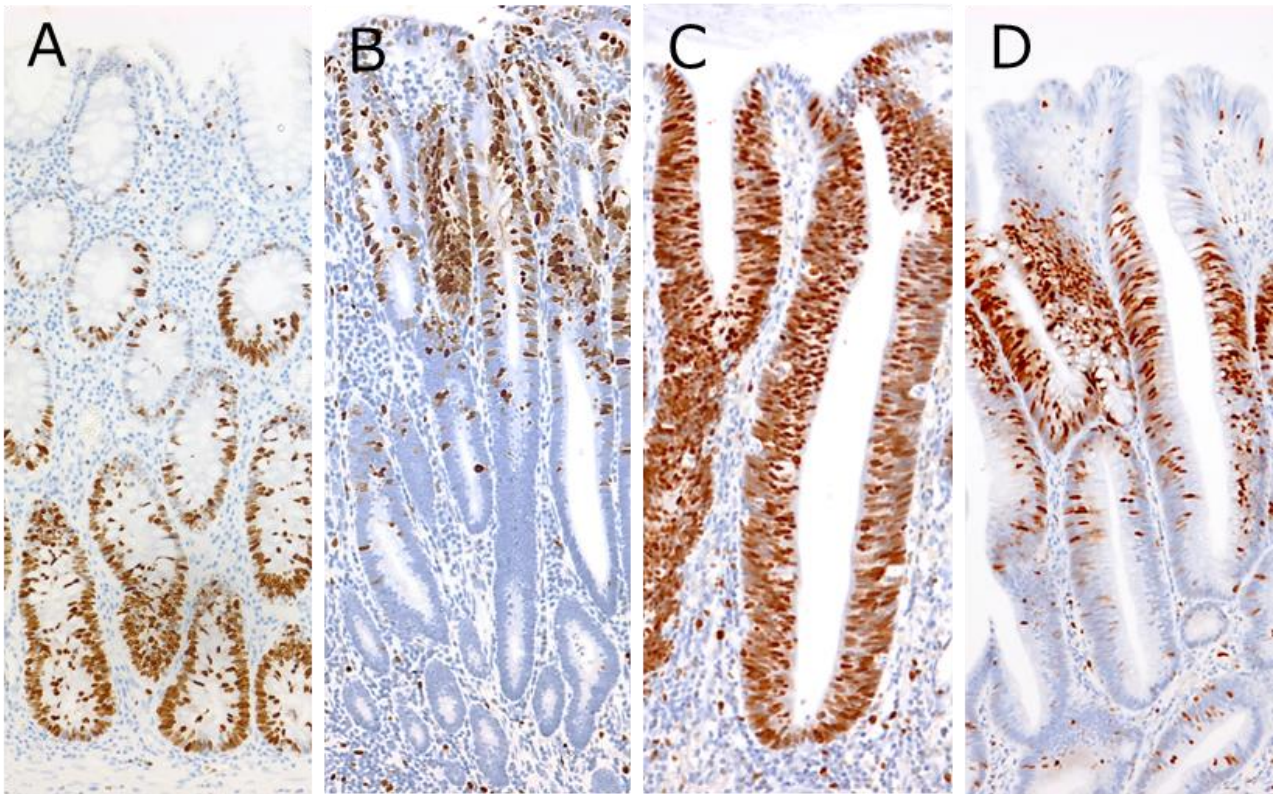
	dysplasia (17症例29病変)	腺腫 (36症例40病変)
性別（男：女）	9:9	25:11
年齢 平均±SD <sup>a</sup>	43.0±15.4	69.5±12.3
発生部位		
右側結腸	2	11
左側結腸・直腸	27	29
大きさ（mm） <sup>b</sup>		
<10	7	25
10≤X<20	3	11
≥20	19	4
異型度		
低異型度	22	23
高・低異型度	6	16
高異型度	1	1

a, b: P&lt;0.0001

表 2 免疫染色結果

	dysplasia (29病変)	腺腫 (40病変)	P値
Ki-67			
LI (%) 中央値 (範囲)	40.4 (25.5-51.6)	44.3 (34.8-53.7)	n.s.
増殖帯分布			<0.0001
basal	16	0	
superficial	0	26	
diffuse	9	10	
その他	4	4	
p53			<0.0001
negative	3	0	
sporadic	11	34	
nested	6	6	
diffuse	9	0	
	15 (51.7%)	6 (15.0%)	
AMACR			<0.0001
negative	5	7	
basal	21	5	
superficial	0	0	
diffuse	2	28	
others	1	0	
	24 (82.8%)	33 (82.5%)	
Apoptosis (M30 cytoDeath)			<0.0001
AI (%) 中央値 (範囲)	1.76 (0.77-3.32)	0.61 (0.30-0.88)	

AI: apoptotic index



**図1: Ki-67染色でみた陽性細胞高密度領域（増殖帯）の分布様式**

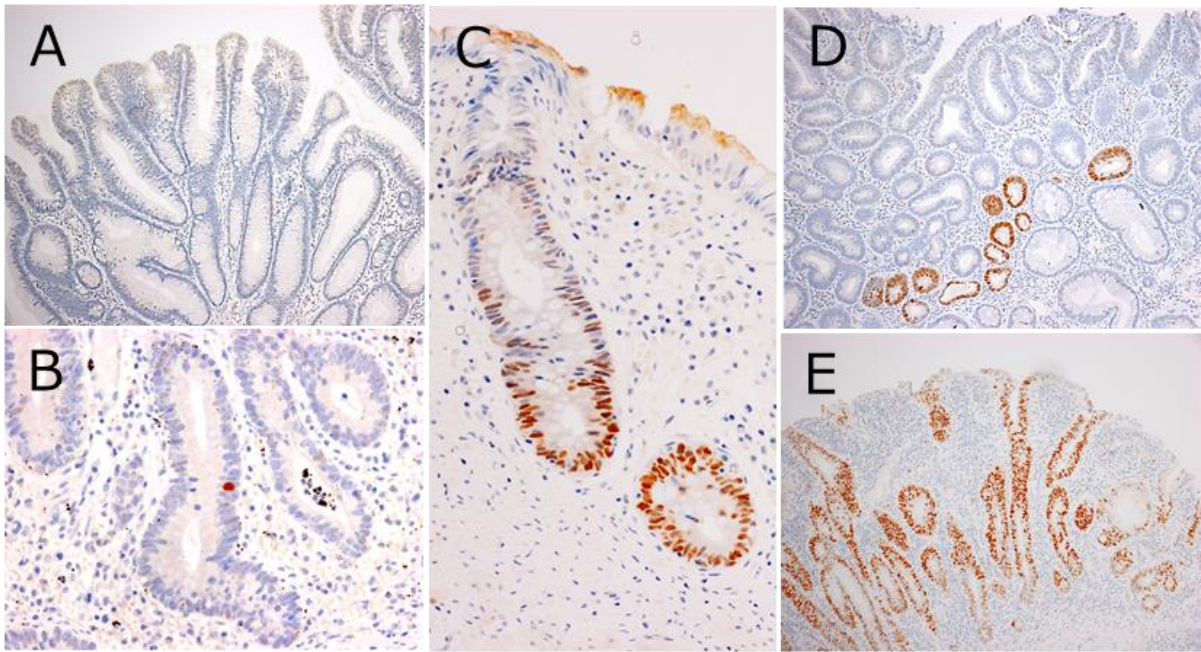
A: basal. 増殖帯は腺管深層に分布. dysplasia例.

B: superficial. 増殖帯は腺管中層～表層に分布. 腺腫例.

C: diffuse. 増殖帯は腺管全長にわたって分布. 腺腫例.

D: others. 増殖帯は腺管中層に分布. 腺腫例.





**図2: p53染色陽性細胞の分布様式**

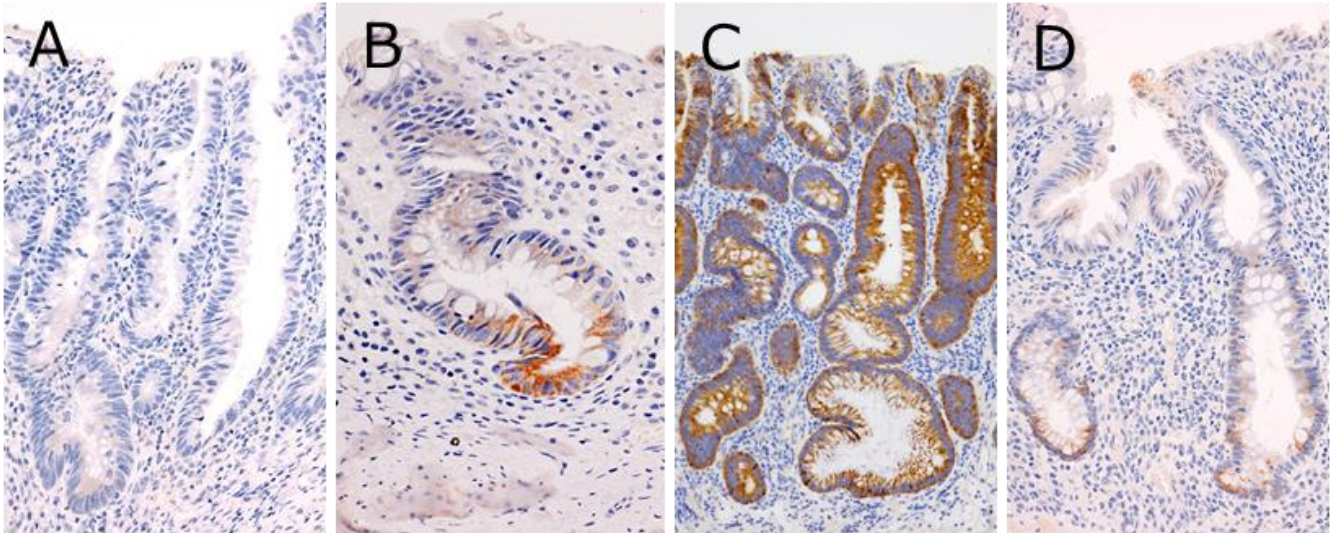
A: negative. 陽性細胞なし. 腺腫例.

B: sporadic. 陽性細胞が少数散在生に存在する. dysplasia例.

C: nested. 陽性細胞が腺管中層から深部にかけて集簇する. dysplasia例.

D: nested. 陽性細胞は数個の腺管で集簇巣を形成. 腺腫例.

E: diffuse. 陽性細胞が腺管全長にわたってびまん性に存在する. dysplasia例.



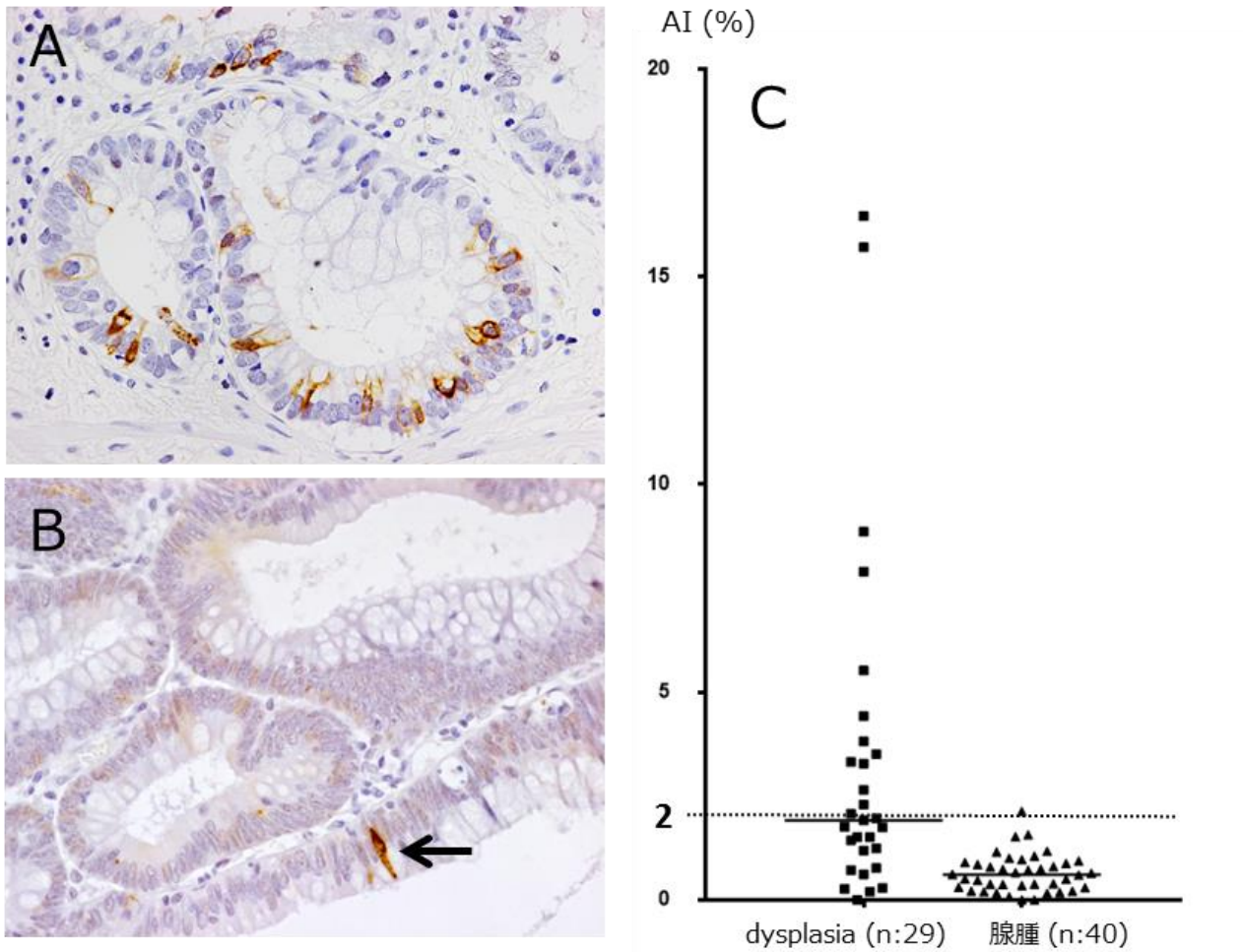
**図3: AMACR染色陽性細胞の分布様式**

A: negative. 陽性細胞なし. dysplasia例.

B: basal. 陽性細胞が腺管深部に存在する. dysplasia例.

C: diffuse. 陽性細胞が腺管全長にわたってびまん性に存在する. 腺腫例.

D: others. 陽性細胞が腺管深部、中層か、表層に少数散在する. dysplasia例.



**図4: M30 cytoDeath染色陽性細胞とAIの分布様式**

A: dysplasia例. 腺管底部に細胞質全体が茶色に染まる陽性細胞が散在性に存在.

B: 腺腫例. 陽性細胞が1個認められる (矢印) .

C: dysplasiaと腺腫のAI (apoptotic index)の分布様式. cut off値を2.0とすると, 腺腫では1例を除き全例が2.0未満.

[illegible]

	dysplasia
	腺瘤

	Ki-67	p53	AMACR	AI
	basal	過剰発現+	basal	≥ 2.0
	diffuse, others	-	-	-
	superficial	過剰発現-	others	< 2.0

図5: 各種染色結果による対象病変の層別化

dysplasia 29病変と腺腫40病変は、A群：増殖帯の分布がbasal、B群：増殖帯の分布がdiffuseまたはothersで、p53蛋白過剰発現 (+)もしくはAMACR陽性細胞分布がbasal、C群：増殖帯の分布がdiffuseまたはothersで、p53蛋白過剰発現 (-)かつAMACR陽性細胞分布がothers、D群：増殖帯の分布がsuperficial.



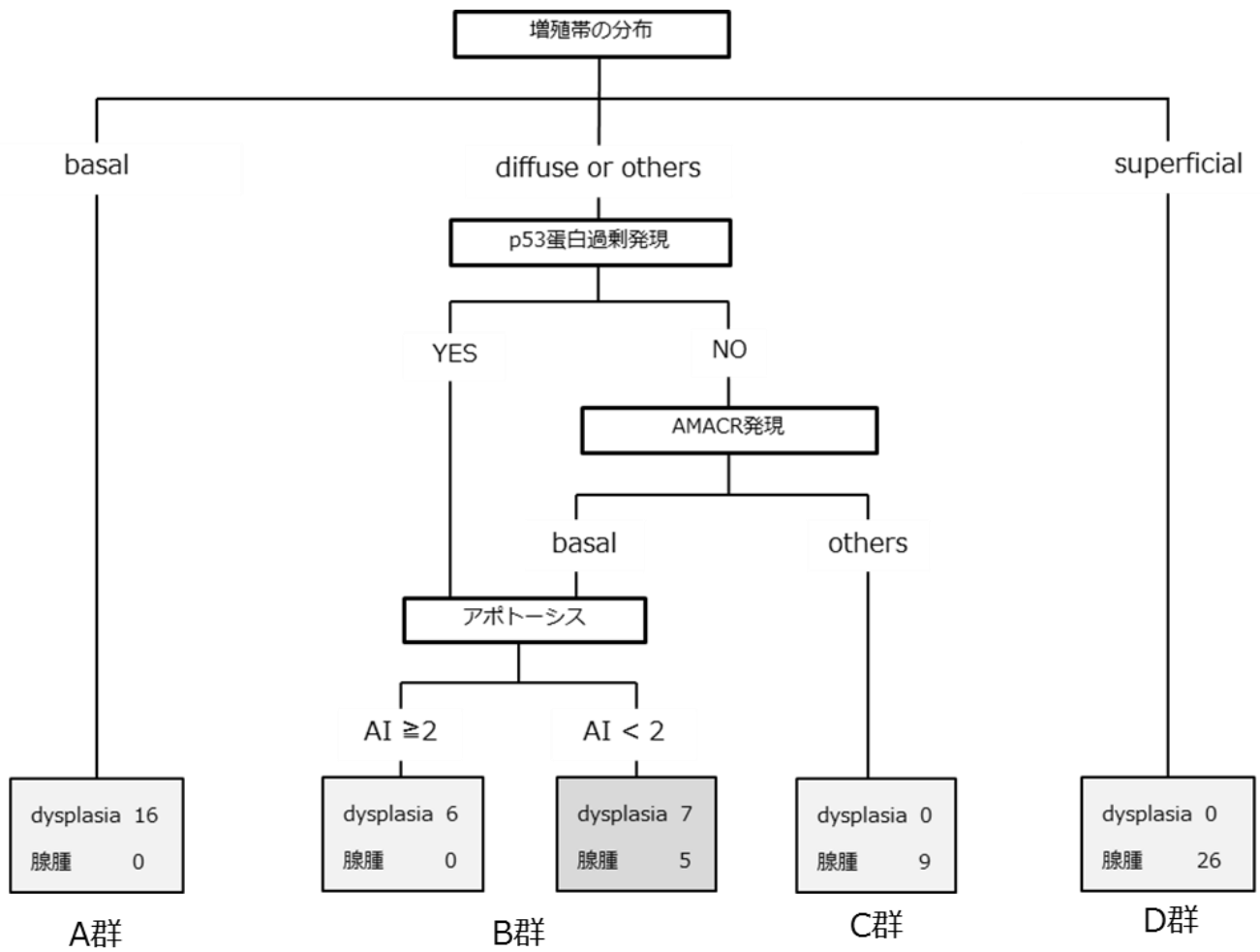


図6: 各種染色によるdysplasiaと散発性腺腫の病理組織学的鑑別アルゴリズムと鑑別結果