

V 組織形態計測による大腸 絨毛状腫瘍の異型度の検討

1 目的

絨毛状構造は腺管構造と本質的には同じであり、絨毛状腫瘍は大腸上皮性腫瘍の一つの発育形態であるが、その良性悪性組織診断をどのようにするべきかが問題となる。また、絨毛状腫瘍が悪性化したのかどうかを判断するためにも、その良性悪性組織診断基準を明確にしておくことが必要である。そこで、組織形態計測により絨毛状腫瘍の異型度を数値化して客観的評価を行い、その良性悪性組織診断基準についての検討を行った。

2 対象と方法

臨床病理学および病理組織学的検討を行った絨毛状腫瘍50病巣を組織形態計測の対象とした。組織の異型度を数値化するための指標としては以下に定義した二つの異型度係数を用いた^{57,70)}。

核腺管係数 Index of Nucleus-Gland (ING) :

$$\text{ING} = \frac{\text{計測部分に占める腫瘍腺管の核面積}}{\text{計測部分に占める腫瘍腺管の細胞面積}}$$

乱れ係数 Index of Structural Atypia (ISA) :

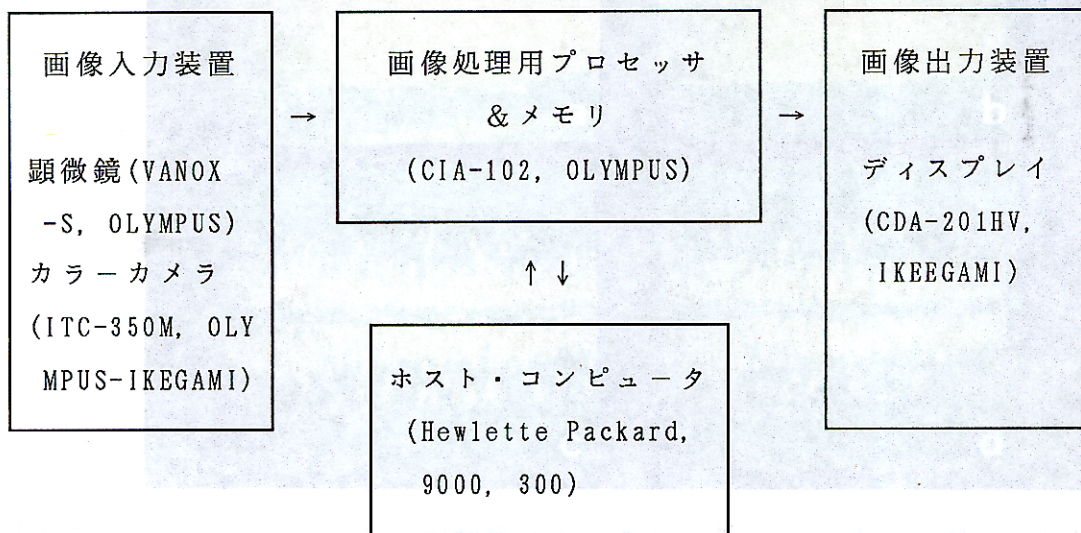
$$\text{ISA} = \frac{\text{腫瘍組織の一定面積の中に占める腺管面積}}{\text{腫瘍組織の一定面積}}$$

組織形態計測は、マイクロコンピュータ (Hewlette Packard, 9000, 300, USA) をホストコンピュータとするカラー画像解析装置 (OLYMPUS, CIA-102, Tokyo) によって行った。CIA-102は、対象を512×512画素と256段階の濃度レベルにデジタル画像化し、R (赤), G (緑), B (青) 三色の画像の合成によりカラー画像化する。

原則として各病巣の最大割面のパラフィンブロックを2 μ に薄切、ヘマトキシリン単染色したものを組織形態計測に用いた。プレパラート上の組織像は、顕微鏡 (VANOX-S, OLYMPUS, Tokyo) からビデオカメラ (ITC-350M, OLYMPUS-IKEGAMI, Tokyo) を通して直接画像解析装置に入力し、モニター画面上 (CDA-201HV, IKEGAMI, Tokyo) に表示した。計測する組織成分 (腺管, 核) の抽出は、赤色 (R) の濃度差による拾い上げと、デジタイザーによる手動修正により半自動的に行った³³⁾。計測成分の面積は、抽出された画素数としてコンピュータにより自動的に計測された (図36, 37, 38)。

組織形態計測の部位としては、組織標本上において組織像が一様均一であると見做され、それがあある大きさの広がりをもっているような領域において行った。各領域についてINGは50~100倍で、ISAは20~50倍で3~5視野の計測を行い、それぞれその平均値をその領域の異型度係数値とした。大きい病変については任意に複数の領域を選び、各々の領域について別々に計測を行った (図39)。計測を行った総領域数は106領域である。

図 3 6 画像解析システム^{22.80)}



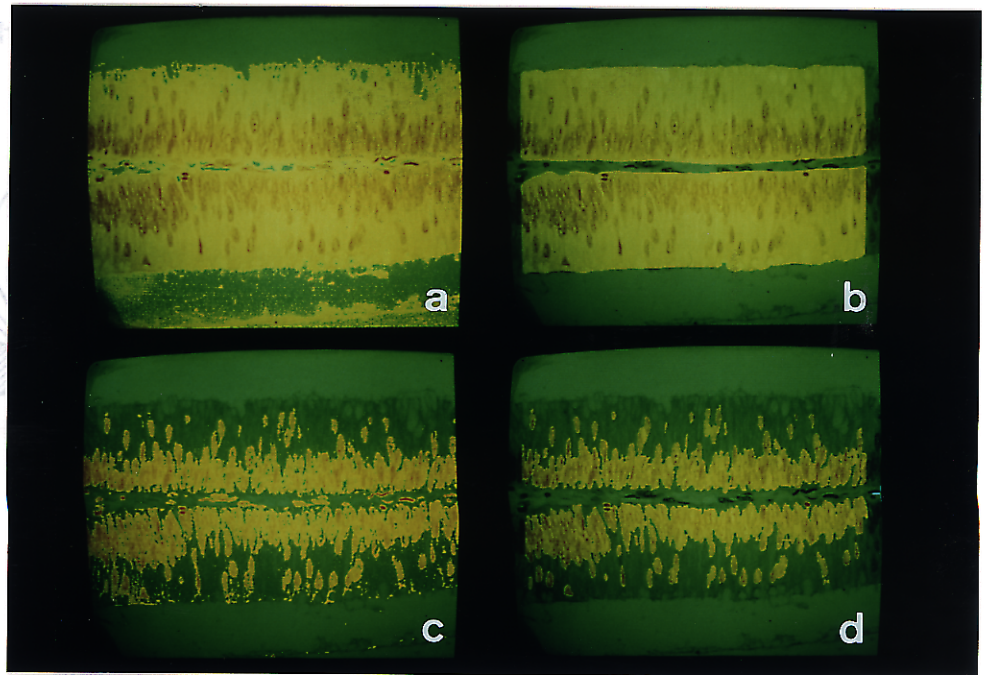


図 3 7 I N G の計測方法. 細胞質 (a , b) , 核 (c , d) の順に計測成分の抽出を行い, それらの面積を計測し, その面積比を求める.

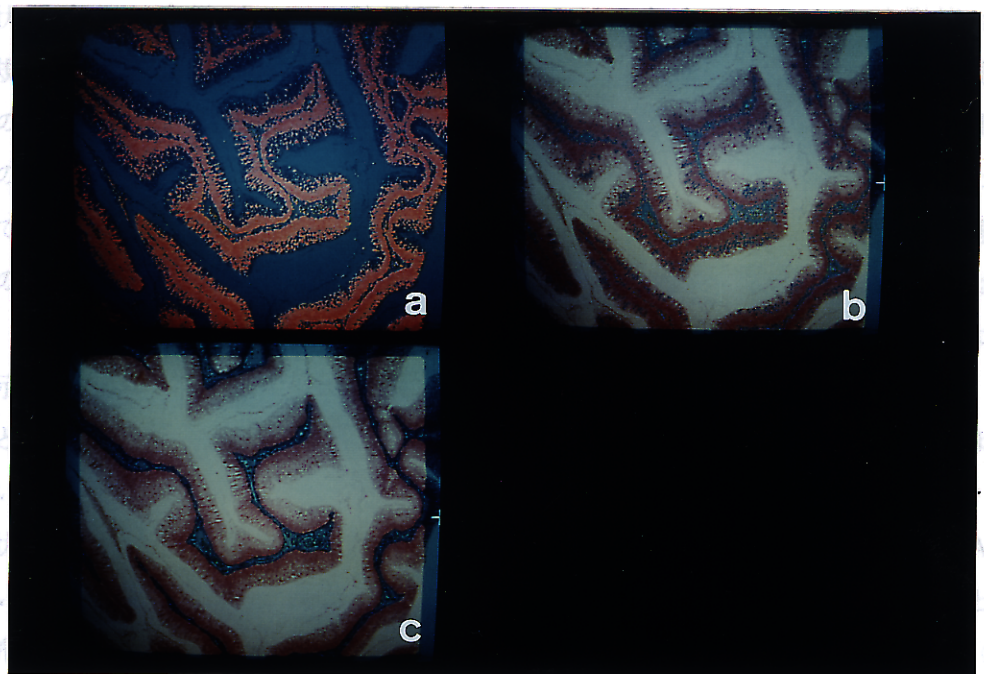
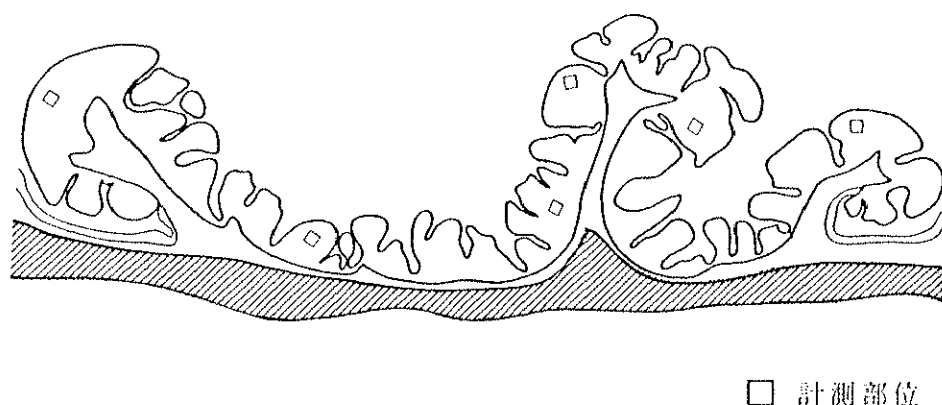


図 3 8 I S A の計測方法. 細胞質の抽出後 (a) , 腺管腔を埋め (b) , 一定画面に占める腺管面積の比を求める (c) .

図 3 9 計測部位の例



3 結果

絨毛状腫瘍50病巣(106計測領域)のINGおよびISAの計測値はともに正規分布を示した(図40a, b)。これまでに計測された良性腺管腺腫, 腺癌のING, ISAの計測値はそれぞれが正規分布をとり, 腺腫の計測値と腺癌のそれとの間にはING, ISAともに統計的有意差のみられることがわかっている^{57,78)}(表22)。そこで, 絨毛状腫瘍の計測値と良性腺管腺腫, 腺癌の計測値とを比較すると, 絨毛状腫瘍のINGの平均値と標準偏差は 42.5 ± 8.07 であり, 良性腺管腺腫のINGの計測値 38.1 ± 7.22 に近い値を示した。一方, 絨毛状腫瘍のISAの平均値と標準偏差は 88.8 ± 3.97 と平均値が非常に大きく, 腺癌のISAの計測値 84.8 ± 6.28 よりも大きい値をとった。

絨毛状腫瘍のING, ISA値の相関図をみると, 絨毛状腫瘍ではISA値が大きいため, 良性腺管腺腫に比べてやや右寄りに分布し, 良性腺管腺腫と腺癌の分布の中間を中心として腺腫側および癌側にばらついた分布を示した(図41)。

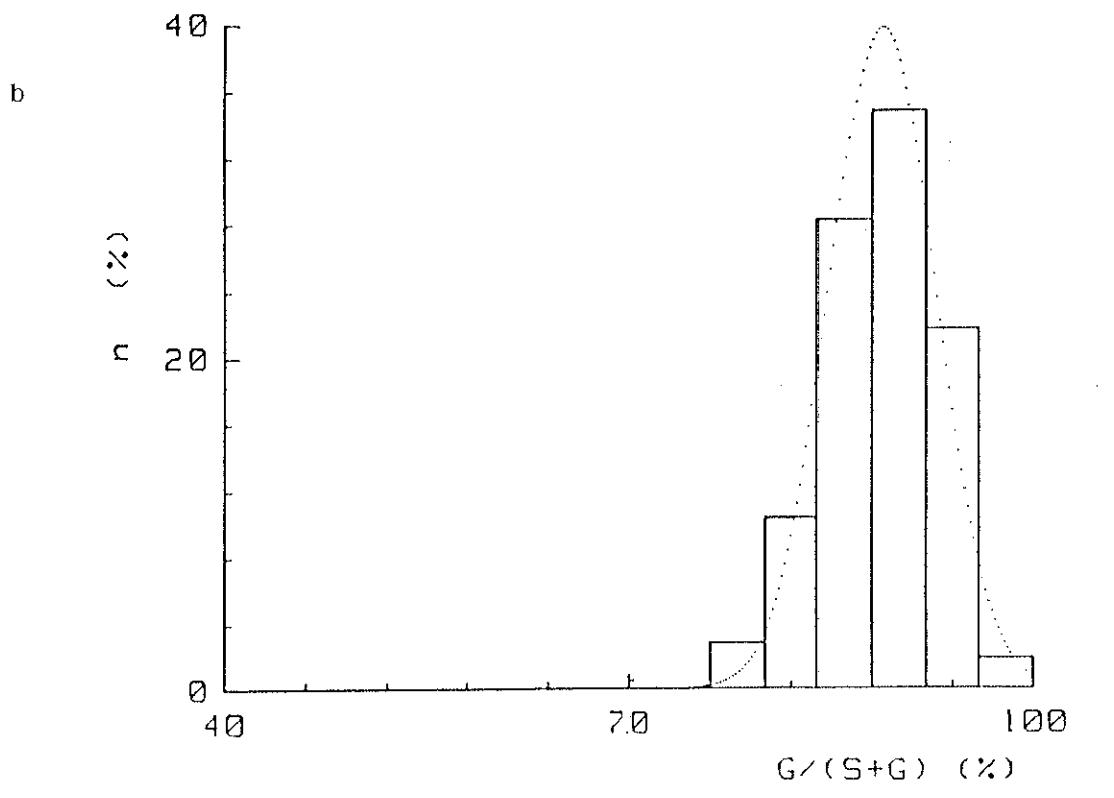
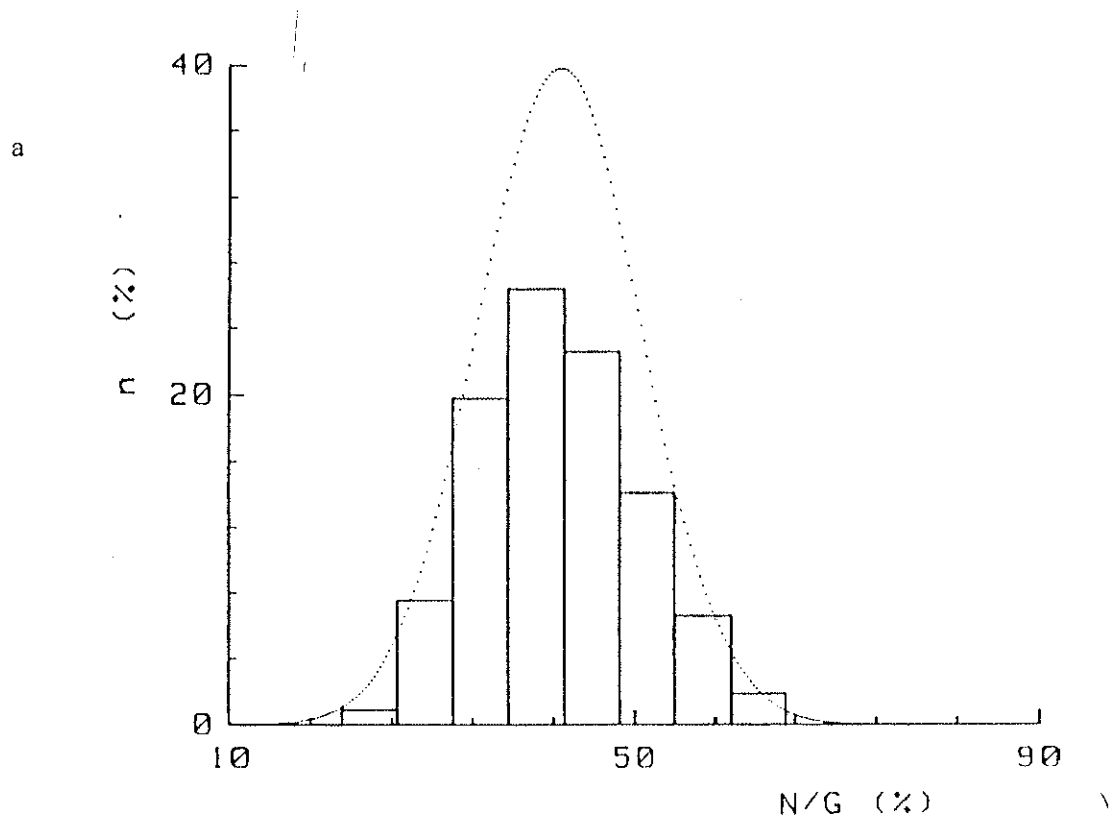


図 4 0 絨毛状腫瘍の組織形態計測値の分布. a ING, b ISA.

表 2 2 各病巣群の計測値⁵⁷⁾

	mean ± SD (%)	
	ING	ISA
絨毛状腫瘍	42.5 ± 8.07 (n=106)	88.8 ± 3.97 (n=106)
浸潤性 絨毛状腫瘍	46.7 ± 8.56 (n=28)*	89.7 ± 3.39 (n=28)**
良性腺管腺腫	38.1 ± 7.22 (n=253)	77.7 ± 6.54 (n=239)
境界領域病変 腺癌	49.3 ± 5.76 (n=60)	77.9 ± 7.16 (n=55)
	56.5 ± 9.16 (n=223)*	84.8 ± 6.28 (n=168)**

* ** p<0.01 有意差あり

大きな病巣についてはひとつの病巣内で数箇所の領域を別々に計測したが、そのうち代表的な6例の計測値についてING, ISA間の相関図をみると、症例ごとに病巣内の計測値間には多様なばらつきがみられた(図42)。

計測対象とした絨毛状腫瘍のうち、浸潤性絨毛状腫瘍(前章の浸潤形態の①②④を示すもの)14病巣(28計測領域)とそれ以外のものとの二群について、それらのING, ISA値の相関図をみると、両者の分布はかなり重なり合っていた(図43)。

剖面型(polypoid, flat, ulcerative type)ごとにING, ISAの平均値を比較すると、t検定(両側)上1%の危険率で各剖面型の計測値の間には有意差は認められなかった(表23)。

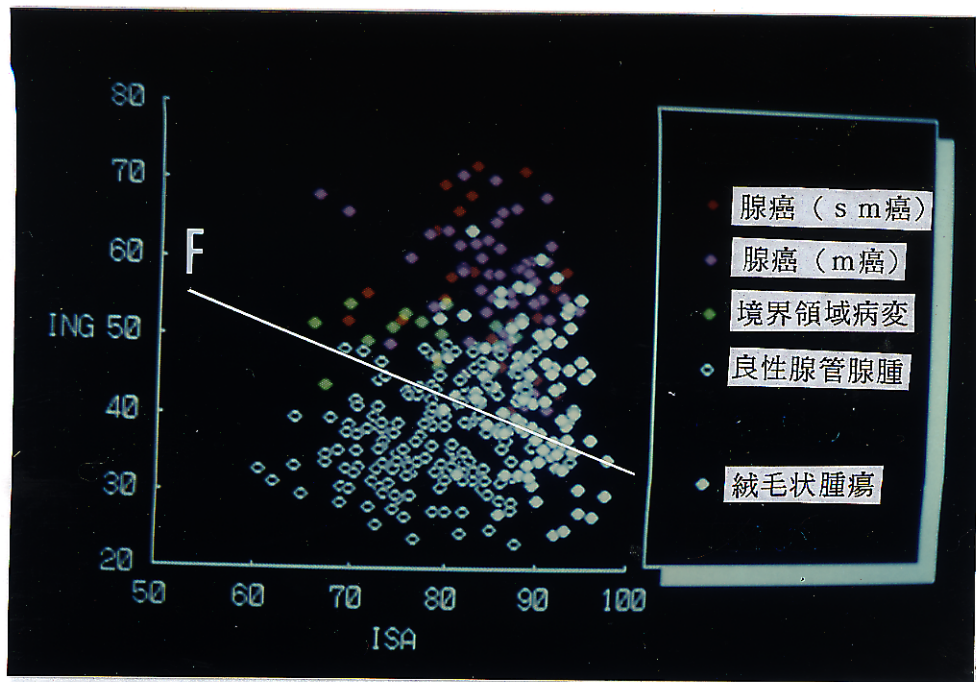


図 4 1 各病変群の ING, ISA 値の相関図. 図中の直線は, 良性腺管腺腫と腺癌の計測値から求めた二変量線形判別関数 (F).

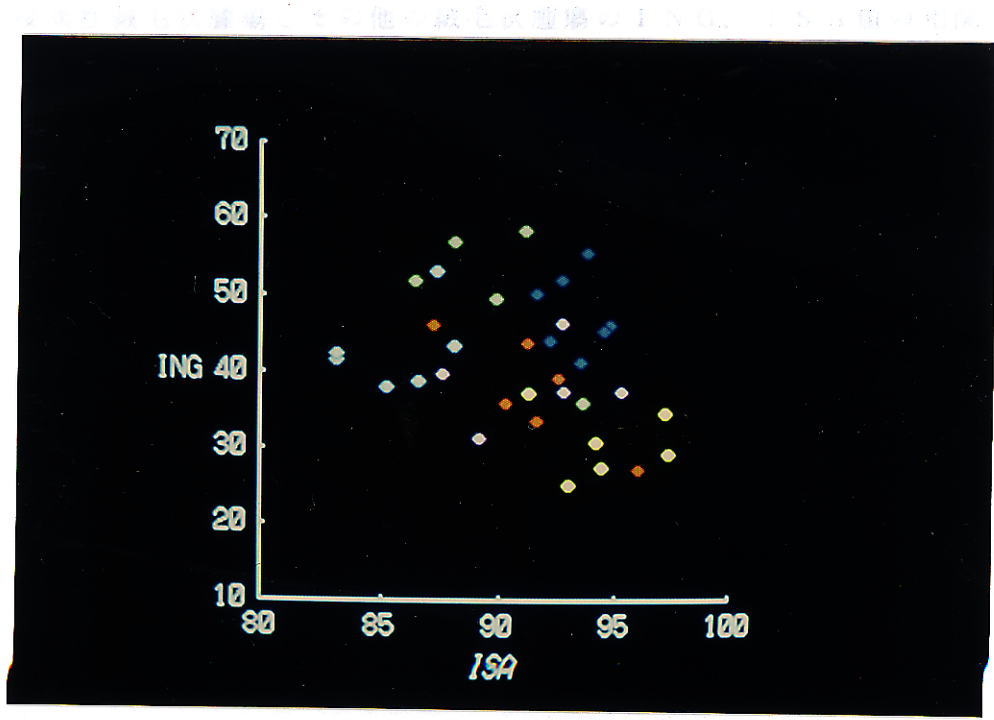


図 4 2 症例ごとの ING, ISA 値の相関図. 同色の点は, 同一病巣内の各計測領域の計測値を示す.

また、polypoid type の中で、浸潤の形態は考慮せずに、浸潤のあるものとないものとを比較した。ISA と ING の値を比較すると、浸潤性絨毛状腫瘍の ISA と ING の値は、他の絨毛状腫瘍の値と比べて、有意に低い値を示した。

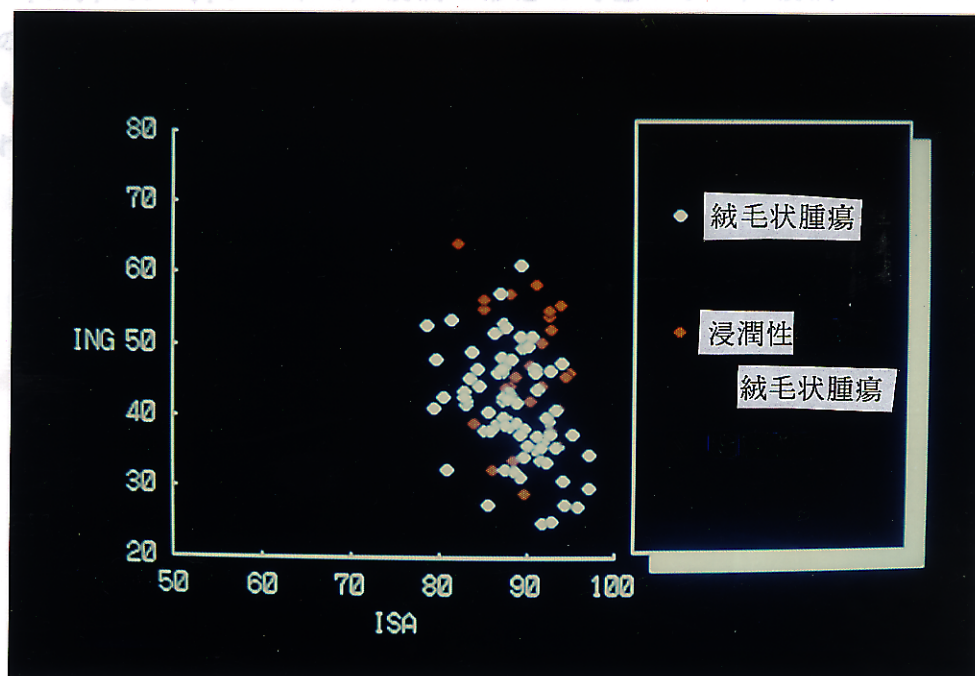


図 4 3 浸潤性絨毛状腫瘍とその他の絨毛状腫瘍の I N G , I S A 値の相関図.

表 2 3 剖面型と計測値

剖面型	mean ± SD (%)	
	ING	ISA
polypoid	43.2 ± 8.30 (n=30)*	88.1 ± 3.62 (n=30)**
flat	42.6 ± 8.09 (n=68)*	88.9 ± 4.22 (n=68)**
ulcerative	39.7 ± 7.12 (n= 8)*	89.9 ± 2.73 (n= 8)**

* p<0.05 ** p<0.01 有意差なし

また, polypoid type の中で, 浸潤の形態は考慮せずに, 浸潤のあるものとないものとの間でそれらの I N G, I S A の平均値を比較すると, I N G, I S A とともに, 両群の計測値の間には t 検定 (両側) 上 1 % の危険率で有意差は認められなかった (表 2 4) .

表 2 4 polypoid type の浸潤の有無と計測値

浸潤	mean ± SD (%)	
	I N G	I S A
(-)	40.6 ± 6.57 (n=15)*	88.4 ± 3.56 (n=15)**
(+)	45.7 ± 9.31 (n=15)*	87.8 ± 3.59 (n=15)**

** ** p < 0.01 有意差なし

4 考按

1) 絨毛状腫瘍の異型度の客観化

大腸腺腫と腺癌の間にみられる, いわゆる境界領域病変の異型度の評価とそれに基づく良性悪性組織診断基準に関しては一致した見解は得られておらず, その診断は病理医によってばらつきのあるのが現状である^{57, 82)}. 中村^{56, 57)}は, 異型度は連続でその集合は実数線分上の各点になぞらえることができ, それを良性悪性のふたつに分けることは連続体を一点で二つに分けることであるから, 組織学的に良性の群あるいは悪性の群への振り分けのできない“不確実な領域”が必ず生ずると述べている. そのわからない領域を狭めること, あるいは各人による境界領域病変の組織診断のばらつきをできるだけ小さくすることのためには, 何らかの形で客観的な組織診断基準を決める必要がある. その

ために大腸腺管腺腫，腺癌の異型度を組織形態計測によって数値化し，その客観的な評価に基づいて両者を鑑別しようとする試みが行われてきた^{57,70,79)}．その結果，二つの異型度係数（INGおよびISA）の計測値について，組織学的に明らかな良性腺管腺腫と明らかな腺癌との間で有意差がみられ，それらの組織の異型度を数値化するための指標として有用であることが報告されている^{57,70)}．

二つの異型度係数の定義は，

核腺管係数 Index of Nucleus-Gland (ING) :

$$\text{ING} = \frac{\text{その腺管に占める核面積}}{\text{腫瘍腺管あたりの細胞面積}}$$

乱れ係数 Index of Structural Atypia (ISA) :

$$\text{ISA} = \frac{\text{その中に占める（細胞+腺腔）面積}}{\text{腫瘍組織の一定面積}}$$

であるが⁵⁷⁾，ここで核腺管係数（ING）はN/C比そのものであり，細胞異型度の指標として重要な所見である．また，乱れ係数（ISA）は腺管密度であり，構造異型度の一つの指標とされている．そこで，絨毛状腫瘍の異型度についても同様の組織形態計測によって客観的な評価を試みた．

この場合まず問題となるのは，二つの異型度係数（INGおよびISA）を，良性腺管腺腫，腺癌を計測した場合と同様にそのまま絨毛状腫瘍に適用できるかどうかということである．絨毛状腫瘍では腺管が複雑な形態をとっているため，そのING値を計測する場合には，一腺管あたりとしての細胞面積を計測することは難しい．しかし，ある長さの絨毛部分を計測することで，ある細胞面積とそこに占める核面積の比を求めるという目的は達せられ，それは

INGと同様の意味をもつ。したがって、核腺管係数については方法のところで述べたように定義し、計測を行った。また、構造異型に関しては、前章で述べたように絨毛状構造は腺管構造と本質的には同じであるから、絨毛間腔は二次元的には通常の腺管腔に相当すると見做される。したがって、乱れ係数をそのまま適用した。

2) 組織形態計測値よりみた絨毛状腫瘍の良性悪性組織診断

絨毛状腫瘍のING値についてみると、その平均値は良性腺腫のそれに近い値を示している。これは絨毛状腫瘍の細胞異型が一般的に低いと認識されていることと一致する。その一つの要因としては、絨毛状腫瘍が胞体内に粘液を多くもっているために、細胞質面積が相対的に広がっていることがあげられる。一方、絨毛状腫瘍は間質が非常に狭く腺管が密であるために、そのISA値は非常に高い値をとっている。したがって、これらの計測値は日常の顕微鏡観察で認識される絨毛状腫瘍組織の異型度を反映している。

ING, ISA値の相関図により、それら二つの異型度係数値を総合的にみた場合の絨毛状腫瘍の異型度の傾向を良性腺管腺腫、腺癌のそれと比較してみると、絨毛状腫瘍の計測値は良性腺管腺腫、腺癌の計測値分布の境界領域を中心に分布している。これをさらに詳細にみると、INGのみをみれば明らかな良性の値をとるものも多いが、ISA値が高いために相関図上の計測値は、境界領域付近に分布している。良性腺管腺腫および腺癌の組織学的良性悪性診断基準からすると、ISAが高いということは腺管密度が高いということであり、一般的に構造異型が強いということである。既に述べたように、絨毛状構造が腺管構造と本質的には同じであるとすると、絨毛状腫瘍の異型度も従来の組織学的良性悪性診断基準の延長線上で捉えることが必要であろう。

次には、このように位置づけられる絨毛状腫瘍の異型度から、その良性悪性をどのように組織診断するかということが問題となる。

良性腺管腺腫および腺癌を統計的に二分する二変量線形判別関数は $F = 0.08(ING) + 0.04(ISA) - 6.59^{57)}$ である。これは良性腺管腺腫と腺癌の良性悪性判別のための客観的基準であり、ある腫瘍組織のING, ISA値をこの判別関数に入れ、 $F > 0$ のときには悪性、 $F < 0$ のときには良

性と判別される。しかし、浸潤性絨毛状腫瘍としたものとその他のものとで、それらのING, ISAの計測値の相関図上の分布が重なりあっていることからわかるように(図4.3), 上記の判別関数をそのまま絨毛状腫瘍に適用したのでは、悪性と見做される浸潤性絨毛状腫瘍の計測値の一部(4計測領域, 14%)は良性と判別されてしまう。

絨毛状腫瘍をあらかじめ組織学的に明らかな良性群と明らかな悪性群とに分け、それらの計測値から判別式を導くこともできるが、もともと絨毛状腫瘍は組織学的に良性悪性を区別することが難しいものであるから、最初に良性群と悪性群とに分けるのが難しい。良性腺管腺腫、腺癌の腺管構造と絨毛状腫瘍の絨毛状構造とが本質的に同じものであるとの観点からは、むしろ、良性腺管腺腫、腺癌に適用されている判別式を基準とした、統一的な絨毛状腫瘍の良性悪性判別基準を導くことが好ましい。そのためには、細胞異型度および構造異型度の評価の重み付けを変えずに、浸潤性絨毛状腫瘍の計測値を考慮して、良性悪性判別の基準を上記の判別関数よりも良性腺腫側へ引き下げることが実際的であろう⁵⁾。

それではどれだけ良性悪性判別の基準を変更すればよいか問題となる。計測対象とした絨毛状腫瘍のうち、浸潤性絨毛状腫瘍とした14例(28計測領域)の計測値をみると、INGの平均値と標準偏差が 46.7 ± 8.56 , ISAが 89.7 ± 3.39 である。それと腺癌の計測値(ING: 56.5 ± 9.16 , ISA: 84.8 ± 6.28)との間には、ING, ISAともにt検定(両側)上1%の危険率で有意差が認められた(表2.2)。したがって、明らかな腺癌の計測値と浸潤性絨毛状腫瘍の計測値との間の平均値の差の分だけ良性悪性判別の基準を良性腺腫側に引き下げる必要があると考えられた。そこで、以下の様にそれらの差の分だけ良性腺腫側に判別関数を移動した(図4.4)。すなわち、 $F = f(ISA, ING) \rightarrow F_v = f(ISA - 4.9, ING + 9.8)$ の変換である。

$$F = 0.08(ING) + 0.04(ISA) - 6.59$$

↓

$$F_v = 0.08(ING + 9.8) + 0.04(ISA - 4.9) - 6.59$$

しば篩状構造，腺管内腺管など異型が強いと見做される構造が出現していることをも考慮するならば，細胞異型は一見低くとも絨毛状腫瘍の多くは悪性と見做すべきであると考えられる。また，この結果からすると，絨毛状構造は悪性上皮性腫瘍の一種の構造異型であると見做することができる。

絨毛状腫瘍の各剖面型の間でそれらの異型度係数値に差は認められず，また，*polypoid type* のうち浸潤のあるものと無いものとでそれらの間に異型度係数値の差は認められなかった。これは，絨毛状腫瘍が粘膜内進展をして大型の病巣を形成する過程で異型度が強くなる，あるいは異型度が強くなって粘膜下組織に深へ浸潤するのではないということであり，また，同じ大きさの病巣でも浸潤するかどうかはそれらの異型度に依存しているのではないということである。言いかえれば，絨毛状腫瘍がどのように発育，進展するかはその組織の異型度の差によるのではないと考えられる。

3) 絨毛状腫瘍の悪性化

通常，絨毛状腫瘍組織の一部にその組織よりも異型の強い部分がみられ，その異型度が明らかに癌と判断されるものである場合には，絨毛状腫瘍の悪性化とされる。しかし，絨毛状腫瘍が悪性化するということは，それが良性腫瘍であることが前提となっている。なぜならば，絨毛状腫瘍がもともと悪性であるならば，そこにみられる異型の強い部分は悪性化ではなく，悪性上皮性腫瘍組織内の異型の多様性の一部が現れたにすぎないからである。一つの病巣内でも多様な組織異型がみられることは，大きな絨毛状腫瘍内での異型度係数値のばらつきをみてもわかる。小池³⁹⁾も，腫瘍の形態は必ずしも一様均一なものではなく，同一の腫瘍が種々の分化を示し，極めて異型の乏しい部分や，著しく異型の強い部分が混在すると述べている。

絨毛状腫瘍の異型度を組織形態計測により検討した結果からは，その多くは悪性と見做すべきであると考えられた。このことからすると，絨毛状腫瘍の悪性化とみられるものの多くは悪性化ではなく，悪性上皮性腫瘍組織内の組織異型の多様性であるということになる。

5 小括

絨毛状腫瘍の異型度を二つの異型度係数に基づく組織形態計測によって数値化し検討した。絨毛状腫瘍の異型度を、良性腺管腺腫、腺癌の良性悪性組織診断基準から統一的に捉えるという立場に立ち、浸潤性絨毛状腫瘍の計測値を考慮するならば、絨毛状腫瘍の良性悪性組織診断基準は従来の良性悪性判別基準よりも良性腺腫側に引き下げられるべきであると考えられた。その引き下げられた基準からすると、多くの絨毛状腫瘍の異型度は悪性と判別され、絨毛状構造は悪性上皮性腫瘍の一種の構造異型であると見做された。また、その結果からすると、悪性化したとみられる絨毛状腫瘍の多くは悪性化ではなく、悪性上皮性腫瘍内の組織異型の多様性の現れであると考えられた。したがって、絨毛状腫瘍は組織発生的には *de novo* 癌であり、粘膜内進展を特徴とする癌であると見做された。