

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07924

研究課題名(和文) 潰瘍性大腸炎腫瘍性病変の分子生物学的解析に基づく内視鏡的切除術適応の確立

研究課題名(英文) The establishment of indication for endoscopic resection of ulcerative colitis associated neoplasia according to molecular biological analyses

研究代表者

渡辺 憲治 (Watanabe, Kenji)

富山大学・学術研究部医学系・特命教授

研究者番号：70382041

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：潰瘍性大腸炎関連腫瘍の内視鏡的および外科切除例の検体集積、対照となる散発性大腸腫瘍および鋸歯状病変の内視鏡的切除検体の集積とpreliminaryな解析を行っていたが、コロナ禍による内視鏡検査や治療施行停止、研究代表者の施設異動があり、計画に大きな遅延が生じた。病理学的検討で生じた分子生物学的検討の課題は一部克服できたが、同様に研究代表者の異動等で大きな遅延が生じた。研究代表者の施設異動後、新たな施設で機材等を購入し、研究の継続を試みたが、前施設に比べ対象症例数がかなり少なく、検討に足る症例数の集積には至らなかった。

潰瘍性大腸炎関連腫瘍性病変の診療アルゴリズムは論文投稿作業中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

欧米から発表されている文献は、潰瘍性大腸炎関連腫瘍に対する内視鏡所見と病理学的所見の対比を行っていないが、我々のアルゴリズムは、こうした検討をベースに作成した意義を有する。潰瘍性大腸炎サーベイランス内視鏡の現況の課題を浮き彫りにし、臨床現場で実施可能な知見を提供する本検討であったが、研究代表者の施設移動やCOVID-19パンデミックによる内視鏡検査の大きな制限が影響し、十分な症例集積ができなかった。

内視鏡機器は進歩を重ねており、最新の内視鏡機器に対応した研究を再度、構築して参りたい。

研究成果の概要(英文)：The accumulation of specimens of endoscopically and surgically resected cases of ulcerative colitis-associated neoplasms (UCAN) and the collection and preliminarily analysis of control sporadic colorectal neoplasms and serrated lesions were being conducted, but there were significant delays in planning due to the suspension of endoscopy due to the COVID-19 pandemic and the transfer of principal investigators' institution. There were major delays for the molecular biological study due to the transfer of the principal investigator. After the Principal Investigator's transfer to a new institution, we prepared equipment and attempted to continue the study at the new institution, but the number of cases was considerably smaller than at the previous institution and we were unable to accumulate a sufficient number of cases for the study. A treatment algorithm for UCAN is in the process of being submitted for publication.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：潰瘍性大腸炎 腫瘍 分子生物学 内視鏡的切除 鋸歯状病変

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎 (UC) の国内患者数は増加し続け、特定疾患最多で米国に次いで世界第 2 位の患者数である。治療薬開発も盛んで、従来なら外科手術に至っていた症例も手術回避が可能となり (Uchino M, Ikeuchi H, Surg Today 2019; 49:1066-1073)、強い炎症に曝露した腸管が手術を回避して長期に患者体内に存在することとなる。更に長期経過例など高齢発症 UC 患者の増加も、今後更に重要になる (Higashiyama M, Watanabe K, J Gastroenterol 2019;54:571-586)。こうした状況を背景に今後重要となるのが、炎症発癌である CC/D である (渡辺憲治, 炎症性腸疾患関連腫瘍サーベイランスの精度向上に向けて. 日本消化器病学会誌 2019;116:878-890)。CC/D の早期発見にはサーベイランス内視鏡が有用であるが、最も権威ある世界的コンセンサスである SCENIC (Gastroenterology 2015;148:639-651) では、サーベイランス内視鏡で CC/D の可能性がある病変が発見された場合、「内視鏡的切除が可能そうであれば切除を試みる」と記載されており、径 15mm 以上の鋸歯状病変も切除対象とするとは記載されているものの、内視鏡的切除の適応に関する明確な規定や鑑別診断法は記載されていない問題がある。現在、癌を含む high grade dysplasia 以上の病変や、多発ないし範囲診断困難な low grade dysplasia の治療は大腸全摘術が原則となっているが、UC 非関連の腺腫、鋸歯状病変や早期癌は内視鏡的切除の対象となる (Oka S, Watanabe K, Dig Endosc. 2019 Suppl 1:26-30)。

近年注目されている鋸歯状病変は、traditional serrated adenoma (TSA) や sessile serrated adenoma/polyp (SSA/P) に代表され、最近では superficially serrated adenoma (SuSA) (Mod Pathol 2018;31:1588-1598) も注目されている。こうした病変は基本的に内視鏡的切除の対象であり、大腸全摘術に至らないことが重要であるが、UC での鋸歯状病変に対する検討は、PubMed の検索でも症例報告を除く既報が 10 報余と乏しく、病理医による分子生物学的検討や消化器医 (内視鏡医) による内視鏡所見の検討のみである。前者は、臨床現場でのサーベイランス内視鏡に有用な情報を提供できておらず、後者は鋸歯状病変の診断が正確だったか疑問が残る。UC 患者の大腸に発生した鋸歯状病変の可能性のある病変を、免疫組織化学染色による病理診断に次世代シーケンサーや PCR による分子生物学的診断を加え、UC におけるサーベイランス内視鏡内視鏡所見による鑑別診断と関連付けた既報は見られない。大腸鋸歯状病変のなかでも特に TSA は、好発部位が遠位大腸で CC/D と重複しており、CC/D に類似した type H の内視鏡所見を呈する 경우가多く、Ki-67 免疫組織化学染色でも腺管の増殖帯の位置が bottom-up type で類似するなど (Fujimori Y, Ajioka Y, Diagn Pathol 2012;7:59)、専門病理医でも鑑別診断困難で、内視鏡的切除されるべき病変が、不適切なサーベイランス内視鏡に基づく診断で大腸全摘術に至っている可能性がある。両者は異なる発癌経路を辿ると言われており、免疫組織化学や分子生物学的解析による検討と鑑別が必須である。

一方、高画素内視鏡機器による色素拡大内視鏡等を用いても視認困難な invisible flat dysplasia が可視的な CC/D の周辺に存在し得ることが知られており、我々はその可視化に取り組んできた (Watanabe K, Gastrointest Endosc 2010;71:1094-1096)。しかし、可視的病変と invisible flat dysplasia の分子生物学的異同についての既報は、その視認困難性ゆえに極めて乏しく、invisible flat dysplasia の発生機序や、どのような可視的 CC/D 周辺に好発するのかの検討もされていない。本邦は大腸 ESD (Endoscopic Submucosal Dissection) を開発するなど高い内視鏡技術で知られているが、それ故に安易な CC/D に対する内視鏡切除により、断端陽性の不適切な切除に陥るリスクがあり、その原因が CC/D 周辺の invisible flat dysplasia である。

こうした鋸歯状病変と CC/D の鑑別や、invisible flat dysplasia が好発する CC/D の特徴を分子生物学的検討により明らかにし、内視鏡的鑑別や病理診断の適正化に寄与するデータを得ることで、CC/D に対する適切な内視鏡的切除が施行されるようにする必要がある。

2. 研究の目的

本研究は、本学の豊富な UC 症例に裏打ちされた多数の UC サーベイランス症例および豊富な CC/D 外科切除例を対象に、免疫組織化学染色による病理診断、分子病理学的検討、色素拡大内視鏡所見を含むサーベイランス内視鏡所見、の 3 つを融合させた検討を行う初めての試みであり、下記のような独自性や創造性を有する。

- ・ UC に発生した大腸鋸歯状病変の分子生物学的データと病理診断、内視鏡所見の連結により、CC/D と鋸歯状病変の鑑別の精度向上と内視鏡的切除適応の適正化に寄与する。
- ・ UC に発生する鋸歯状病変の分布や内視鏡所見の特徴、確定診断のために最低限行うべき病理免疫組織化学染色や分子病理学的検査を提示し、臨床現場での診断精度向上に寄与する。
- ・ Invisible flat dysplasia と可視的 CC/D の分子生物学的異同を初めて検討し、周辺に invisible flat dysplasia が好発する CC/D の特徴を明らかにし、不適切な内視鏡的切除の回避に貢献する。
- ・ その結果を研究代表者が厚労省研究班で作成している CC/D 内視鏡診断アルゴリズムに反映し、英文公表することで、世界の CC/D 内視鏡治療の適正化に寄与する。

3. 研究の方法

(1) UC 関連腫瘍外科切除標本の検討

CC/D として大腸全摘術を施行された症例のなかから大腸全割標本作成可能で下記の分子生物学的診断が可能な症例を抽出し、免疫組織化学染色を含む病理診断により、TSA, SSA/P, SuSA の存在部位、頻度、UC 炎症罹患範囲との関係および鋸歯状病変由来癌の有無について検討する。また、本検討で見つかった invisible flat dysplasia は、下記の研究に用いる。

病理診断は H-E 染色に加え、免疫組織化学染色の p53 抗体、Ki-67、SSA/P に特徴的な BRAF 変異に関する BRAF 600E 抗体染色や MLH1 メチル化に関する MLH1, PMS2 の発現を確認する。TSA は特徴的な腸型粘液形質を示す MUC2 等の他、カテニン染色パターン(membranous localization) を参照する。SuSA は CK20 や MYC の染色パターンを参照して、鑑別診断を行う。

上記のような様々な免疫組織化学染色のみでは各種鋸歯状病変の鑑別には不十分なことが知られており、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス(サンガー法)、RT-PCR による融合遺伝子の同定と定量 PCR による解析を用いた分子生物学的診断を併用する。ホルマリン固定された外科切除標本を用いるため、日本病理学会の「ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程」に準じ、検体採取部位の決定、DNA および RNA の分光光度計による A260/A280 比測定による純度確認や収量確認を行う。サンガー法によるダイレクトシーケンスで KRAS, NRAS, BRAF, CTNNB1, APC, RNF43, GNAS を解析する。また PCR では、MGMT と MLH1 の promoter 領域の DNA methylation の他、KRAS, RPSO, EIF3E-RSPO2, PTPRK-RSPO3 を解析する。

(2) UC サーベイランス内視鏡で認められた病変の内視鏡的切除標本による invisible flat dysplasia の検討

UC サーベイランス内視鏡で 0.1%インジゴカルミン溶液散布による全大腸色素内視鏡観察を行い、可視的 CC/D や鋸歯状病変の検出と EMR や ESD による内視鏡的切除標本の集積を行う。内視鏡切除標本は 2mm 間隔で全割し、可視的病変周辺の invisible flat dysplasia の検出を行う。全大腸色素内視鏡観察で発見された病変に対し、EMR ないし ESD による内視鏡的切除を行い、日本病理学会の「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」に準じて 10%中性緩衝ホルマリン溶液を用い、固定時間にも配慮して内視鏡切除検体を取り扱う。上記の検討時に用いた免疫組織化学染色、次世代シーケンサーと PCR による分子生物学的診断を併用し、病変の鑑別診断や分子生物学的解析を行う。

(3) UC 大腸鋸歯状病変診療アルゴリズムの作成

上記の検討結果を融合して、UC 患者の大腸粘膜に発生する鋸歯状病変の内視鏡的診断や CC/D との鑑別診断、invisible flat dysplasia のリスクが高い可視的 CC/D 病変の特徴、確定診断に必要な最小限の病理免疫組織化学および分子生物学的検査を内容とする独自の診療アルゴリズムを作成する。

4. 研究成果

潰瘍性大腸炎関連腫瘍の内視鏡的および外科切除例の検体集積、対照となる散発性大腸腫瘍および鋸歯状病変の内視鏡的切除検体の集積と preliminary な解析を行い、本研究課題の妥当性と方向性の確認ができた。一方で、病理学的診断の課題を克服する分子生物学的検討には困難な課題があり、本分野の類似研究の推進が困難な理由が推測できた。診断アルゴリズムについては第 101 回日本消化器内視鏡学会総会で公表し、議論ができた。本研究の内容、方向性は欧米の本分野の研究の方向性とは異なる独自の本質的視点があり、今後、最新の内視鏡機器に対応した研究を再度、構築、推進して参りたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Watanabe Kenji, Gardiner Sean, Arai Shoko	4. 巻 15
2. 論文標題 Notable gaps between patients' and physicians' perspectives on communication and disease management in Japan: multifaceted ad hoc analyses of the global Ulcerative Colitis Narrative Survey for further optimal care	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Therapeutic Advances in Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/17562848221095372	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 渡辺憲治、中村志郎	4. 巻 4
2. 論文標題 潰瘍性大腸炎の総合的な診療におけるサーベイランス内視鏡の最適化	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 消化器内科	6. 最初と最後の頁 83-88
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 渡辺 憲治、横山 陽子、藤平 雄太郎、志水 和麻、八木 聡一、賀来 宏司、池ノ内 真衣子、佐藤 寿行、河合 幹夫、上小鶴 孝二	4. 巻 57
2. 論文標題 今月の主題 大腸腫瘍診療の最前線 主題 潰瘍性大腸炎関連腫瘍の内視鏡診断の最前線	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 胃と腸	6. 最初と最後の頁 1251～1257
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11477/mf.1403202997	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 平井郁仁、仲瀬裕志、久松理一、中村志郎、渡辺憲治	4. 巻 118
2. 論文標題 炎症性腸疾患診療の現状と課題 IBD診療ガイドラインの考察を含めて	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本消化器病学会雑誌	6. 最初と最後の頁 634-644
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11405/nisshoshi.118.634	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakase H, Uchino M, Shinzaki S, Matsuura M, Matsuoka K, Kobayashi T, Saruta M, Hirai F, Hata K, Hiraoka S, Esaki M, Sugimoto K, Fuji T, Watanabe K, Nakamura S, Inoue N, Itoh T, Naganuma M, Hisamatsu T, Watanabe M, Miwa H, Enomoto N, Shimosegawa T, Koike K.	4. 巻 56
2. 論文標題 Evidence-based clinical practice guidelines for inflammatory bowel disease 2020	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 489-526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-021-01784-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 渡辺憲治
2. 発表標題 Advanced therapy時代の炎症性腸疾患診療の最適化
3. 学会等名 日本消化器病学会四国支部 第42回教育講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河合幹夫、樋田信幸、渡辺憲治
2. 発表標題 SCENIC terminologyに基づく潰瘍性大腸炎関連low grade dysplasiaの進展危険因子と診療方針の検討
3. 学会等名 第116回日本消化器病学会近畿支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡辺憲治
2. 発表標題 炎症性腸疾患T2T診療における 内視鏡の意義
3. 学会等名 第76回日本大腸肛門病学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡辺憲治
2. 発表標題 モニタリングの最適化に基づく IBD の Treat to Target Strategy
3. 学会等名 第39回日本大腸検査学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenji Watanabe, Yoichi Ajioka, Shinji Tanaka
2. 発表標題 Development of novel endoscopic classification and diagnostic algorithm for ulcerative colitis-associated neoplasia: Navigator Study 2
3. 学会等名 第101回日本消化器内視鏡学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 渡辺憲治、竹原徹郎	4. 発行年 2023年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 406
3. 書名 消化器内科診療Controversy	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	味岡 洋一 (Ajioka Yoichi) (80222610)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	池内 浩基 (Ikeuchi Hiroki) (80319863)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関