様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成２５年　６月　５日現在

機関番号：１３９０１
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2010　～　2012
課題番号：22790525

研究課題名（和文）
胆道癌診断における経乳頭的胆管生検組織を用いたＩＭＰ３免疫染色の臨床的有用性

研究課題名（英文）
Diagnostic value of immunohistochemical expression of IMP3 in transpapillary biliary forceps biopsy samples of extrahepatic bile duct carcinoma

研究代表者
川嶋　啓揮（KAWASHIMA HIROKI）
名古屋大学・医学系研究科・助教
研究者番号：20378045

研究成果の概要（和文）：経乳頭的胆管生検組織の IMP3、S100P 免疫染色発現について胆管癌診断に対する有用性、臨床像との比較を retrospective に検討した。IMP3 の免疫染色は診断能向上に有用であり、S100P 陽性症例は乳頭型胆管癌に少ない傾向にあり（chi-square test: P = 0.053)、予後が悪い（log rank test: P = 0.039）結果であった。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study is to clarify the diagnostic and prognostic value of immunohistochemical expression of S100P and IMP3 in transpapillary biliary forceps biopsy (TBFB) samples. The TBFB samples were collected from 80 patients (extrahepatic bile duct carcinoma, 68 patients; benign, 12 patients), retrospectively. The sensitivity, specificity and accuracy achieved 89.7 %, 91.7 % and 90.0 %, respectively, when using positive staining for IMP3 and/or positive histology as a maker of malignancy. While univariate (P = 0.033) and multivariate (P = 0.039) analysis revealed that S100P-positive extrahepatic bile duct carcinoma patients showed significantly shorter survival.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
総　計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：消化器内科
科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学
キーワード：経乳頭的胆管生検、ERCP、胆管癌、胆道癌、IMP3、S100P、免疫染色

１．研究開始当初の背景

画像診断のみでは良悪性鑑別診断が困難である胆管狭窄症例は少なからず存在し、侵襲の大きな手術を施行する前に生検組織を

用いた組織学的なエビデンスを得ることは非常に重要である。生検組織診断の問題点は偽陰性例である。組織がしっかり採取できていても生検によって採取された小さな組織ではドレナージチューブによる炎症、胆汁の刺激や黄疸の影響による組織の変性が背景にあるという特殊な状況下であるために癌と診断することが困難である症例が存在する。実際に当科における過去の検討では胆管狭窄病変61例を対象として、経乳頭的胆管生検の胆道癌診断に対する感度は76.5%、特異度は100%の結果であり８例の偽陰性例が存在した。今回の検討前は、画像診断で強く癌を疑うものの組織診断で癌と診断不能である症例に対しては再検を可能な限り繰り返すしかなく、患者に対する侵襲が大きくなり、不確実な診断のもとで侵襲の大きな治療を施行することにもつながっていた。一方、近年、癌胎児性蛋白であるIMP3(insulin-like growth factor Ⅱ mRNA binding protein 3)の発現がさまざまな腫瘍に関して研究され報告されている。胆道癌においても手術による摘出標本でのIMP3免疫染色の発現が診断、予後の予測に有用であると報告されていた（Reiner MO, et al. IMP3 expression in lesions of the biliary tract: a marker for high-grade dysplasia and an independent prognostic factor in bile duct carcinomas. *Hum Pathol.* 2009; 40: 1377-1387)。
また、研究開始後に摘出標本の検討などにて胆管癌診断に有用であると報告された、人の胎盤に存在する S100 蛋白 family の small isoform である S100P 蛋白(S100P)についても追加で免疫染色することとした。

２．研究の目的

経乳頭的に採取された生検組織を用いて、IMP3、S100Pの発現様式と最終診断を比較し（とくに偽陰性例）、術前診断の向上につながるか否かを検討することを第一の目的とし、最終診断悪性例においてはIMP3、S100Pの発現様式と臨床所見（年齢、性別、胆管癌の部位（肝門部 or それ以外)、T因子、N因子､胆管癌の肉眼分類(乳頭型 or それ以外)、切除可能か否か)、また手術施行した55例の胆管癌症例については、IMP3、S100Pの発現様式、臨床所見と予後の比較を retrospective に検討することを目的とした。

３．研究の方法

当院で経乳頭的胆管生検を2005年4月～2010年3月までに施行した症例中､評価可能な組織が採取され手術あるいは1年以上の経過観察で診断が確定している80例（男性55例、女性25例）を対象とした。最終診断は、肝外胆管癌68例(肝門部胆管癌33例、その他35例)、良性胆管狭窄12例(PSC5例、IgG4関連硬化性胆管炎2例、その他の炎症性病変5例）であった。膵頭十二指腸切除術や片葉以上の肝切除術が68例の肝外胆管癌症例中55例に施行されていた。臨床病理学的所見は American Joint Committee on Cancer (AJCC) cancer staging manualに基づいて分類した。IMP3およびS100Pの免疫染色は既報に準じて施行し（Levy M, et al. S100P, S100P, von Hipple-Lindau gene product, and IMP3 serve as a useful immunohistochemical panel in the diagnosis of adenocarcinoma on endoscopic bile duct biopsy. *Hum Pathol.* 2010; 41: 1210-1219)、H.E.染色による病理診断は二人の病理医によって評価された。IMP3免疫染色は1%以上の腫瘍細胞の細胞質が染色されている場合を陽性と定義し、S100P免疫染色は1%以上腫瘍細胞の核あるいは核と細胞質が染色されている場合を陽性と定義した。 (1)H.E.染色による病理診断、

(2)臨床像（摘出手術施行胆管癌55例のT因子、リンパ節転移の有無、肉眼的形態分類（乳頭型 or その他）、部位（肝門部 or その他）、予後）と免疫染色によるIMP3、S100P発現の有無を比較検討した。

４．研究成果
(1) IMP3発現は胆管癌68例中54例で認められ、良性では12例中1例（PSC症例）で認められたのみであった。IMP3 発現は H.E.染色にて診断可能胆管癌42/49例、診断不能胆管癌 12/19 例に認められた。S100P 発現は胆管癌68例中52例に認められたが、良性でも12例中6例で認められた。IMP3, S100P 免疫染色発現陽性を癌と診断すると胆管癌診断に対する感度・特異度・PPV・NPV は H.E.染色病理診断（72%・100%・100%・39%）、IMP3（79%・92%・98%・44%）、S100P （76.4%・50%・90%・27%）、H.E.染色＋IMP3（90%・92%・98%・61%）H.E.染色＋S100P （96%・50%・92%・33%）であった。H.E.染色単独に比べ IMP3 染色発現を加味することにより偽陰性例を減少させうる可能性が示唆され、この結果は実臨床において有用であると考えられた。S100P 免疫染色発現に関してはこれまでの報告通り、感度を上げることは証明されたが、偽陽性例が多数あり実際の臨床での応用は困難であると考えられた。
(2)胆管癌症例における IMP3 発現と臨床所見では有意な関係は認められなかった。S100P 陽性症例は乳頭型胆管癌に少ない傾向にあった（chi-square test: $P = 0.053$）。また、予後が悪い予測因子としては、単変量解析にて T3 and 4($P = 0.01$)、R1 手術($P = 0.002$)、S100P 陽性($P = 0.033$)が抽出され、多変量解析(Cox's proportinal hazards model)でもそれぞれは独立した予後予測因子であることが示唆された（S100P 陽性の Hazard Ratio 8.51, $P = 0.039$）。
結論として胆管生検組織の病理診断に IMP3 免疫染色を付加することにより質的診断能を向上させうる。免疫染色の強弱などの主観は排除したこの方法は汎用性が高く、不要な再検査を減少させる可能性があると考えられる。また S100P 免疫染色は予後予測に有用である可能性が示唆された。今後、実際の臨床応用に向けて前向き検討を企画している。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計１件）

① Diagnostic and prognostic value of immunohistochemical expression of S100P and IMP3 in transpapillary biliary forceps biopsy samples of extrahepatic bile duct carcinoma. Kawashima H, Itoh A, Ohno E, Miyahara R, Ohmiya N, Tanaka T, Shimoyama Y, Nakamura S, Ebata T, Nagino M, Goto H, Hirooka Y.　査読あり J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2013 Apr; 20(4): 441-447

〔学会発表〕（計３件）
①第54回日本消化器病学会大会(2012.10 神戸)
IMP3とS100Pによる経乳頭的胆管生検組織免疫染色の臨床病理学的検討 川嶋啓揮、廣岡芳樹、伊藤彰浩、大野栄三郎、伊藤裕也、中村陽介、平松武、杉本啓之、鷲見肇、舩坂好平、中村正直、宮原良二、大宮直木、後藤秀実
②第53回日本消化器病学会大会(2011.10 福岡)
経乳頭的胆管生検組織の IMP3 と S100P 免疫染色の検討　川嶋啓揮、廣岡芳樹、伊藤彰浩、大野栄三郎、松原浩、伊藤裕也、中村陽介、

平松武、杉本啓之、鷲見肇、田中努、中村正直、宮原良二、大宮直木、後藤秀実

③第 47 回　日本胆道学会学術集会（2011.9 宮崎）
経乳頭的胆管生検組織の病理診断における IMP3 免疫染色の有用性の検討 川嶋啓揮、伊藤彰浩、大野栄三郎、松原浩、伊藤裕也、中村陽介、平松武、杉本啓之、鷲見肇、後藤秀実、廣岡芳樹

６．研究組織
(1)研究代表者
川嶋　啓揮(KAWASHIMA HIROKI)
名古屋大学・医学系研究科・助教
研究者番号： 20378045

(2)研究分担者
なし
(3)連携研究者
なし