

【要約】

Analysis of immunohistochemical IMP3 and p53 expression in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and resected specimens of solid pancreatic masses

(超音波内視鏡下穿刺吸引法および手術標本を用いた膵充実性腫瘍診断におけるIMP3, p53の有用性の検討)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：露口 利夫 講師)

妹尾 純一

【目的】

膵管癌は予後不良な癌の一つであり、5年生存率は4%と報告される。膵癌を疑う病変においては治療前に病理学的評価を行うのが望ましく、超音波内視鏡による穿刺吸引法(EUS-FNA)は腫瘍診断において安全かつ効果的な手技と報告されている。一方で、EUS-FNAで得られる検体量は微量であることもあり、悪性疾患と良性疾患の鑑別に苦慮することも少なくない。EUS-FNAによる診断能向上のために穿刺針の種類や穿刺法の工夫、また免疫染色や遺伝子解析などを用いた検体評価法など様々な報告がある。

癌胎児性抗原である insulin-like growth factor 2 messenger RNA-binding protein-3 (IMP3)は卵巣癌、腎細胞癌、肺癌、結腸直腸癌、膵癌などの種々の悪性腫瘍において良悪性診断における有用性や予後との関連が報告されている。膵管癌において core needle biopsy 検体や FNA needle による細胞診における IMP3 の有用性を検討した報告はあるが、FNA needle で得られた組織検体における IMP3 の有用性を検討した報告はない。また、がん抑制遺伝子である p53 も膵管癌の 37-81.1%で陽性になると報告されており、膵腫瘍における EUS-FNA の診断能を向上する可能性がある。

本研究では膵切除検体における IMP3 の発現を評価し、膵管癌における IMP3 発現と関連する因子や予後との関連を検討した。また、術前に施行した EUS-FNA 検体と切除検体における IMP3 の結果を比較検討した。さらに、EUS-FNA 検体を用いて膵充実性腫瘍診断における IMP3、p53 の有用性を検討した。

【方法】

2010年6月から2013年7月に膵切除術を行った77例(膵管癌47例、intraductal papillary mucinous carcinoma(IPMC)10例、intraductal papillary mucinous adenoma (IPMA)10例、慢性膵炎10例)に対してIMP3免疫染色を行い、各腫瘍におけるIMP3の陽性率を評価した。さらに膵管癌47例について各因子(性別、年齢、腫瘍部位、腫瘍径、根治度、リンパ節転移の有無、腫瘍分化度、血中CEA、血中CA19-9)や予後とIMP3の関連を検討した。次いで、膵管癌47例のうち膵切除術前にEUS-FNAを施行した11例において、切除検体とEUS-FNA検体におけるIMP3の結果を比較した。さらに、膵充実性腫瘍に対してEUS-FNAを施行した127例を後ろ向きに検討した。EUS-FNA検体は組織診と細胞診に提出し、診断結果を“malignancy”、

“suspected malignancy”、“atypical cells”、“no evidence of malignancy”、“insufficient materials”に分類した。本研究では”malignancy”、“suspected malignancy”を悪性と定義した。最終診断は切除検体における病理結果、他臓器からの悪性細胞の検出、あるいはEUS-FNA後6か月以上の臨床経過をもとに判断した。

EUS-FNAにおける組織診、細胞診における感度、特異度、正診率と免疫染色(IMP3、p53)陽性を悪性とした場合の感度、特異度、正診率を比較検討した。

IMP3免疫染色の評価はRienerらの既報をもとに腫瘍細胞の10%以上が中程度～強度の染色を認める場合を陽性とした。またp53免疫染色の評価は腫瘍細胞の60%以上が強陽性を示す場合を陽性とした。本研究ではEUS-FNA検体においてIMP3あるいはp53陽性を示した場合を悪性と仮定した。

本研究ではGerkeらのスコアを改変し、EUS-FNAにおける組織検体量を評価し、免疫染色結果との関連を検討した。スコアは以下の通りである。スコア1：細胞異型の一部が判定可能で、限定的であるが細胞診が可能。スコア2：細胞異型が十分に評価可能で、細胞診が十分に可能であるが、組織構造などは判定困難。スコア3：一部の組織構造が判定可能であるが、十分な組織診断は困難。スコア4：組織構造が診断可能で十分に組織診断が可能。

切除検体においてはIMP3発現と各因子についてchi-square testを用いて評価した。さらにKaplan-Meier法により生存曲線を描き、log-rank検定、cox比例ハザードモデルを用いてIMP3や各因子と全生存期間との関連を検討した。また、EUS-FNA検体においてはMcNemar検定を行い、通常染色に対しての免疫染色併用の上乗せ効果を検討した。

【結果】

77例の切除標本における膵管癌、IPMC、IPMAのIMP3陽性率はそれぞれ72.3%(34/47)、50%(5/10)、20%(2/10)であった。慢性膵炎症例は全例(0/10)でIMP3陰性であった。膵管癌47例において各因子とIMP3との関連を検討したところ腫瘍分化度のみが関連を示した($P=0.006$)。膵管癌47例の平均生存期間は27.0か月であり、単変量解析ではIMP3($P=0.045$)、根治度($P=0.020$)、腫瘍分化度($P=0.025$)、リンパ節転移の有無($P=0.01$)が予後との関連を認めた。さらに多変量解析では腫瘍分化度($P=0.014$)とリンパ節転移の有無

($P=0.01$)が予後との関連を示した。

術前に EUS-FNA を施行した 11 例中 10 例で EUS-FNA 検体と切除検体における IMP3 の評価が一致した。

EUS-FNA 検体における最終診断は悪性疾患 99 例、良性疾患 28 例であった。悪性疾患は膵管癌が 83 例で最多であった。EUS-FNA 検体における組織診は感度 69.1%、特異度 100%、正診率 76.0%であり、細胞診は感度 64.6%、特異度 100%、正診率 72.4%であった。両者を合わせると感度 80.8%、特異度 100%、正診率 85.0%であった。EUS-FNA 組織検体において免疫染色を行い評価可能であった症例は 98 例(悪性 78 例、良性 20 例)であった。IMP3 は悪性疾患の 80.8%で陽性となり、良性疾患では全例で陰性であった。一方 p53 は悪性疾患の 44.9%、良性疾患の 5%で陽性を示した。IMP3 陽性を悪性とした場合、組織細胞診と併用することで感度 87.9%、特異度 100%、正診率 90.8%に上昇した($P=0.016$)。p53 の併用では有意な診断率の向上は得られなかった。

組織診で malignancy あるいは suspected malignancy と診断された症例において IMP3 は 86.0%で陽性を示し、atypical cells と診断された症例の 76.5%(13/17)で陽性を示した。また、組織量のスコアでスコア 4、スコア 3、スコア 2 に分類される症例はそれぞれ 81.5%、83.7%、62.5%で IMP3 陽性を示した。

【考察】

切除検体において IMP3 は膵管癌、IPMC、IPMA でそれぞれ 72.3%、50%、20%で陽性となり、慢性膵炎では全例で陰性であった。膵管癌症例の多くは既報と同様に中等度から強度のびまん性の染色が認められることが多かった。このことから小検体においても偽陰性となる可能性が少ないと考えられ、EUS-FNA で得られる微小検体においても IMP3 が有用であることを示唆すると考えられる。実際、今回の検討でも EUS-FNA 検体と切除検体の IMP3 の評価は 11 例中 10 例で一致した。しかし、高分化癌や IPMC の約半数は IMP3 陰性となることもあり、IMP3 陰性の症例については注意が必要となる。

今回の検討では IMP3 と腫瘍分化度の関連が示唆された。膵管癌における IMP3 発現と腫瘍分化度との関連については一定の見解はない。報告によって評価方法や評価基準が一定でないことや症例数が少ない報告もあり、今後さらなる検討が望まれる。

本研究では単変量解析で IMP3、腫瘍分化度、根治度、リンパ節

転移の有無が予後との関連を示したが、多変量解析では腫瘍分化度とリンパ節転移の有無が予後因子となった。既報では IMP3 と予後との関連が報告されており、より多数の症例で検討する必要があるといえる。

膵管癌の治療前に病理学的な診断を行うことは重要である。EUS-FNA は手技として普及しつつあるものの、採取した検体量が少なく診断が困難であることも少なくない。そのような症例において悪性疾患と良性疾患を鑑別するために免疫染色が有用といえる。IMP3 は膵管癌診断に有用なマーカーであると報告されているが、それらは core needle biopsy 検体や FNA による細胞診における報告である。core needle は穿刺針が太いため穿刺手技に難渋することがある。本研究では通常の FNA needle で採取した組織検体における IMP3 染色について検討し、その有用性を示した。

本研究での組織診、細胞診、組織細胞診の感度は 69.1%、64.6%、80.8%であり、既報と比較して低い結果となった。症例の一部には検体量が少ないために“悪性”の診断が得られず、“atypical cells”と診断される症例がみられた。組織診で atypical cells と診断された症例においても 76.5%の症例で IMP3 陽性を示しており、その有用性が示唆された。また、検体採取量でスコア 2 に相当する微量な検体についても 62.5%の症例で IMP3 陽性となり、微量検体における IMP3 の有用性が示された。

本研究では p53 における統計学的な有用性は認められなかった。偽陽性症例を少なくするために p53 の評価基準を厳格に設定したため、陽性率が低くなった可能性はある。p53 の有用性についてはさらなる検討が必要と思われる。

本研究の課題は後ろ向き研究であることである。また、HE 染色と免疫染色を同時期に行っていない症例があり、一部の症例では HE 染色後に標本を再薄切し、免疫染色を施行したため標本が小さくなり評価不能となった症例が認められた。

【結論】

EUS-FNA 検体において、IMP3 は膵充実性腫瘍診断の補助的診断法として有用な可能性が示唆された。