

[別紙 1]

## 論文の内容の要旨

論文題目 **超拡大内視鏡画像を用いた消化管組織診断の検討**

指導教官 小俣政男教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 16 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 小田島慎也

### 背景

これまで消化管疾患に対するさまざまな内視鏡診断機器が開発されて診断能向上に寄与しているが、確定診断には生検もしくは切除標本による病理診断が不可欠であった。近年、内視鏡下での確定診断を可能とするため、細胞レベルまでの拡大能を持つ超拡大内視鏡の開発が行われている。その一つである Endo-Cytoscopy system (ECS) は光学顕微鏡を応用した内視鏡機器で、染色した核・細胞質を直接観察することで病理像に近い画像が得られると報告されている。ECS は病理診断学を応用した「内視鏡下病理診断」を実現しうる機器であると考え、以下の基礎的および臨床的検討を行った。

### Endo-Cytoscopy 観察に対する最適な染色液の検討 (切除臓器での検討)

#### 【目的と方法】

これまでに ECS に対する染色液の検討は行われておらず、臨床使用の前に染色条件を設定する必要がある。そこでまず、ブタ切除臓器を使って ECS に対する染色条件の検討を行った。染色液 (5%メチレンブルー、1%トルイジンブルー、1%クリスタルバイオレット)、

## [別紙 1]

濃度（1, 2, 5 倍希釈）、染色液との接触時間（染色時間：10, 30, 60, 90 秒）を変えてブタ切除臓器（食道, 胃, 大腸）の正常粘膜を染色し、ECS 画像を比較することで最適な染色条件を設定した。さらにブタ切除臓器で設定した染色条件をヒトに応用できるか、ヒト切除臓器（食道, 胃, 大腸）の正常粘膜を染色し、ECS 画像の染色性を確認した。

### 【結果】

クリスタルバイオレットによる染色ではブタ切除臓器（食道, 胃, 大腸）の正常粘膜は核染色されず、染色液として不適切であった。メチレンブルー、トルイジンブルーによる染色で得られた ECS 画像を比較した結果、ブタ切除臓器に対する最適な染色条件は、食道では 1%メチレンブルー、胃・大腸では 0.2%トルイジンブルーで、染色時間は 60 秒であった。またヒト正常粘膜に対する観察ではブタ切除臓器で設定した染色条件を使用して良好な核・細胞質の染色が得られた。

## Endo-Cytoscopy 観察に対する最適な染色液の検討（生体内での検討）

### 【目的と方法】

ブタ、ヒトの切除臓器で定めた染色条件を臨床に応用できるかを確かめるため、生体ビーグル犬を用いて再度染色条件の検討を行った。染色液は 5%メチレンブルー、1%トルイジンブルーを使用し、濃度（1, 2, 5 倍希釈）、染色時間（10, 30, 60 秒）を変えて生体ビーグル犬の食道、胃正常粘膜を染色し、生体内における ECS 観察の最適な染色条件を設定した。さらに設定した染色条件をヒトに応用できるか、ヒトの食道、胃、大腸に対する生体内 ECS 観察で確認した。

### 【結果】

生体ビーグル犬の食道に対する ECS 観察の最適な染色条件は、ブタ切除臓器を用いた検討と同様で、1%メチレンブルーの染色時間 60 秒であった。胃に対しては粘膜表層に付着した粘液を除去できず、いずれの条件でも核・細胞質は染色されなかった。ヒトに対する生体内観察でも食道は 1%メチレンブルーの染色時間 60 秒で良好な核・細胞質の染色が得られたが、胃は粘液の影響で染色が得られなかった。大腸はブタ、ヒトの切除臓器で定めた 0.2%トルイジンブルーの染色時間 60 秒で良好な核・細胞質の染色が得られた。

## Endo-Cytoscopy 画像解析による食道正常粘膜と腫瘍性病変の鑑別

### 【目的と方法】

ECS を内視鏡下組織診断に応用することを目的として、正常粘膜と腫瘍性病変の ECS 画像比較を行った。10 症例の食道癌切除標本から得られた正常扁平上皮、扁平上皮癌の ECS 画像を解析して、正常・扁平上皮癌の核密度（核総面積/ $4.0 \times 10^{-2} \text{ mm}^2$ ）を算出し、比較検討した。さらに食道癌患者 5 症例に対して生体内で撮影した ECS 画像を用いて正常扁平上皮と扁平上皮癌の核密度の検討を再度行った。画像解析には画像解析ソフト（image J for windows）を用いて行い、核密度の比較には student's T-test を用いた。

### 【結果】

切除標本による正常扁平上皮の ECS 画像では、均一で低濃度に染色された核が低密度（6.4 %（3.1-11.3 %））に観察され、扁平上皮癌の画像では径不同で変形を来たした核が不均一にかつ高密度（25.3 %（20.5-34.5 %））に観察された。核密度は各群間で有意差を認め（ $P < 0.001$ ）、かつ各群でオーバーラップすることがなかった。また生体内での観察でも正常扁平上皮の核密度は 6.1 %（4.5-8.3 %）、扁平上皮癌では 23.3 %（19.5-25.3 %）であり、各群間で有意差を認め（ $P < 0.001$ ）、オーバーラップを認めなかった。

## 結論

切除臓器、生体内で行った染色液の検討により、ECS 観察に最も適した染色条件は、食道では 1%メチレンブルー、胃・大腸では 0.2%トルイジンブルーの染色時間 60 秒であると判明した。しかし胃では粘膜表層に付着している粘液の影響が強く、臨床応用には粘液除去方法の確立が必要であると考えられた。一方食道の正常扁平上皮と扁平上皮癌の ECS 画像上の核密度は有意差を認め、かつオーバーラップがないことから、ECS 観察を行うだけで自動的に正常・腫瘍を鑑別できるという、自動診断の可能性も考えられた。今回の検討では食道の正常扁平上皮と扁平上皮癌の鑑別であるが、さらに食道炎症性疾患や異型上皮の鑑別の検討を行うことで、ECS による内視鏡下組織診断が実現しうると考えられた。