



Title	腸管Graft-Versus-Host Disease (GVHD)における内視鏡診断の有用性に関する研究
Author(s)	松田, 可奈
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13468号
Issue Date	2019-03-25
DOI	10.14943/doctoral.k13468
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/77196
Type	theses (doctoral)
Note	配架番号 : 2482
File Information	Kana_Matsuda.pdf



[Instructions for use](#)

学 位 論 文

腸管 Graft-Versus-Host Disease (GVHD)
における内視鏡診断の有用性に関する研究
(Studies on the efficacy of endoscopic
diagnosis in gastrointestinal
graft-versus-host disease (GVHD))

2019年3月

北 海 道 大 学

松 田 可 奈

学 位 論 文

腸管 Graft-Versus-Host Disease (GVHD)
における内視鏡診断の有用性に関する研究
(Studies on the efficacy of endoscopic
diagnosis in gastrointestinal
graft-versus-host disease (GVHD))

2019年3月

北 海 道 大 学

松 田 可 奈

目次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	5 頁
緒言	6 頁
第1章 通常内視鏡観察における内視鏡所見の再検討	13 頁
第2章 画像強調拡大内視鏡観察の有用性についての検討	23 頁
第3章 超拡大内視鏡観察を用いた生体内細胞観察の有用性や特徴に についての検討	34 頁
総括と結論	46 頁
謝辞	48 頁
利益相反	49 頁
引用文献	50 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文にて発表した

1. Histological and magnified endoscopic evaluation of villous atrophy in gastrointestinal graft-versus-host disease.
Kana Matsuda, Shoko Ono, Ikko Tanaka, Masaki Inoue, Sayoko Kinowaki, Marin Ishikawa, Momoko Tsuda, Keiko Yamamoto, Yuichi Shimizu, Shuichiro Takahashi, Eiko Hayase, Daigo Hashimoto, Takanori Teshima, Naoya Sakamoto
Journal of gastroenterology (掲載予定)
2. Cecum ulcer is a reliable endoscopic finding in cytomegalovirus colitis concomitant with graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.
Kana Matsuda, Shoko Ono, Marin Ishikawa, Shuichi Miyamoto, Satoshi Abiko, Momoko Tsuda, Keiko Yamamoto, Takahiko Kudo, Yuichi Shimizu, Eiko Hayase, Daigo Hashimoto, Takanori Teshima, Yoshihiro Matsuno, Naoya Sakamoto
Annals of Hematology 97:877-883, 2018

本研究の一部は以下の学会にて発表した

1. 松田可奈、宮本秀一、安孫子怜史、津田桃子、水島健、山本桂子、小野尚子、工藤 俊彦、清水勇一、坂本直哉
サイトメガロウイルス腸炎の内視鏡像－腸管 GVHD 合併例と非合併例の比較－
第 93 回日本消化器内視鏡学会総会, 2017 年 5 月 11 日・大阪
2. 松田可奈、小野尚子、加藤麻倫、宮本秀一、安孫子怜史、津田桃子、山本桂子、工藤俊彦、清水勇一、荒隆英、早瀬英子、橋本大吾、豊嶋崇徳、坂本直哉
腸管 GVHD における大腸杯細胞数と内視鏡所見の相関関係の検討
第 40 回日本造血幹細胞移植学会総会, 2018 年 2 月 1 日・札幌
3. 松田可奈、宮本秀一、安孫子怜史、津田桃子、水島健、山本桂子、小野尚子、工藤俊彦、清水勇一、坂本直哉
画像強調拡大内視鏡像による小腸絨毛萎縮の診断精度についての検討
第 26 回日本消化器関連学会週間, 2018 年 11 月 3 日・神戸

要旨

【背景と目的】

腸管 Graft-Versus-Host Disease (GVHD) は造血幹細胞移植後の主要な合併症の一つであり、致命的経過にも繋がりうる病態である。GVHD は下痢や腹痛などの臨床症状に加え、内視鏡診断および病理組織診断から総合的に診断される。腸管 GVHD の内視鏡所見は発赤、浮腫、びらん、潰瘍など非特異的な所見が主体で、通常内視鏡による診断精度は高くない。また、腸管 GVHD には 20%程度で Cytomegalovirus (CMV) 腸炎を合併し、その内視鏡所見はより複雑となり、診断に難渋することも経験される。早期に診断し治療介入することで GVHD の予後は改善するため、精度の高い内視鏡即時診断が求められている。近年、画像の色調を変化させ、微細血管や粘膜模様を強調する画像強調観察法が広く普及し、100 倍から 500 倍程度まで倍率を上げて生体内観察できる内視鏡機器も開発された。そこで、腸管 GVHD の内視鏡診断精度の向上を目指し、通常内視鏡による診断能の再検討、さらに診断精度の高い精密内視鏡診断法を模索する研究を立案した。具体的には①通常観察、②画像強調拡大観察、③超拡大観察の各内視鏡検査について腸管 GVHD 診断における有用性を検討した。

【対象と方法】

造血幹細胞移植を受け、上部消化管内視鏡検査 (Esophagogastroduodenoscopy: EGD) あるいは下部消化管内視鏡検査 (Colonoscopy: CS) を施行された症例を対象とした。また、移植前に内視鏡検査を受けた症例を対照群とした。

- 1-1. 腸管 GVHD 群と非 GVHD 群に分けて、通常内視鏡観察での内視鏡所見について検討した。
- 1-2. CS を行った症例の中で、腸管 GVHD と CMV 腸炎を合併した症例 (A 群)、GVHD 症例 (B 群) に分類し、さらに造血幹細胞移植を受けていない患者における CMV 腸炎症例 (C 群) を対象とした。腸管 GVHD と CMV 腸炎合併例における内視鏡的特徴を明らかにするために、3 群間で通常内視鏡所見および病変の占拠部位について検討した。
- 2-1. 十二指腸または回腸末端から生検を施行された症例から、GVHD 群、非 GVHD 群、対照群について、組織学的な絨毛の長さ (Villi: V)、陰窩の長さ (Crypt: C)、絨毛と陰窩の比 (Villi/Crypt 比: V/C 比) を測定し比較した。また、組織学的絨毛萎縮を定義するため、GVHD 群と対照群を用い

て Receiver operating characteristic (ROC) 曲線から V/C 比のカットオフ値を算出した。さらに、そのカットオフ値を用いた腸管 GVHD の診断能を検討した。

2-2. 2-1 の症例から、組織学的絨毛萎縮を有した GVHD 症例と萎縮を有しなかった対照について、Narrow Band Imaging 画像強調拡大観察 (NBI-ME) を行った症例を選別し萎縮群、非萎縮群とした。2 群の十二指腸または回腸末端の NBI-ME 画像を匿名ランダム化した画像集を作成し、読影医 3 名が個別に絨毛萎縮の有無を評価した。NBI-ME の診断精度、読影医内一致率および読影医間一致率を算出した。

3-1. CS を施行し生検を行った症例を対象とし、GVHD 群、非 GVHD 群に分類し、対照群を含めた 3 群間で大腸粘膜生検の陰窩数を比較した。また、腸管 GVHD の重症度分類と陰窩数との相関係数を算出した。

3-2. Endocytoscopy を用いた超拡大内視鏡検査 (Endocytoscopy system: ECS) を行った症例を対象とした。造血幹細胞移植後の症例を GVHD 群および非 GVHD 群とし、対照群を含めた 3 群で比較した。ECS で観察した大腸粘膜の陰窩の形状・間質の面積・血管透見性から ECS スコアを定義 (0-6 点) し、スコア化した。また、腸管 GVHD 診断における ECS スコアの有用性を検討するために、ROC 曲線を用いたカットオフ値の設定および診断精度を算出した。

【結果】

1-1. EGD では浮腫および粘膜脱落、CS では浮腫、発赤、びらん所見が GVHD 群において有意に頻度が高かったものの、感度・特異度は低かった。回腸および全結腸に異常を認めた割合は、GVHD 群において有意に高かった。

1-2. A 群と C 群では回盲弁上の病変と潰瘍性病変の割合が B 群と比較して有意に高かった。

2-1. GVHD 群では有意に組織学的絨毛萎縮を認めた。そのカットオフ値は十二指腸、回腸ともに V/C 比 3.0 と定義された。このカットオフ値を用いると腸管 GVHD の診断精度は十二指腸で感度 87.1%、特異度 50.0%、回腸末端では感度 92.3%、特異度 41.7%であった。

2-2. 小腸絨毛萎縮に対する NBI-ME の正診率は十二指腸で 82.3%、回腸末端では 94.9%であった。また、読影医内および読影医間内視鏡診断一致率は、回腸末端の方が十二指腸より高かった。

3-1. GVHD 群において他の 2 群と比較して有意に陰窩数の減少を認めた。また、腸管 GVHD の重症度と陰窩数には負の相関を認めた。

3-2. ECS スコアは GVHD 群で有意に高値を示した (4.41 ± 0.26 , $p < 0.001$)。

また、腸管 GVHD の重症度とも高い相関を示した (相関係数 $\rho = 0.812$)。カットオフ値を 3 とした場合の正診率は、95.8%、感度 100%、特異度 85.7% であった。

【考察】

本検討では①既報通り通常内視鏡での GVHD 診断能は低いこと、また GVHD と CMV 腸炎合併症例での病変の特徴が明らかになった。さらに② NBI-ME による絨毛萎縮と③ECS による GVHD 診断能が従来の内視鏡診断よりも高いことが示された。CMV 腸炎は造血幹細胞移植後に起こる腸管合併症の中では比較的頻度が高く、両者合併時の内視鏡所見を明確にしたことは臨床診療において有意義であった。また、腸管 GVHD では小腸絨毛の萎縮が特徴的といわれてきたが、組織学的な測定法や定義は確立されていなかった。本検討では組織学的に絨毛と陰窩の比 (V/C 比) を実測し、V/C 比 3.0 未満を萎縮と定義づけた。しかし、非 GVHD 症例においても約半数で V/C 比 3.0 未満となることも判明し、今後多数例での解析が課題である。また、NBI-ME を用いて小腸絨毛萎縮の内視鏡診断は可能であり、とくに十二指腸に比べ回腸末端での評価は診断能も診断一致率も高かった。この理由として、十二指腸絨毛は元来形態が多彩で、絨毛萎縮像が捉えづらいことが考えられた。最終的には、ECS での細胞観察が腸管 GVHD 診断において最も診断精度の高い検査であることが示された。しかしながら、本研究は少数例の後ろ向き観察研究であり、現在前向き観察研究を実施中である。将来的には人工知能 (AI) が内視鏡即時診断に幅広く応用され、NBI-ME や ECS を用いた腸管 GVHD の早期診断・治療介入への一助となることが期待される。

【結語】

ECS による生体内細胞観察は腸管 GVHD の即時内視鏡診断を可能とし、早期治療介入と予後改善に寄与することが示唆された。

略語表

Artificial Intelligence	AI
Colonoscopy	CS
Cytomegalovirus	CMV
Endocytoscopy system	ECS
Esophagogastroduodenoscopy	EGD
Graft-versus-host disease	GVHD
Hematoxylin-Eosin	HE
Narrow band imaging	NBI
Magnifying Endoscopy	ME
Negative predictive value	NPV
Pathogen-associated molecular patterns	PAMPs
Polymerase chain reaction	PCR
Positive predictive value	PPV
Receiver operating characteristic	ROC
Villi/Crypt	V/C

緒言

Graft-versus-host disease (GVHD) は造血幹細胞移植後の主な合併症の一つであり、消化管は皮膚、肝臓と並んで好発部位とされている (MacMillian ML, et al. *Bil Blood Marrow Transplant*, 2015)。腸管 GVHD の発症頻度は 30%程度との報告 (MacMillian ML, et al. *Bil Blood Marrow Transplant*, 2015) があり、重篤な場合には致命的経過につながることもある病態である (Abraham J, et. al. *Transplantation*, 2014)。そのため、早期診断および治療介入は予後を改善するためにとっても重要な課題である。

腸管 GVHD の発症機序は三段階に分かれると考えられている (James L. K., et al. *N Engl J Med*, 1991)。まず、第一段階として造血幹細胞移植前にホストに行う全身放射線照射や化学療法によって発生した粘膜傷害に伴い bacterial translocation が起こり、侵入した腸管内細菌由来のリポ多糖類や病原性微生物に由来する物質 (pathogen-associated molecular patterns; PAMPs) をホスト側の抗原提示細胞が感知する。第二段階としてホスト自身の傷害を受けた組織から様々な炎症性サイトカインが放出され樹状細胞などホスト側の抗原提示細胞が感知し活性化される。また、ドナー側の抗原提示細胞もホストの抗原を取り込んで活性化する。第三段階としてこれらのホスト側抗原提示細胞およびドナー側抗原提示細胞より移植片に含まれるドナー由来の CD8 または CD4 陽性 T 細胞が活性化され移植対癌 (白血病細胞など) への傷害効果をもたらす一方で組織傷害も起こすとされている (図 1)。

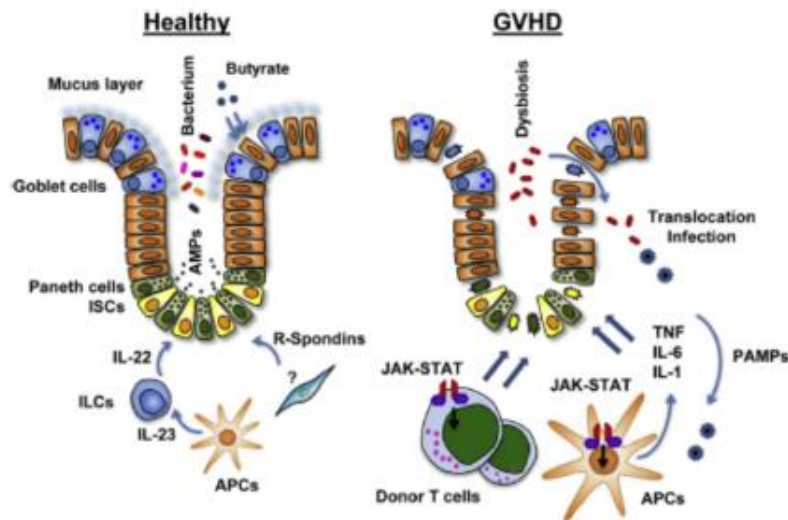


図 1. 腸管 GVHD の発症機序

(Teshima T, et al. Bil Blood Marrow Transplant, 2016)

正常であれば腸管粘膜には杯細胞から分泌される粘液によるバリア機能により炎症はあまり起こらない (左図)。しかし腸管 GVHD においては移植前処置などによる腸管粘膜の傷害部分より bacterial translocation が起こる。それをきっかけに炎症性サイトカインが増加し、樹状細胞やドナー T 細胞が活性化され腸管粘膜を攻撃する (右図)。

病理組織学的な特徴としては腺窩上皮における細胞傷害性のリンパ球浸潤によるアポトーシスが挙げられる (Washington K, et al. Hum Pathol, 2009)。軽症例ではアポトーシスのみが観察されるが、粘膜固有層の細胞浸潤は一般的に軽微で好中球や好酸球などの炎症細胞は目立たないが、重篤になると固有腺管の変形や脱落、陰窩膿瘍形成などが認められる (図 2)。組織学的重症度 (図 3) は腺管脱落 (crypt loss) の程度により行われており (Przepiorka D, et al. Bone Marrow Transplant, 1995)、下痢症状と相関すること (Roy J, et al. Transplantation, 1991) や治療薬であるステロイド治療に対する反応などとの関連 (Abraham J, et al. Transplantation, 2014) も報告されている。

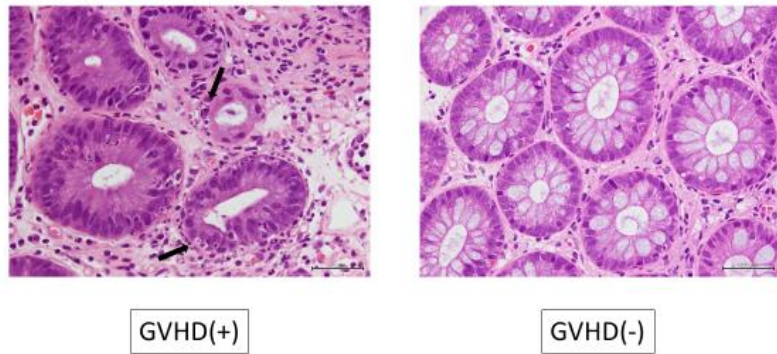


図 2. 腸管 GVHD における病理組織学的特徴

左図：腸管 GVHD 症例における大腸粘膜 (Hematoxylin-Eosin: HE ×100)

陰窩にアポトーシス小体 (矢印) が認められ、陰窩の萎縮や変形、破壊が認められる。

右図：正常の大腸粘膜 (HE ×100)

陰窩は円形から楕円形であり大きさは比較的均一である。

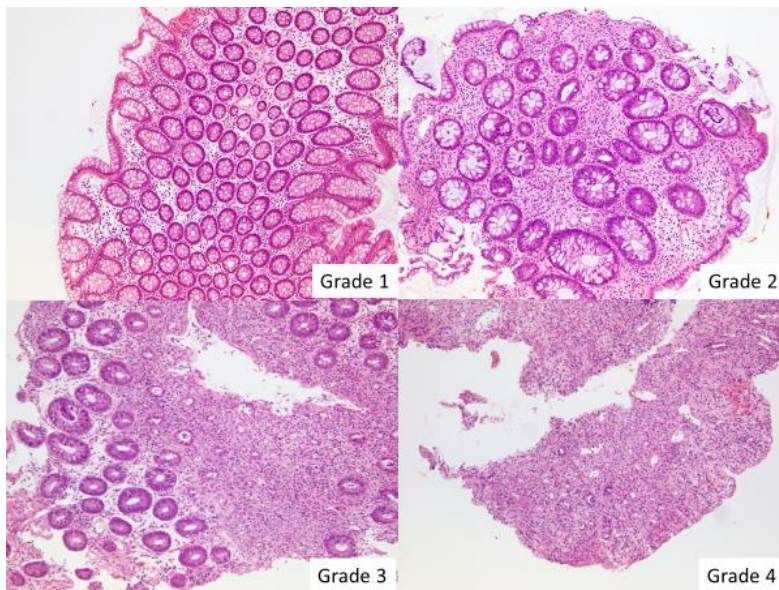


図 3. 腸管 GVHD の組織学的重症度

Grade 1: アポトーシス小体の出現 (図 2. 左)、
(陰窩数は変化なし、もしくはわずかに減少)

Grade 2: 数個の陰窩の萎縮・消失

Grade 3: 領域性を持った陰窩の萎縮・消失

Grade 4: 粘膜脱落、壊死

腸管 GVHD の主な症状は下痢、血便、腹痛、嘔気であり、その診断には CMV 腸炎など他の消化管感染症を除外することが必要とされており (Ohwada S, et al. Plos One, 2018)、内視鏡検査および消化管からの生検検体を用いた組織診断が重要な役割を果たしている。腸管 GVHD の臨床的重症度判定には下痢や腹部症状が用いられる (Przepiorka D, et al. Bone Marrow Transplant, 1995) (表 1)。

表 1. 腸管 GVHD の臨床的重症度分類

Stage	3 日間の平均下痢量および腹部症状
1	500ml-1000ml または持続する嘔気
2	1001-1500ml
3	>1500ml
4	高度の腹痛または出血 (+/-腸閉塞)

腸管 GVHD の内視鏡所見は、発赤、浮腫、びらん、潰瘍、粘膜脱落などが以前より報告されている (Xu CF, et al. World J Gastroenterol, 2008) が、いずれの所見も非特異的であり、通常内視鏡観察における腸管 GVHD の診断精度は高くなく、一部の症例では明らかな異常を指摘できなかつたとされている (Cruz-Correa M, et al. Endoscopy, 2002) (図 4)。

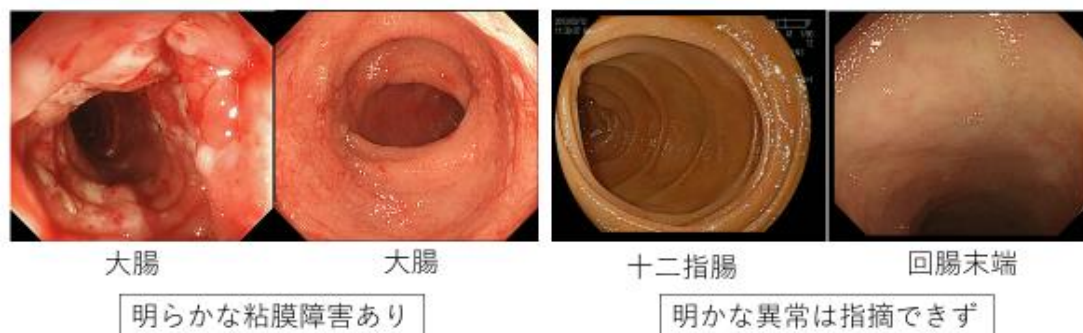


図 4. 腸管 GVHD における内視鏡像 (自験例)

左 2 枚：重篤な GVHD 症例

粘膜脱落や潰瘍、出血を伴う浮腫などが認められる

右 2 枚：軽微な GVHD 症例

通常観察では明らかな異常が指摘できない

腸管 GVHD は生検検体を用いた組織診断が現状ではゴールドスタンダードである。しかし、診断結果が得られるまでには数日以上かかることや造血幹細胞移植後ではしばしば高度な血球減少により生検による出血リスクが高く回避される症例も存在する。そのような症例においても、内視鏡検査による腸管 GVHD の診断精度が向上すれば、また即時診断が可能になれば早期治療介入の一助になる可能性がある。そこで今回、腸管 GVHD 診断における内視鏡所見についてより精度の高い検査方法を模索することとした。

消化管内視鏡検査においては白色光による通常観察が従来より行われていたが、1990 年代より拡大観察（80 倍程度）が可能な内視鏡が開発され、2000 年代に画像強調観察が可能になり、両者を併用した画像強調拡大観察は今では消化管腫瘍の内視鏡診断には欠かせないものとなった。さらに、2000 年代より、生体内細胞観察が可能となる超拡大内視鏡の開発研究がなされ、2018 年に発売に至った（図 5）。

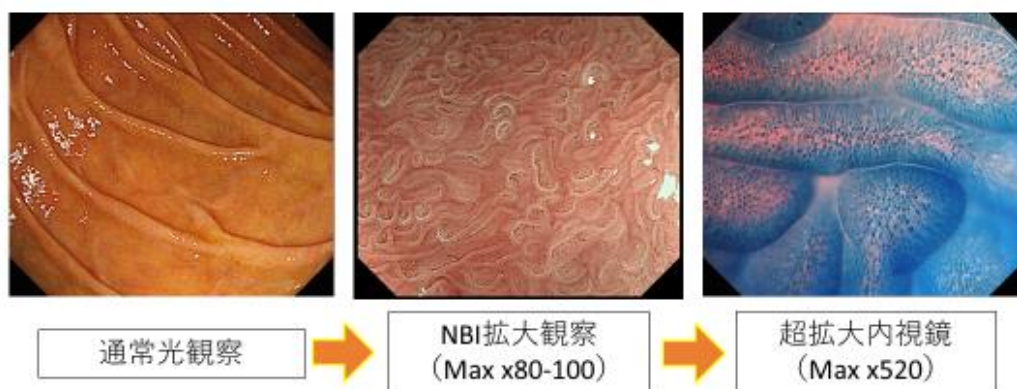


図 5. 消化管内視鏡検査画像の例（十二指腸）

左図：十二指腸の通常内視鏡観察像（白色光）

中央図：NBI 拡大内視鏡像（絨毛の形などが描出される）

右図：超拡大内視鏡像（メチレンブルー染色）

（絨毛を構成する細胞の細胞核などが確認できる）

拡大内視鏡 (Magnifying Endoscopy: ME) は汎用内視鏡と同様のスペックで、通常観察中に手元のレバーを動かすことで簡便に拡大倍率を 100 倍程度まで調整することができる。また、狭帯域光観察 (Narrow Band Imaging: NBI) *は表面微細血管と微細構造を強調して観察する画像強調観察法の一

つである。現在はこの二つを組み合わせた NBI-ME は消化管悪性腫瘍の質的診断や範囲診断のほか様々な消化管粘膜面の構造観察に用いられている。

※狭帯域光観察 (Narrow band imaging = NBI)

「NBI」は、血液中のヘモグロビンに吸収されやすい狭帯域化された 2 つの波長の光を照射することにより、粘膜表層の毛細血管、粘膜微細模様の強調表示を実現している。血管を高いコントラストで観察するために、(1)血液に強く吸収される、(2)粘膜表層で強く反射・散乱される、という特長を併せ持つ光の利用に着目し、粘膜表層の毛細血管観察用に青色の狭帯域光 (390~445nm)、そして深部の太い血管観察と粘膜表層の毛細血管とのコントラストを強調するために緑色の狭帯域光 (530~550nm) を使っている。

(<https://www.olympus.co.jp/jp/news/2006b/nr061226evissj.html>)

また、光学的超拡大内視鏡システム (Endocytoscopy system: ECS) である Olympus 社のエンドサイトスコープ (Endocyto®) (図 6) は内視鏡先端に高精度で加工難易度の高いレンズを複数枚、さらに ED レンズ (特殊低分散ガラスを用いたレンズ) を使用することで、最大 520 倍の光学拡大が可能となる。核や細胞質を染色することで、生体内でリアルタイムに細胞観察ができる。ECS により、高倍率・高精細な画像が、診断精度の向上に貢献することが期待されている。同様に約 500 倍まで拡大観察することが可能な共焦点内視鏡では内視鏡観察前に蛍光造影剤の静脈投与が一般的に必要である。一方、エンドサイトスコープでは通常観察に引き続き、粘膜面への細胞染色用色素散布ののち手元のレバー操作のみで超拡大観察が可能となっており、より低侵襲・短時間の検査を行うことが可能である。

(https://www.olympus.co.jp/news/2017/contents/nr00623/nr00623_00002.pdf)

Endocytoscopy (GIF-H290EC, Olympus, Co.)

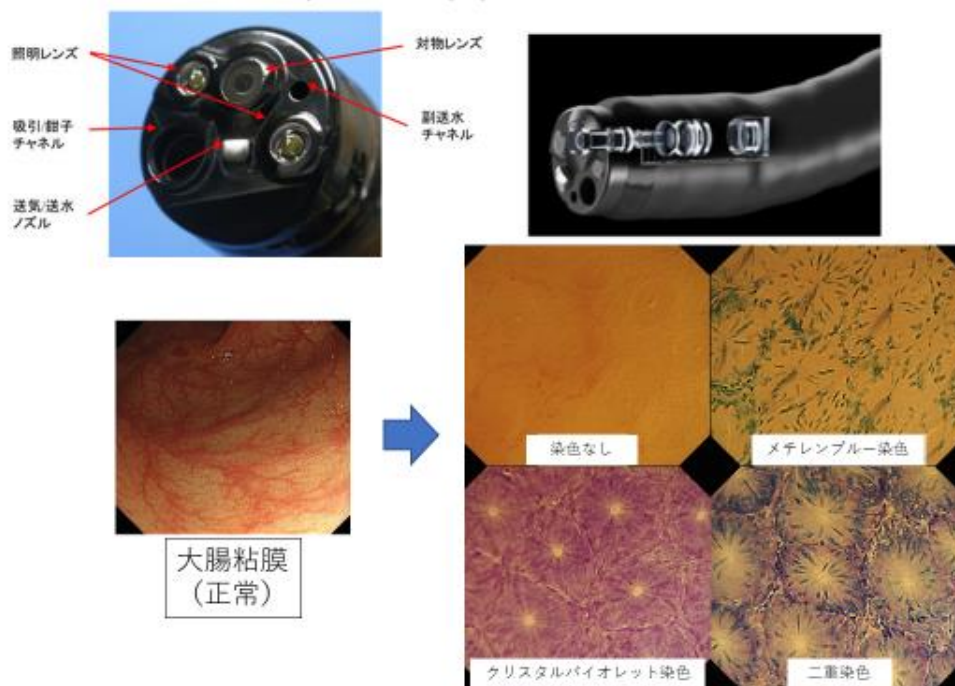


図 6. Endocytoscopy (上段：内視鏡の構造、下段：内視鏡画像)

上段：基本的な内視鏡の構造は従来の内視鏡と同様

内部に複数枚のレンズが重ねられることで高倍率での観察が可能

下段：通常光での観察から核を染色するメチレンブルー、細胞質を染色するクリスタルバイオレットの 2 種類の染色液を用いて観察を行うことでより詳細な観察が可能となる

本検討では腸管 GVHD における内視鏡診断能の向上に関する検討として、①通常観察を用いた内視鏡所見の再検討、②NBI-ME を用いた小腸絨毛萎縮についての検討、③ECS を用いた生体内細胞観察の有用性についての検討を行った。

第 1 章

通常内視鏡観察における内視鏡所見の再検討

緒言

腸管 GVHD の内視鏡所見としては、これまでにいくつかの報告がある。腸管 GVHD において観察される所見は、発赤、浮腫、びらん、潰瘍、粘膜脱落などが挙げられる (Xu CF, et al. World J Gastroenterol, 2008) (図 7)。内視鏡での診断精度は感度 64.7%、特異度 50%と報告されており (Altun R, et al. Turk J Gastroenterol, 2016)、上部消化管では 5.9-18%、下部消化管では 30%の症例においては異常が指摘できなかったとの報告 (Kreisel W, et al. Bone Marrow Transplant, 2012) もある。内視鏡所見も非特異的なものが多いため、通常内視鏡観察での腸管 GVHD の診断はしばしば困難である。

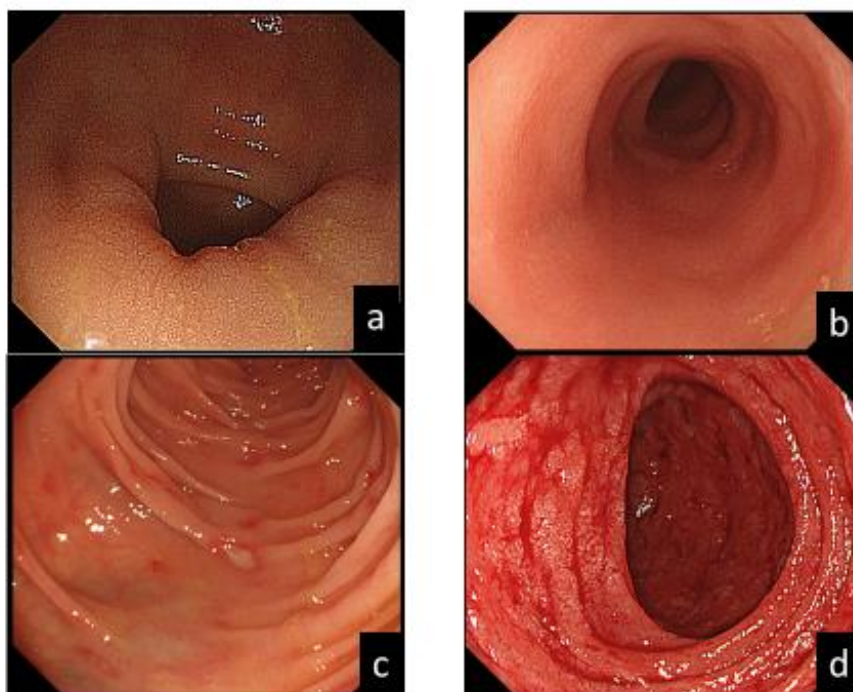


図 7. 腸管 GVHD における内視鏡像 (通常光観察、自験例)

a:浮腫、b:発赤、c:びらん、d:潰瘍・粘膜脱落

また、最も頻度が高い鑑別疾患として CMV 腸炎が挙げられる。CMV 腸炎と腸管 GVHD の合併率は 15-20%とされており (Liu A, et al. Aliment Pharmacol Ther, 2013)、合併することで臨床症状が重篤となることがある。CMV 腸炎における特徴的な内視鏡所見としては打ち抜き潰瘍や不整形潰瘍

が知られている(松田ら、胃と腸, 2018)が、腸炎様の所見のみを呈する症例
もしばしば存在し(Marques 0 Jr, et al. Arq Gastroenterol, 2007)、GVHD
の内視鏡所見と類似することがある(図8)。

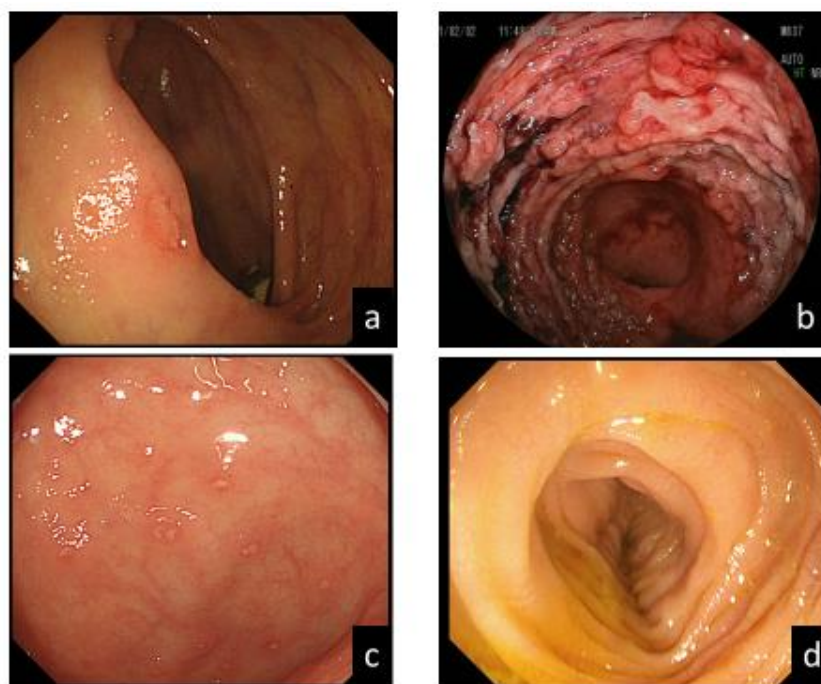


図8. CMV 腸炎の内視鏡像(自験例)

a : 回盲弁上の打ち抜き潰瘍、b : 全周性の不整形潰瘍
c : アフタ、d : 浮腫

CMV 腸炎は腸管 GVHD の内視鏡診断を複雑にする要因の一つとされている
が、両者の鑑別に有用な所見についての報告は少ない。CMV 腸炎では消化管
出血や消化管穿孔などの重篤な病状につながる可能性があり、可能な限り早
期の診断と治療が必要となる。CMV 腸炎の診断方法としては、血清抗体価、
生検検体による CMV 感染細胞の証明、生検検体もしくは血液を用いた PCR 法
による CMV-DNA の検出などが挙げられている(松田ら、胃と腸, 2018)。本邦
では CMV に関して PCR 法は保険適用外となっており、一般臨床では実施困
難である。さらに、造血幹細胞移植後の症例では血清 CMV 抗体 (C7-HRP) の
陽性率が低いことも報告されており(造血細胞移植ガイドライン; サイトメ
ガロウイルス感染症 第2版, 日本造血細胞移植学会)、生検による特殊染
色を含めた組織診断に頼っているのが現状である。このため、腸管 GVHD に
合併した CMV 腸炎の内視鏡像の特徴を模索することは移植後患者での CMV

腸炎の早期診断、治療介入につながる可能性がある。また、CMV 腸炎における内視鏡所見を模索することで腸管 GVHD との鑑別が容易になり、腸管 GVHD の内視鏡診断精度の向上につながるのではないかと考えた。

そこで今回、当院において施行された腸管 GVHD 症例における通常内視鏡像の特徴および CMV 腸炎合併時の内視鏡所見の変化について検討を行った。

研究方法

1-1 検討項目

当院における腸管 GVHD 症例の内視鏡的特徴について後方視的に検討を行った。

<対象>

2008年1月1日から2017年12月31日までに北海道大学病院血液内科にて造血幹細胞移植を受けその後上部消化管内視鏡検査 (Esophagogastroduodenoscopy : EGD) または/かつ下部消化管内視鏡検査 (Colonoscopy : CS) 内視鏡検査を施行された症例。

<方法>

北海道大学病院血液内科より過去の造血幹細胞移植症例のデータを取得しカルテ記録から造血幹細胞移植後に内視鏡実施した症例を抽出し、それぞれの症例において腸管 GVHD の有無および内視鏡検査結果 (病変の部位、画像所見など) を後ろ向きに調査し、腸管 GVHD の診断に至った症例 (GVHD 群) と腸管 GVHD の診断に至らなかった症例 (非 GVHD 群) の間で比較検討を行った。なお内視鏡検査所見については各々の検査施行時の術者の診断を用いた。

<主要評価項目>

GVHD 群と非 GVHD 群の 2 群間での内視鏡所見および病変占拠部位の比較

<副次評価項目>

腸管 GVHD 診断に対するそれぞれの内視鏡所見の感度・特異度

<統計方法>

2 群間で Fisher' s test を用いて有意差の検定を行った。p<0.05 を統計学的有意差とした。

1-2 検討項目

腸管 GVHD 症例の中で CMV 腸炎を合併している場合の内視鏡的特徴について後方視的に検討した。

<対象>

2008年1月から2016年12月までに当院血液内科にて造血幹細胞移植後にCSを受け生検を施行され病理組織学的に腸管GVHDの診断を受けた症例を対象とした。この中でCMV腸炎の合併を組織学的に証明された症例(GVHD+CMV腸炎; Group A)、CMV腸炎の合併を伴わなかった症例(GVHD; Group B)に分けた。またCMV腸炎の内視鏡像の特徴を検討するために対照群として造血幹細胞移植を受けていない症例でCSを行いCMV腸炎の診断に至った症例(CMV腸炎単独群; Group C)も対象とした。

<方法>

Group AおよびGroup Bについては1-1の検討結果から腸管GVHDの症例のみを抽出した。CMV感染の有無を明確に区別するため、本検討では血球減少や全身状態から生検が施行できず臨床的にGVHDと診断された症例を除外し、生検にて組織学的に腸管GVHDおよびCMV感染が証明された症例のみを対象とした。また、Group Cについては当院の内視鏡データベースよりCS時に生検を実施し、CMV腸炎の診断に至った症例を抽出した。3群間における内視鏡検査結果(内視鏡所見および病変の占拠部位)について検討を行った。なお、内視鏡所見の判定は各々の検査施行時の術者の判定を用いた。

<主要評価項目>

3群間における内視鏡所見および病変の占拠部位の比較

<統計学的手法>

χ^2 検定を用いて3群間の比較を行った。 $p < 0.05$ を統計学的有意差とした。

なお、本検討は「人を対象とした医学系研究に関する倫理指針」に従って北海道大学病院自主臨床研究倫理審査を受け承認を得た後に行った(自主臨床研究番号 016-0101、016-0103)。同意取得については予め承認を得た方法(オプトアウトおよび同意文書取得)にて承諾を得た。

研究結果

1-1

造血幹細胞移植後に内視鏡検査を施行された症例はEGDが118例、CSが106例であった。その中で臨床的に腸管GVHDと診断され加療を受けた症例はEGD 42例、CS 74例であった。

<内視鏡所見>

最も頻度が高かったものはEGDでは発赤(45.2%)であったが、非GVHD群で

も高頻度（39.5%）に認められており、有意差は認められなかった。一方、CSにおいて最も頻度が高かったものは浮腫（74.3%）であったが、非GVHD群でも比較的高頻度（40.6%）に認められていた。ほとんどの所見において感度が低かった（表2、3）。

表2. 通常内視鏡観察における内視鏡所見（EGD）

EGD	GVHD n=42	非GVHD n=76	感度	特異度	p値
浮腫	35.7%	6.6%	35.7%	93.4%	<0.001
発赤	45.2%	39.5%	45.2%	33.6%	n. s.
びらん	19.0%	17.1%	19.0%	82.9%	n. s.
潰瘍	4.8%	5.3%	4.8%	94.7%	n. s.
粘膜脱落	11.9%	0%	11.9%	100%	0.002
異常なし	23.8%	47.4%	23.8%	52.6%	0.012
その他	11.9%	3.9%			n. s.

表3. 通常内視鏡観察における内視鏡所見（CS）

CS	GVHD n=74	非GVHD n=32	感度	特異度	p値
浮腫	74.3%	40.6%	72.4%	59.4%	0.001
発赤	50.0%	25.0%	50.0%	75.0%	0.017
びらん	29.7%	6.3%	29.7%	93.8%	0.030
潰瘍	14.9%	12.5%	14.9%	87.5%	n. s.
粘膜脱落	10.8%	0%	10.8%	100%	n. s.
異常なし	9.5%	28.1%	9.5%	71.9%	0.018
その他	10.8%	12.5%			n. s.

<病変の占拠部位>

EGDにて最も頻度が高かった部位は胃L領域(下部1/3領域)であり、次いで十二指腸であった。しかしながら胃L領域においては非GVHD群でも同様に異常が指摘されており、有意差は認めなかった(表4)。CSでは頻度が高かった領域はS状結腸、次いで横行結腸であった。全領域において非GVHD群と比較して高頻度に異常が指摘された(表5)。

表4. 通常内視鏡観察において異常が指摘された領域 (EGD)

EGD		GVHD n=42	非GVHD n=76	p 値
食道		21.4%	6.6%	0.020
胃	U	19.0%	10.5%	n. s.
	M	28.6%	15.8%	n. s.
	L	42.9%	35.5%	n. s.
十二指腸		38.1%	17.1%	0.011

表5. 通常内視鏡観察において異常が指摘された領域 (CS)

CS	GVHD n=74	非GVHD n=32	p 値
回腸	35.0%	12.5%	0.017
盲腸	54.0%	25.0%	0.006
上行結腸	42.9%	31.3%	0.010
横行結腸	65.1%	25.0%	0.001
下行結腸	60.9%	34.4%	0.011
S状結腸	70.3%	40.6%	0.004
直腸	59.5%	21.9%	<0.001

1-2 CMV 腸炎合併腸管 GVHD の内視鏡的特徴についての検討

各群の症例数は GVHD+CMV 腸炎 (Group A) 19 例、GVHD 群 (Group B) 28 例、CMV 腸炎群 (Group C) 23 例であった。

<各群における病変の占拠部位>

病変の占拠部位としては盲腸、特に回盲弁領域については CMV 腸炎を認められた Group A と Group C において Group B と比較して有意差を持って病変を指摘された割合が高かった。(表 6)

表 6. 各群における異常が指摘された部位

	Group A GVHD+CMV 群 (n = 19)	Group B GVHD 群 (n = 28)	Group C CMV 群 (n = 23)	p value
回腸末端, % (n)	41.1 (7/17)	50.0 (8/16)	28.6 (4/14)	n. s.
盲腸, % (n)	89.5 (17/19)	23.5 (4/17)	78.6 (11/14)	<0.001
回盲弁, % (n)	68.4 (13/19)	0.0 (0/17)	71.4 (10/14)	<0.001
上行結腸, % (n)	68.4 (13/19)	52.9 (9/17)	21.4 (3/14)	0.026
横行結腸, % (n)	68.4 (13/19)	60.0 (12/20)	43.8 (7/16)	n. s.
下行結腸, % (n)	63.2 (12/19)	59.1 (13/22)	22.2 (4/18)	0.021
S 状結腸, % (n)	84.2 (16/19)	75.0 (21/28)	26.1 (6/23)	<0.001
直腸, % (n)	68.4 (13/19)	60.7 (17/28)	39.1 (9/23)	n. s.

<内視鏡所見>

潰瘍性病変は CMV 腸炎を有する Group A および Group C において多く認められた。一方で、発赤や浮腫は腸管 GVHD を有する Group A および Group B において多く認められた (表 7)。

表 7. 各群における内視鏡所見の比較

	Group A GVHD+CMV 群 (n = 19)	Group B GVHD 群 (n = 28)	Group C CMV 群 (n = 23)	p value
潰瘍, % (n)	52.6 (10/19)	10.7 (3/28)	91.3 (21/23)	<0.001
打ち抜き潰瘍, % (n)	36.8 (7/19)	0.0 (0/28)	34.8 (8/23)	
びらん, % (n)	26.3 (5/19)	17.9 (5/28)	8.7 (2/23)	n. s.
アフタ, % (n)	5.3 (1/19)	10.7 (3/28)	13.0 (3/23)	n. s.
発赤, % (n)	36.8 (7/19)	60.7 (17/28)	4.3 (1/23)	<0.001
浮腫, % (n)	52.6 (10/19)	57.1 (16/28)	8.7 (2/23)	<0.001
異常なし, % (n)	0.0 (0/19)	7.1 (2/28)	0.0 (0/23)	n. s.

考察

当院における腸管 GVHD 症例における内視鏡像の特徴は既報と同様に浮腫、発赤、びらん、潰瘍、粘膜脱落などが大半を占めていることが分かった。また、その一方で EGD 23.8%、CS 9.5%の症例において内視鏡上の異常が指摘されておらず、既報と矛盾しない結果と考える。また、比較的頻度の高い所見であっても感度・特異度が高くないことを考慮すると診断能の高い所見とは言い難い。

CMV 腸炎を合併した腸管 GVHD の内視鏡像の特徴は、回盲弁周囲の潰瘍性病変であることが分かった。過去の CMV 腸炎に関する報告において回盲弁上に病変が認められるという報告が散見される (Kawasaki S, et al. World J Gastrointest Oncol, 2010)。また、右側結腸に多いとの報告も認められた (Drew WL, et al. J Infec Dis, 1988, Marques O Jr, et al. Arq Gastroenterol, 2007)。CMV は血管壁細胞に感染することにより粘膜に虚血性変化を起こし、潰瘍を形成すると考えられている (青柳ら、胃と腸, 2012)。回盲部は内視鏡観察時に詳細に観察を行わないと死角が多い領域であり、CMV 腸炎を疑う場合には注意深く観察を行うこと、更に深部までの全結腸の内視鏡検査が必要である。

検討 1-2 により腸管 GVHD に CMV 腸炎が合併した症例で内視鏡的鑑別が容易となったことで治療方針に有意義な情報を提供することができる。一方、

腸管 GVHD 自体の診断については、内視鏡所見や占拠部位に特徴的な所見が認められず、通常内視鏡観察のみでの腸管 GVHD の診断には限界があり、さらなる内視鏡検査の工夫が必要であると考えた。

小括

腸管 GVHD に CMV 腸炎を合併した場合、病変は回盲弁に好発し、潰瘍性病変が多いことがわかった。一方、通常内視鏡観察では腸管 GVHD に特徴的な所見や好発部位を指摘することはできなかった。

第 2 章

画像強調内視鏡拡大観察の有用性

についての検討

緒言

1-1 で示されたように、通常内視鏡観察で見られる所見としては浮腫、発赤、びらん、粘膜脱落などが挙げられるが、腸管 GVHD 自体の診断精度としては決して高くない。消化管の上皮性腫瘍においては NBI-ME が通常光観察と比較して有意に診断能に優れているとの報告 (Komeda Y, et al. Oncology, 2017) が散見されることから、本検討においても日常臨床において汎用され簡便に行うことのできる NBI-ME を用いた GVHD 診断に着目した。

NBI-ME を用いた腸管 GVHD の報告は非常に少ない。腸管 GVHD 症例で小腸絨毛の観察を行ったところ萎縮を認めたとの報告が散見される (Hiejima E, et al. Dig Endosc, 2016、Sugihara Y, et al. BMC Gastroenterol, 2018)。組織学的には腸幹細胞が減少するため絨毛が萎縮するとの報告 (Peled JU, et al. Blood, 2016) はあるものの、実際に絨毛の長さを測定した報告はない。さらに、過去の報告における小腸絨毛萎縮に対する内視鏡診断は内視鏡医の経験に基づく主観的判断となっており、その診断能の客観性については検討の余地があるのではないかと考えた。そこで、NBI-ME を用いた腸管 GVHD 診断の有用性について検討を行った。

研究方法

2-0 検討項目

NBI-ME での観察部位を検討するため、過去の腸管 GVHD 症例の NBI-ME 画像を抽出した。また GVHD が疑われる数症例において NBI-ME で消化管粘膜の拡大像を撮像した。それらの画像から検討可能な部位と評価項目について模索した。

2-1 検討項目

上記結果を踏まえ、検討項目を小腸絨毛の萎縮評価とし、腸管 GVHD 症例において組織学的に絨毛萎縮が認められるかどうかを検討した。

<対象>

2008 年 1 月から 2018 年 9 月 31 日までに当院血液内科にて造血幹細胞移植を受けた症例の中で、移植後に EGD または CS 下に小腸 (十二指腸、回腸) より生検を施行されたもののうち、腸管 GVHD と診断され加療を受けた症例 (GVHD 群) および腸管 GVHD と診断されなかった症例 (非 GVHD 群) を対象とした。また、対照群として造血幹細胞移植前に消化管スクリーニングのた

めに内視鏡検査を施行された症例（対照群）も対象とした。

<方法>

GVHD 群、非 GVHD 群、および対照群は 1-1 と同様に血液内科より得た造血幹細胞移植患者リスト内の症例で造血幹細胞移植前後に内視鏡検査を施行した症例を抽出した。対象症例全例の生検検体の病理標本番号を確認した。北海道大学病院病理部に保管されている検体標本を用いて絨毛の長さおよび陰窩の長さについて評価を行った。

※絨毛および陰窩の長さの測定

顕微鏡の 100 倍もしくは 400 倍で観察しそれぞれの生検検体内で測定可能なすべての絨毛および陰窩を測定した。それぞれの症例において絨毛の長さおよび陰窩の長さの平均値を算出し、絨毛/陰窩の長さの比 (Villi/Crypt 比 : V/C 比) を算出した (図 9)。



図 9. 小腸絨毛長の組織学的評価方法

回腸末端の生検検体 (HE ×40)

V:絨毛の長さ、C:陰窩の長さ

<主要評価項目>

3 群間における絨毛の長さ、陰窩の長さ、V/C 比の比較検討

<副次評価項目>

絨毛萎縮の定義に用いるカットオフ値の算出

※絨毛萎縮についてのカットオフ値

GVHD 群と対照群を用いて V/C 比のカットオフ値を決定した。
組織学的絨毛萎縮による腸管 GVHD の診断精度 (感度、特異度)

<統計学的手法>

3 群間での比較については一元配置分散分析および Tukey' s test、Games-Howell test を用いた。カットオフ値の決定には ROC 曲線を作成後に Youden Index を算出し、同 Index が高値を示した V/C 比の値をカットオフ値とした。p<0.05 を統計学的有意差とした。

2-2 検討項目

NBI-ME 画像での絨毛萎縮の有無について内視鏡診断の精度を検討した。

<対象>

検討 2-1 にて算出した絨毛萎縮のカットオフ値を用いて、GVHD 群の中で V/C 比<3.0 の症例 (GVHD 群) および 2-1 の対照群の中で V/C 比 \geq 3.0 の症例 (control 群) のみを抽出し、その中で NBI 拡大観察を行った症例を対象として以下の検討を行った。

<方法>

後述のように予め作成した画像集を用いて、読影医 3 名 (消化器内視鏡専門医 2 名、非専門医 1 名) に内視鏡画像の萎縮の有無を個別に読影してもらった。読影は 1 カ月以上の間を空けて 2 回行った。2 回目の読影結果を用いた内視鏡診断の診断精度および 1 回目、2 回目の読影医内一致率および 1 回目、2 回目それぞれにおける読影医間一致率を算出した。

<使用画像>

対象症例の内視鏡像それぞれ 2 枚ずつをランダム匿名化し、十二指腸および回腸に分けて画像集を作成した。それぞれ Olympus 社の GIF-H260Z (十二指腸)、PCF-Q260AZI (回腸末端) を用いて撮像した内視鏡画像を使用した。

<内視鏡読影>

予め本検討の画像集に使用していない内視鏡画像を用いて十二指腸および回腸の絨毛に関する正常像および萎縮症例の画像を提示し、読影医全員で供覧した (図 10)。その後、個別に検討画像に対する読影を行った。

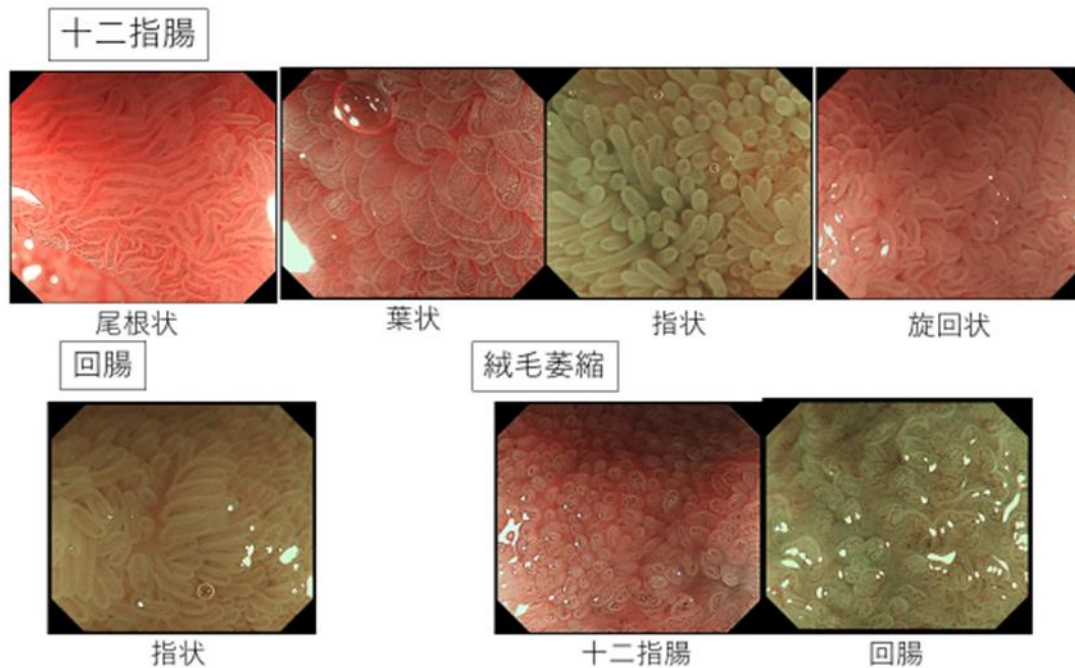


図 10. 小腸絨毛の拡大内視鏡像（自験例）

十二指腸絨毛の拡大内視鏡像は尾根状、葉状、指状、旋回状のパターンが混在している。回腸では指状が大半である。（田中ら, 胃と腸, 2007）

<主要評価項目>

小腸絨毛萎縮に対する内視鏡的絨毛萎縮診断の診断精度

読影医 3 名の一致した答えあるいは 3 名中 2 名以上が回答した答えを内視鏡的診断結果として診断精度を算出した。

<副次評価項目>

読影医内の診断一致率および読影医間の診断一致率

<統計学的手法>

内視鏡診断の診断精度の評価として正診率、感度、特異度、陽性的中率 (Positive predictive value : PPV)、陰性的中率 (Negative predictive value : NPV) を算出した。読影医内の診断一致率は Cohen の κ 値を、読影医間の診断一致率は Fleiss の κ 値を用いて評価を行った。

なお、本検討は「人を対象とした医学系研究に関する倫理指針」に従って北海道大学病院自主臨床研究倫理審査を受け承認を得た後に行った（自主臨床研究番号 016-0467）。同意取得については予め承認を得た方法（オプトアウトおよび同意文書取得）にて承諾を得た。

研究結果

2-0 NBI-ME での観察部位の検討

臨床的に腸管 GVHD が疑われ内視鏡検査を施行する数症例に対して過度な侵襲が加わらない範囲で EGD あるいは CS の際に食道、胃、十二指腸、回腸末端、大腸の NBI-ME を行った。

食道:移植前の前処置として施行した放射線などの影響か全体的に血管透見などは目立つものの有意な変化は指摘できなかった。

胃:もともとの胃粘膜自体に萎縮性胃炎を含め非常に多彩な変化を認めることがあるため、GVHD 特有の所見を見出すことは困難と考えた。

十二指腸および回腸:既報の通り絨毛に萎縮が疑われる所見があり通常光観察と比較して画像強調拡大観察の方が明瞭に確認できた。

大腸:浮腫状粘膜の部分で観察を行ったが、腸管 GVHD 症例における内視鏡像と非 GVHD 症例における内視鏡像では明らかな違いは確認できなかった。また、潰瘍などの病変部は拡大観察を行わなくとも異常が指摘できたため有用性が見出せなかった。

このため、腸管 GVHD の診断にあたり NBI-ME による粘膜表面構造の観察が適しているのは小腸絨毛と考え、後述の検討を行った。

2-1 腸管 GVHD における組織学的な小腸絨毛萎縮の評価

全体で 301 例が対象となったが、そのうち 59 例は主に標本作成時のアーチファクトにより測定困難であり除外し、合計 242 例（十二指腸 129 例、回腸 113 例）を用いて検討を行った。十二指腸は GVHD 群 31 例、非 GVHD 群 48 例、対照群 50 例であった。また、回腸は GVHD 群 39 例、非 GVHD 群 24 例、対照群 50 例であった。

<絨毛の長さの測定結果>

十二指腸絨毛の長さは GVHD 群において有意差を持って他群より絨毛萎縮を認めた。一方陰窩の長さには有意差を認めなかった。V/C 比の平均値は GVHD 群において有意差を持って他群より低値を示した。(図 11)

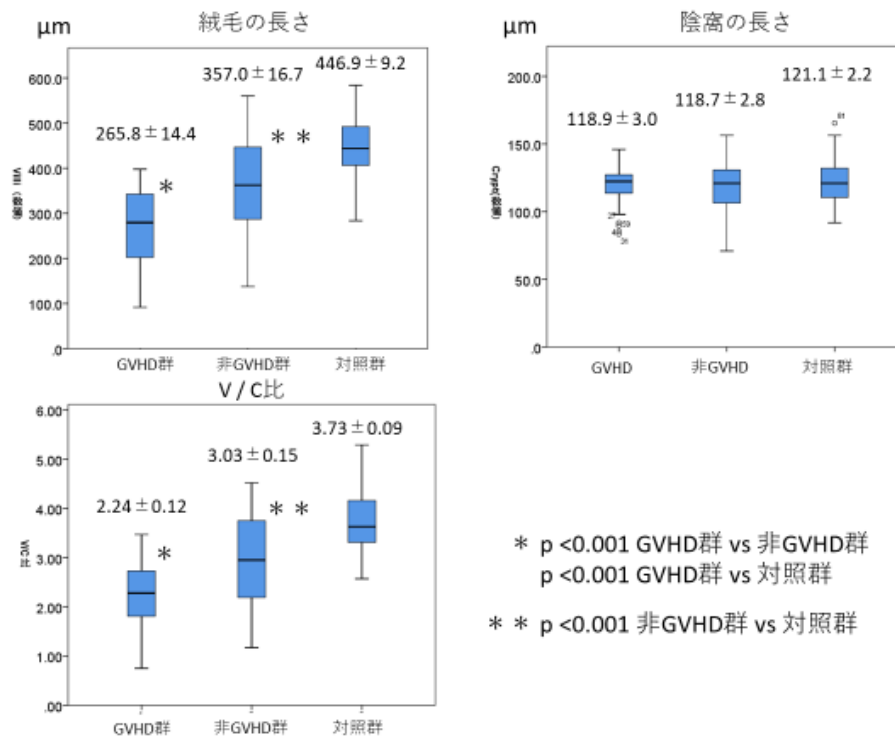


図 11. 十二指腸における絨毛および陰窩の長さ、V/C 比の比較

GVHD 群において他群と比較して有意な絨毛萎縮を認めた。

非 GVHD 群においても対照群と比較して有意な絨毛萎縮を認めた。

回腸末端の小腸粘膜において、絨毛の長さは GVHD 群において他群と比較して有意差を持って短かった。一方、陰窩の長さには有意差を認めなかった。V/C 比は GVHD 群において他群と比較して有意差を持って低値を示した。(図 12)

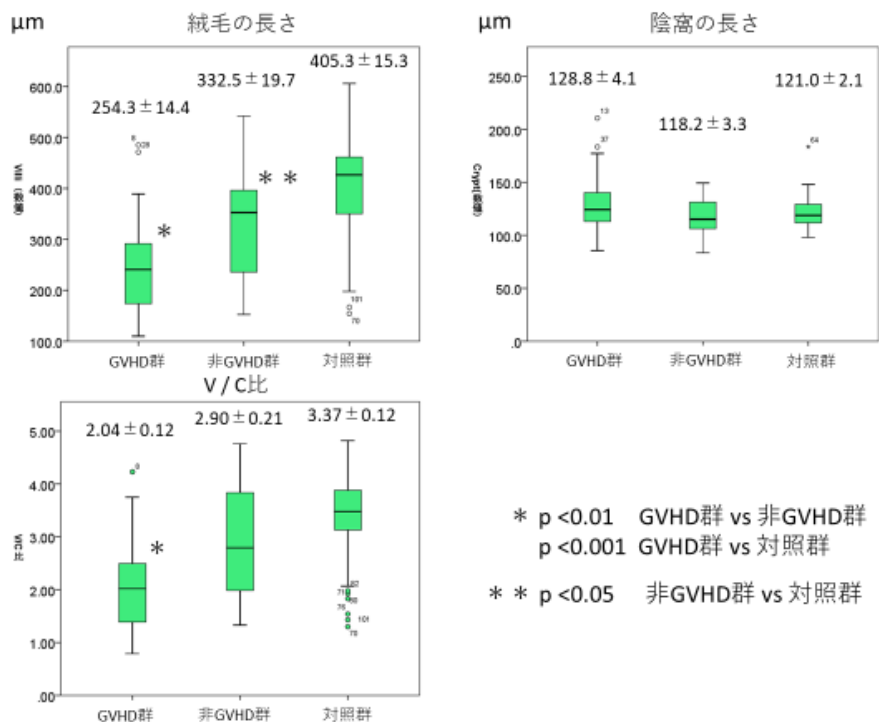


図 12. 回腸末端における絨毛および陰窩の長さ、V/C 比の比較

GVHD 群において他群と比較して有意な絨毛萎縮を認めた。

非 GVHD 群は絨毛長のみ対照群と比較して短縮を認めた。

<絨毛萎縮のカットオフ値 (GVHD 群 vs 対照群) >

上記結果から GVHD 群および対照群の V/C 比を用いて本検討における絨毛萎縮のカットオフ値を算出した。

ROC 曲線を作成し最も Youden Index の高い値をカットオフ値とした場合、十二指腸および回腸ともにカットオフ値は V/C 比=3.0 付近であった。このため、本検討における絨毛萎縮のカットオフ値は十二指腸および回腸ともに V/C 比 3.0 とした。

<各群におけるカットオフ値を用いた絨毛萎縮の割合>

前述のカットオフ値 V/C 比 3.0 を用いて絨毛萎縮の有無を各群で検討したところ、GVHD 群において有意に絨毛萎縮症例が多かった (十二指腸 p<0.001、回腸 p=0.001)。しかし非 GVHD 群においても十二指腸では 50.0%、回腸末端では 58.3%に絨毛萎縮を認めた。このため、組織学的絨毛萎縮による腸管 GVHD の診断精度は十二指腸において感度 87.1%、特異度 50.0%、回腸において感度 92.3%、特異度 41.7%であった (表 8、9)。

表 8. 十二指腸における組織学的絨毛萎縮の頻度

	GVHD 群	非 GVHD 群	合計
V/C 比<3.0	27	24	51
V/C 比≥3.0	4	24	28
合計	31	48	79

表 9. 回腸末端における組織学的絨毛萎縮の頻度

	GVHD 群	非 GVHD 群	合計
V/C 比<3.0	36	14	50
V/C 比≥3.0	3	10	13
合計	39	24	63

2-2. NBI-ME 画像での絨毛萎縮の正診率の検討

検討 2-1 において NBI-ME を行った症例の中で、V/C 比<3.0 の腸管 GVHD 症例 (GVHD 群) および V/C ≥3.0 の移植前検査症例 (control 群) を用いて NBI-ME における正診率の検討を行った。

<十二指腸における NBI-ME の診断精度>

全体での正診率は 83.8%、感度および特異度はそれぞれ 72.7%、88.5%であった (表 10, 11)。

表 10. 十二指腸の絨毛萎縮に対する NBI-ME 診断

内視鏡診断	GVHD 群	Control 群	合計
萎縮あり	8	3	11
萎縮無し	3	23	26
合計	11	26	37

表 11. 十二指腸の絨毛萎縮に対する NBI-ME 診断精度

	割合	95%信頼区間
正診率	83.8%	70.0-92.3
感度	72.7%	49.6-87.0
特異度	88.5%	78.8-94.5
陽性的中率	72.7%	49.6-87.0
陰性的中率	88.5%	78.8-94.5

また、それぞれの診断医内における診断一致率は 0.290、0.204、0.495 と比較的低い一致率であった。また、診断医間の一致率は 0.517 であり一致率は中等度の一致率であった。

＜回腸末端における NBI-ME の診断精度＞

全体での正診率は 94.9%、感度および特異度はそれぞれ 90.9%、96.4%であった（表 12, 13）。

表 12. 回腸末端の絨毛萎縮に対する NBI-ME 診断

内視鏡診断	GVHD 群	Control 群	合計
萎縮あり	10	1	11
萎縮無し	1	27	28
合計	11	28	39

表 13. 回腸末端の絨毛萎縮に対する NBI-ME 診断精度

	割合	95%信頼区間
正診率	94.9%	83.6-98.6
感度	90.9%	70.9-97.5
特異度	96.4%	88.6-99.0
陽性的中率	90.9%	70.9-97.5
陰性的中率	96.4%	88.6-99.0

それぞれの読影医内における診断一致率は 0.806、0.750、1.000 と高い一致率であった。また、読影医間の一致率は 0.793 であり高い一致率であった。

考察

検討 2-1 では、GVHD 群において他群と比較して有意に V/C 比が低値を示した。腸管 GVHD においては腸幹細胞を始めとする絨毛を構成する細胞が減少することが報告されており (Peled JU, et al. Blood, 2016)、それにより絨毛萎縮が起きると考えられる。

絨毛の測定方法については過去の十二指腸絨毛の測定についての報告 (Serra S, et al. J Clin Pathol, 2006) を参照した。この報告では、絨

毛萎縮の組織学的評価は様々なアーチファクトにより困難であるとされている。また、指標として一つの生検検体の中で3-4本以上の絨毛を評価して萎縮の有無を判断すべきとの報告もあり本検討では測定可能であった絨毛は1検体当たり平均して3.99本であり、検討の評価方法としては妥当であったと考える。

また、本検討において絨毛萎縮はV/C比=3.0と定義された、同様に十二指腸絨毛萎縮を特徴とするセリアック病においてもV/C比のカットオフ値を3.0として診断を行うことが一般的とされている (Singh R, et al. Endoscopy, 2010)。疾患は異なるものの、本検討における絨毛萎縮の定義は妥当であったと考える。

組織学的絨毛萎縮は非GVHD群でも約半数に認めることが明らかになった。小腸絨毛萎縮の原因としては、長期の絶食や薬剤、放射線照射なども挙げられるため (Serra S, et al. J Clin Pathol, 2006)、造血幹細胞移植前の様々な治療や投与薬剤によっても絨毛萎縮が起こっている可能性が考えられた。しかしながら、組織学的絨毛萎縮による腸管GVHD診断の感度は良好であったことから腸管GVHDを拾い上げる役割は十分に果たせるものと考えた。

小腸絨毛萎縮の内視鏡診断についての検討 (2-2) においては回腸末端の方が十二指腸と比べて正診率、診断一致率が高い傾向が認められた。もともと十二指腸と回腸の正常絨毛像は異なっており、回腸においては大半が指状と表現される内視鏡像である一方、十二指腸においては葉状、尾根状、旋回状、指状のうち複数のパターンが混在する (田中ら, 胃と腸, 2007)。回腸末端の方が正常内視鏡像が単純であるため絨毛萎縮の診断も容易であったと考えた。このため小腸絨毛萎縮について検討を行う場合には回腸末端の方がより客観性を持った診断が可能であったと考える。

小括

NBI-MEを行うことで小腸絨毛萎縮の診断は可能と考えられた。しかし、小腸絨毛萎縮は腸管GVHDで感度は高いものの特異度はあまり高くない。このことからNBI-MEは腸管GVHDの内視鏡診断において補助的役割にとどまり、さらに精度の高い内視鏡評価方法の模索が必要と考えた。

第 3 章

超拡大内視鏡観察を用いた生体内細胞観察 の有用性についての検討

緒言

第2章にて NBI-ME を用いた腸管 GVHD の内視鏡診断能について検討を行ったが、小腸絨毛萎縮の発生頻度および内視鏡による絨毛萎縮の正診率を考慮するとその診断能は高いとは言い難い。そこで、生体内細胞観察が可能となる超拡大内視鏡による細胞レベルでの評価に着目した。

生体内細胞観察ができる内視鏡には共焦点内視鏡およびエンドサイトスコープがある。Bojarski Cらは共焦点内視鏡を用いた腸管 GVHD の細胞観察に関して報告した (Bojarski C, et al. Endoscopy, 2009)。共焦点内視鏡は最大 500-1000 倍まで観察することができる一方で、観察のために蛍光造影剤の投与が必要となり、一般的には経静脈投与されることが多く、それに伴う有害事象の発生リスクがある。また、通常の内視鏡装置以外に共焦点内視鏡専用のレーザー機器が必要となり、費用もかかる (Shimizu Y, et al. Gastrointest Endosc, 2013)。一方、エンドサイトスコープは通常の内視鏡装置に専用スコープを装着するのみで、通常観察から拡大観察、超拡大観察まで1本の内視鏡で可能となる。手元のレバーを動かすだけで簡便に拡大操作もすることができ、侵襲の少ない検査である。

日本でも、2018 年よりエンドサイトスコープが市販され普及しつつあるが、これまで腸管 GVHD に関する報告はない。過去にエンドサイトスコープを用いた内視鏡診断の有用性に関する報告は食道癌、胃癌、大腸癌や腺腫などの消化管上皮性腫瘍が挙げられる (Kumagai Y, et al. J Dig Dis 2012, Kaise M, et al. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2015, Kudo T, et al. Gastrointest Endosc, 2017)。また、クローン病や潰瘍性大腸炎については、炎症の評価について有用性が報告されている (Bessho R, et al. J Gastroenterol, 2011, Nishiyama S, et al. J Gastroenterol, 2015)。

そこで、エンドサイトスコープを用いた超拡大内視鏡検査 (ECS) による腸管 GVHD 診断の有用性について検討を行った。

研究方法

3-0 検討項目

悪性腫瘍の精査目的に施行した ECS において、腫瘍以外の正常消化管粘膜 (胃、十二指腸、大腸) を観察し、得られる ECS 画像を確認した。

3-1 検討項目

腸管 GVHD における大腸粘膜の組織学的変化（陰窩数）の検討を行った。
<対象>

2008 年 1 月から 2017 年 12 月までに当院血液内科にて造血幹細胞移植を受けた後に CS を受け生検を施行された症例。腸管 GVHD と診断され治療を受けた症例（GVHD 群）および GVHD の診断に至らなかった症例（非 GVHD 群）に分類した。また、対照群として造血幹細胞移植前の症例を対象とした。

<方法>

それぞれの症例で大腸から採取された生検検体を用いて 400 倍の視野をランダムに 10 視野選び、陰窩数を数え、1 視野における陰窩数の平均値を算出した（図 13）。なお、粘膜面に対して垂直に切片を作成された標本は除外した。

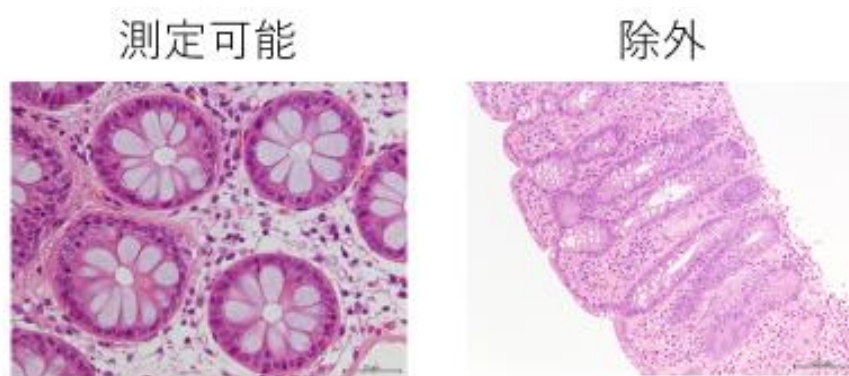


図 13. 大腸生検検体における陰窩の測定方法

粘膜面に対して水平に作成された切片（左図）を用い、
粘膜面に対して垂直に作成された切片（右図）は除外した。

<主要評価項目>

3 群間での陰窩数の比較

<副次評価項目>

腸管 GVHD の重症度と陰窩数の相関関係（GVHD 群、非 GVHD 群のみ対象）

<統計学的手法>

3 群間での陰窩数の比較に一元配置分散分析および Tukey' s test を用いた。また、相関関係の検討においては Spearman の相関係数を用いた。p<0.05 を統計学的有意差とした。

3-2 検討項目

ECSによる腸管GVHDの生体内細胞観察所見およびGVHD診断におけるECSの診断精度を検討した。検討3-0の結果を考慮し、大腸粘膜の陰窩に着目した検討を行うこととした。

<対象>

2017年1月から2018年10月までに当院で造血幹細胞移植を受け、エンドサイトスコープを用いたCSを施行された症例。その中で腸管GVHDとして治療を受けた症例をGVHD群、腸管GVHDと診断されなかった症例を非GVHD群とした。また同時期に造血幹細胞移植前の消化管スクリーニング検査としてエンドサイトスコープを用いて下部消化管内視鏡検査を施行された症例を対照群とした。

<方法>

個々の内視鏡画像を匿名ランダム化し、下記項目について消化器内視鏡専門医1名がスコアリングを行った。

<評価項目の決定>

ECSでは細胞核の形状や配列など組織学的所見に類似した構造まで観察することができる。そのため、本検討では組織学的特徴に即した検討項目の設定が良いと考えた。腸管GVHDにおける組織学的な特徴はリンパ球浸潤による陰窩の変形・破壊や脱落であることから、陰窩数および陰窩の形状に着目した。また潰瘍性大腸炎では腸管の炎症が高度になることで血管の視認性が増加する(Nishiyama S, et al. J Gastroenterol, 2015)ことが報告されていたため、血管の視認性についても評価項目とした。

潰瘍性大腸炎におけるスコアを参考に以下のようにECSスコアを定義し、評価を行った。

<エンドサイトスコア (ECS スコア) >

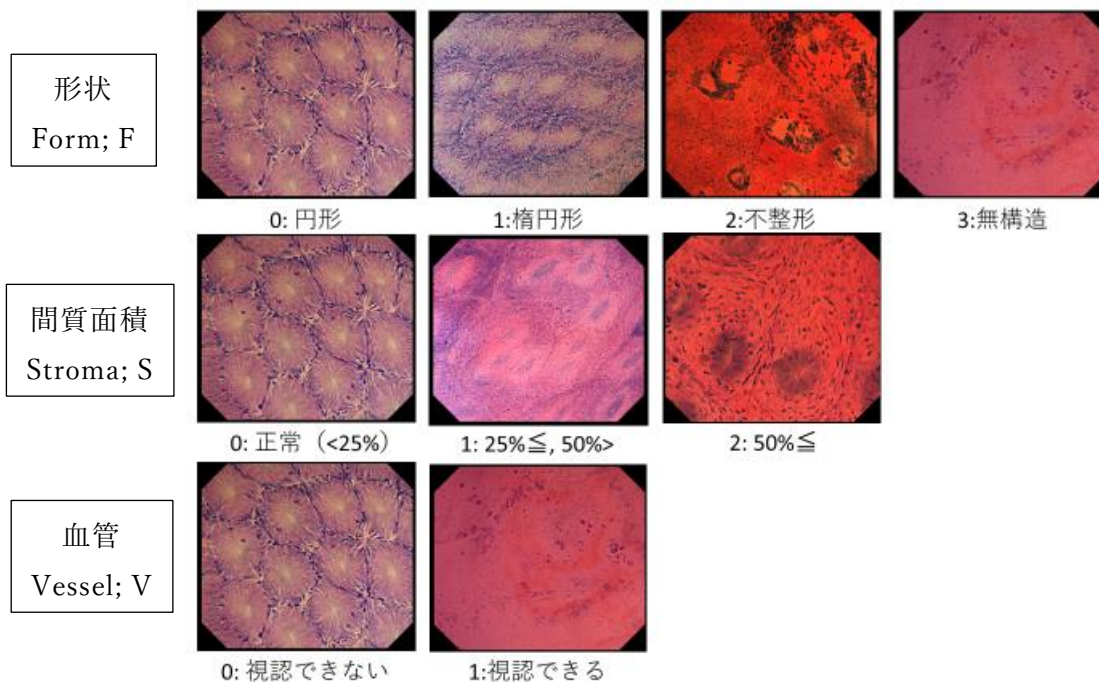


図 14. エンドサイトスコア (ECS スコア)

ECS-F (形状 : form)

0 : ほぼ均一な円形、1 : 楕円形、2 : 不整形、3 : 無構造

ECS-S(間質の面積 : stroma)

0 : 内視鏡 1 視野の 25%未満、1 : 25%以上-50%未満、2 : 50%以上

ECS-V (血管 : vessel)

0 : 視認できない、1 : 視認できる

<主要評価項目>

3 群間での ECS スコア(合計スコア)の比較

<副次評価項目>

各項目別スコアの 3 群間での比較

GVHD 重症度とスコアの相関関係 (移植後症例のみ)

GVHD 診断に対するカットオフ値の検出およびそれに対する正診率

<統計学的手法>

3 群間でのスコアの比較については χ^2 検定および Kruskal-Wallis、Steel-Dwass test を用いた。また、相関関係の検討においては Spearman の相関係数を用いた。カットオフ値の決定には ROC 曲線を作成後 Youden Index を算出し、最も高いスコアを用いた。p<0.05 を統計学的有意差とした。

なお、本検討は「人を対象とした医学系研究に関する倫理指針」に従って北海道大学病院自主臨床研究倫理審査を受け承認を得た後に行った(自主臨床研究番号 016-0467、016-0371)。同意取得については予め承認を得た方法(オプトアウトおよび同意文書取得)にて承諾を得た。

研究結果

3-0. ECSにて検討を行う臓器の決定

胃・十二指腸・大腸においてエンドサイトスコープを用いた内視鏡検査を行った。

胃：正常の内視鏡像が炎症の程度により多彩であり、粘液によって染色が不十分となり細胞レベルの評価は困難であった。

十二指腸：絨毛構造を構成する細胞レベルまで観察可能であったが、腸管 GVHD に特徴的となる陰窩形状を反映する所見は観察困難であった。

大腸：陰窩の形状や数の視認が良好であった。また、他の臓器と比較して正常像がほぼ同一の内視鏡画像であったことから異常所見が指摘しやすいと考えた。

以上よりエンドサイトスコープを用いた腸管 GVHD の検討は大腸の陰窩に注目した検討を行うこととした。

3-1. 腸管 GVHD における大腸粘膜の組織学的検討

全体で対象は 140 例であったが、そのうち 31 例は検討に用いる生検標本の切片が粘膜面に対して垂直に作成されており除外としたため、合計 109 例に対して検討を行った。腸管 GVHD として加療を受けた症例(GVHD 群)が 63 例、腸管 GVHD の診断に至らなかった症例(非 GVHD 群)が 25 例、造血幹細胞移植前のスクリーニング症例(対照群)が 21 例であった。

GVHD 群において他の群と比較して有意に陰窩数は少なかった(図 15)。

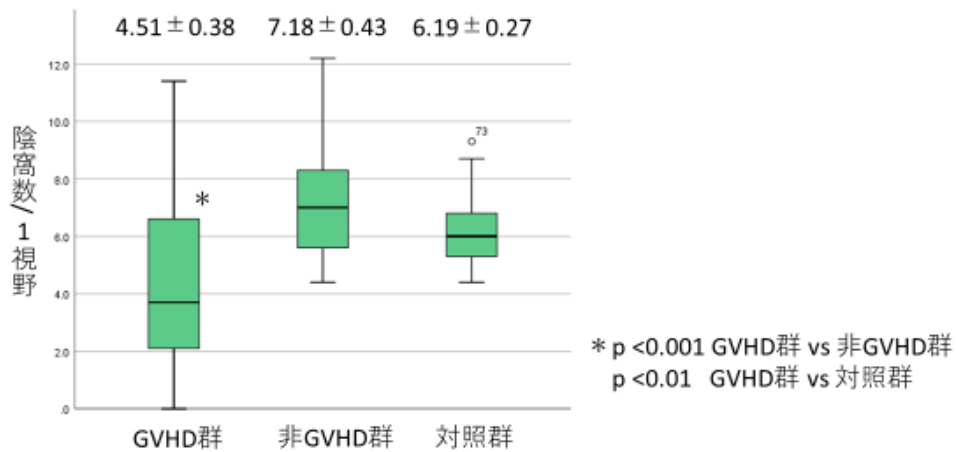


図 15. 各群における陰窩数 (/1 視野)

GVHD 群において他群と比較して有意な陰窩数の減少を認めた。

また、陰窩数は組織学的重症度および臨床的重症度と負の相関を示していた (図 16)。

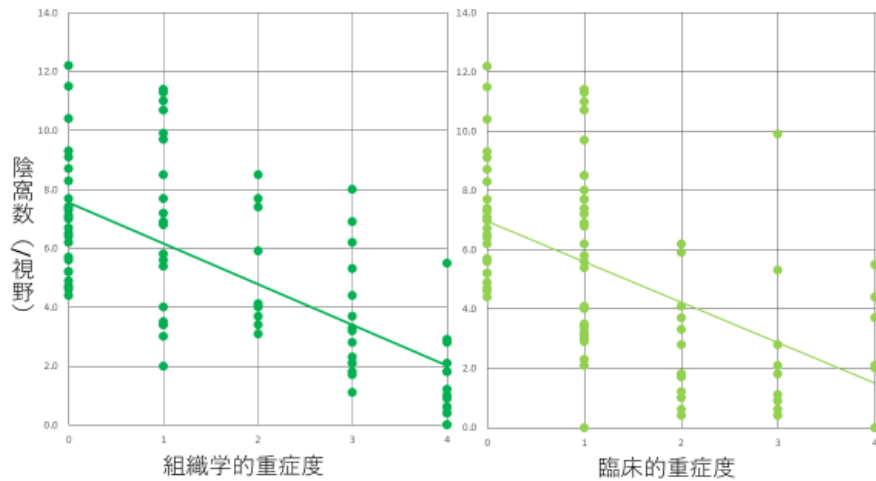


図 16. 陰窩数と GVHD の腸管 GVHD 重症度の相関関係

左：組織学的重症度と陰窩数の関係 ($\rho = 0.675, p < 0.001$)

右：臨床的重症度と陰窩数の関係 ($\rho = 0.580, p < 0.001$)

以上のことから大腸粘膜における陰窩数の減少は腸管 GVHD の組織学的および臨床的重症度を反映していることが再確認できた。これにより ECS で陰窩の観察は腸管 GVHD の診断能向上につながると考え検討 3-2 を行った。

3-2. 腸管 GVHD における ECS

合計 82 症例の ECS 画像を用いて検討を行った。腸管 GVHD と診断され加療を受けた症例が 17 例 (GVHD 群)、腸管 GVHD と診断されなかった症例が 7 例 (非 GVHD 群)、造血幹細胞移植前のスクリーニングを行った症例が 58 例 (対照群) であった。

<ECS スコアの評価>

まずは陰窩の形状 (ECS-F) についての評価を行った。GVHD 群においてスコア高値の症例の割合が高かった ($p < 0.001$, 表 14)。

表 14. ECS スコア (形状)

	GVHD 群	非 GVHD 群	対照群	合計
0	0	1	52	53
1	0	4	6	10
2	12	2	0	14
3	5	0	0	5
合計	17	7	58	82

次に、陰窩と陰窩の間の間質の面積 (ECS-S) について評価を行った。GVHD 群において他群と比較してスコア高値例の割合が高かった ($p < 0.001$, 表 15)。

表 15. ECS スコア (間質の面積)

	GVHD 群	非 GVHD 群	対照群	合計
0	1	4	49	54
1	5	3	9	17
2	11	0	0	11
合計	17	7	58	82

次に、血管の透見性 (ECS-V) についての評価を行った。GVHD 群において血管透見性が多く認められた ($p < 0.05$, 表 16)。

表 16. ECS スコア（血管透見性）

	GVHD 群	非 GVHD 群	対照群	合計
0	8	5	48	61
1	9	2	10	21
合計	17	7	58	82

最後に 3 項目の合計スコアを算出した。有意差を持って GVHD 群においてスコアが高値であることがわかった（図 17）。

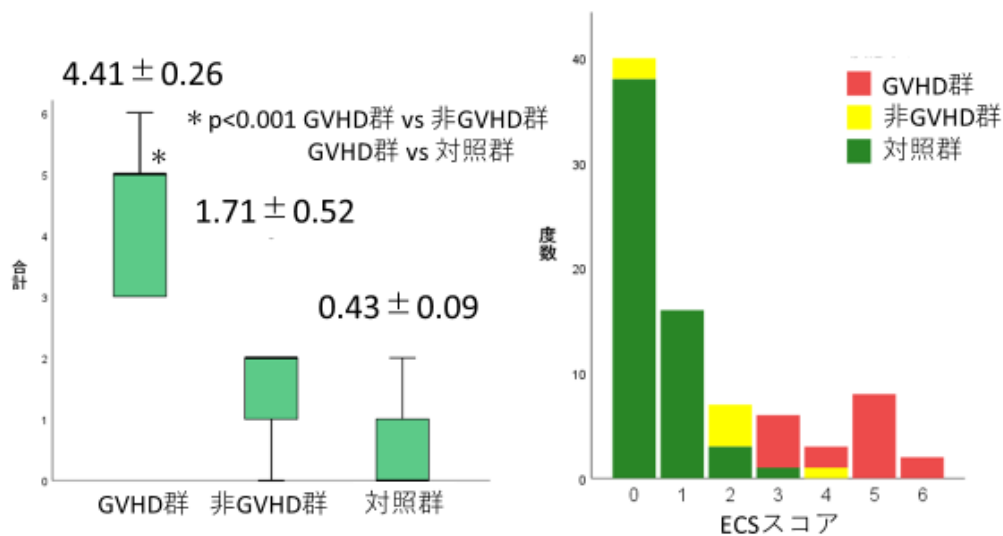


図 17. ECS スコア（合計）

左：各群における平均値の比較
 右：スコアのヒストグラム

<ECS スコアと腸管 GVHD の重症度>

造血幹細胞移植後に内視鏡を施行した 24 例について、重症度と ECS スコアの相関について検討を行った。

ECS スコアと腸管 GVHD の臨床的重症度は強い相関を認めた（図 18）。

GVHD 重症度	n	ECSスコア (合計)
0	7	1.67 ± 0.62
1	6	3.83 ± 0.40
2	6	4.17 ± 0.40
3	1	5.00
4	4	5.50 ± 0.29

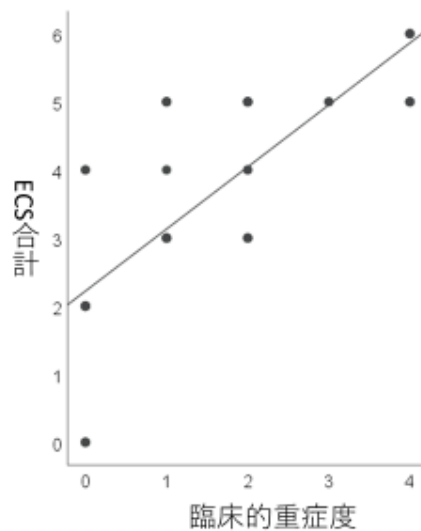


図 18. ECS スコア（合計）と臨床的重症度の相関関係

左：重症度別 ECS スコア

右：分布図（Spearman の相関係数 $\rho = 0.812$ 、 $p < 0.001$ ）

また、ECS スコアと腸管 GVHD の組織学的重症度とも強い相関を認めた（図 19）。

GVHD 重症度	n	ECSスコア (合計)
0	7	1.67 ± 0.62
1	1	3.00
2	5	3.20 ± 0.20
3	7	4.86 ± 0.14
4	4	5.50 ± 0.29

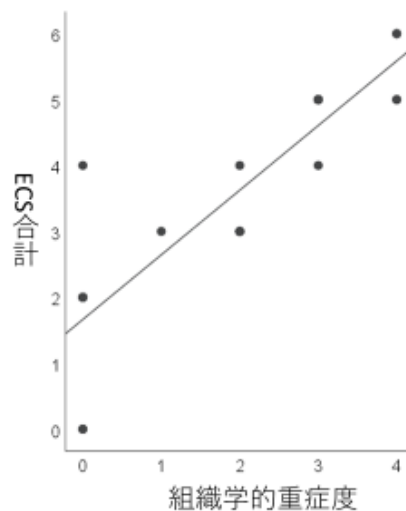


図 19. ECS スコア（合計）と組織学的重症度の相関関係

左：重症度別 ECS スコア

右：分布図（Spearman の相関係数 $\rho = 0.913$ 、 $p < 0.001$ ）

ECS スコアのそれぞれの項目と重症度の相関は陰窩の形状については $\rho = 0.745$ 、陰窩の間質面積については $\rho = 0.773$ と強い相関関係を認めた。血管視認性については $\rho = 0.183$ と相関は認められなかった。

<ECS スコアによる腸管 GVHD の診断精度>

この ECS スコアを用いた腸管 GVHD 診断の精度を評価するために、GVHD 群および非 GVHD 群の ECS スコアを用いて ROC 曲線を作成し、Youden Index を算出したところ、最も高値であったのは ECS スコア 3 点であった。腸管 GVHD の診断に用いる ECS スコアのカットオフ値を 3 とした場合の正診率は 95.8%、感度 100%、特異度 85.7%であった(表 17)。

表 17. ECS スコアによる腸管 GVHD の診断精度 (カットオフ値 3 点)

	割合 (%)	95%信頼区間
正診率	95.8	81.1-95.8
感度	100	89.6-100
特異度	85.7	60.5-85.7
陽性的中率	94.4	84.6-94.4
陰性的中率	100	70.5-100

考察

検討 3-1 において腸管 GVHD 症例の大腸粘膜では陰窩数が減少することが確認できた。既報においても陰窩数が減少することは報告されていたが (Melson J, et al. Am J Hematol, 2007)、本検討でも同様の結果が得られた。また、重症の腸管 GVHD では陰窩の破壊が進行し陰窩数が減少することもすでに報告されており、本検討でもそれを支持する結果であったと考える。

腸管 GVHD における生体内細胞観察としての ECS の有用性について検討を行った (検討 3-2)。3 項目からなるスコアを用い、カットオフ値を 3 と設定した場合の正診率は 95.8%と極めて良好なものであった。また、感度・特異度ともに良好な成績であり、通常内視鏡観察や NBI-ME による小腸絨毛の萎縮診断と比較して優れた腸管 GVHD の内視鏡診断方法であると考え。共焦点内視鏡による細胞観察成績では 感度 87%、特異度 71%、PPV 77%、NPV 83%(Bojarski C, et al. Endoscopy, 2009) であり、本検討結果の方が診断

能は良好であった。

超拡大内視鏡を用いた腸管 GVHD の診断の利点としては以下の 2 点が挙げられる。第一に内視鏡検査中の即時診断が可能となり、より早期の治療介入が可能となること、第二に血小板数の低下や出血傾向を認める症例において生検を回避できることである。

しかしながら、本検討は後ろ向きの検討であり、症例数が少なく、GVHD 重症度別にばらつきがあることなどは limitation となるため、現在前向き観察研究を実施中である。

小括

腸管 GVHD ではその重症度に相関して大腸の陰窩数が減少することがわかった。超拡大内視鏡検査を用いたスコアリング (ECS スコア) を行った場合、腸管 GVHD 症例では有意にスコアが高値を示した。また、ECS スコアのカットオフ値を 3 とした場合には高い診断精度が示された。

総括と結論

本研究において腸管 GVHD について以下の知見が得られた。

- ・通常内視鏡観察による内視鏡所見は発赤・浮腫などの頻度が比較的高い一方で感度は極めて低かった。また、内視鏡上明らかな異常が指摘できない症例も認めた。(検討 1-1)

- ・大腸では CMV 腸炎を合併した場合には回盲部の病変や潰瘍性病変が特徴的な所見であった。(検討 1-2)

- ・小腸絨毛の萎縮を高い頻度で認めた。しかし、腸管 GVHD 発症のない症例においても約半数では絨毛萎縮を認めており、特異度が高くないことが問題であった。(検討 2-1)

- ・画像強調拡大観察を行うことで絨毛の萎縮診断は可能であった。診断の客観性については十二指腸よりも回腸末端の方が優れていた。(検討 2-2)

- ・大腸粘膜においては陰窩の減少が認められた。(検討 3-1)

- ・超拡大内視鏡 (ECS) を用いた大腸粘膜 (特に陰窩) の観察およびスコアリングは腸管 GVHD 診断において高い診断精度を示した。(検討 3-2)

以上の結果から、腸管 GVHD の診断過程におけるそれぞれの内視鏡検査の役割を以下に示す (図 20)。従来の通常観察では潰瘍性病変の有無および回盲弁上の病変の有無の確認を行うことで CMV 腸炎合併の可能性を考慮できることや NBI 拡大観察による絨毛萎縮の有無を評価することは補助的診断として有用であることが示唆されたが、いずれも有用性は限定的であった。

本検討から、最も腸管 GVHD の内視鏡診断の精度向上へとつながる内視鏡手法は、ECS を用いた細胞観察とスコアリングを行うことであると結論付けた。ECS を用いた内視鏡検査では、病理診断のための生検検体の採取を必要とせず、生体内での光学的生検による即時診断が可能である。このため、腸管 GVHD の早期診断、早期治療介入に寄与し得る。現在 ECS の腸管 GVHD 即時診断能を検証すべく前向き試験を進行中である。

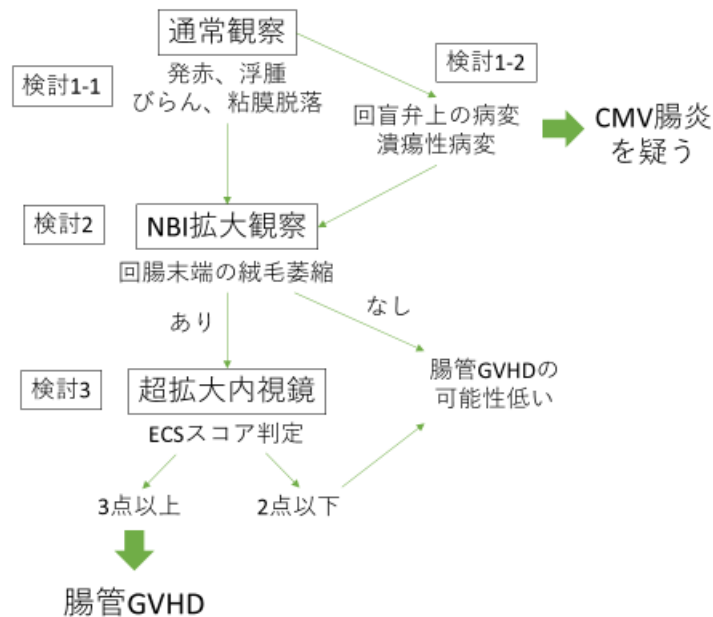


図 20. 腸管 GVHD の内視鏡診断におけるフローチャート（下部消化管）
 通常観察において発赤や浮腫、びらん、粘膜脱落の有無や回盲弁上の病変や潰瘍性病変の有無を確認する。NBI 拡大観察で回腸末端の絨毛萎縮の有無を確認し、GVHD が疑わしい場合には超拡大内視鏡を用いた ECS スコア判定を行う。

将来の展望としては、AI による腸管 GVHD の超拡大内視鏡診断への発展も期待したい。最近、潰瘍性大腸炎に関するエンドサイトスコープを用いた内視鏡検査と人工知能を組み合わせる研究結果が報告され、良好な成績が示された (Maeda Y, et al. Gastrointest Endosc, 2018)。腸管 GVHD についても重症度別の多くの細胞診断画像を AI に学習させることで、より客観的な GVHD の生体内即時診断が可能になるのではないかと考える。これにより腸管 GVHD の早期診断および治療介入へつながり造血幹細胞移植の成績がますます向上することを期待できる。

腸管 GVHD における内視鏡像の特徴及び診断能の向上につながる検査方法の模索を行った。通常観察および画像強調拡大観察の腸管 GVHD 診断に対する有用性は限定的であった。一方、超拡大内視鏡 (ECS) を用いた内視鏡検査は、腸管 GVHD 診断の診断精度の高い検査となる可能性が示唆された。加えて、超拡大内視鏡は生検を必要とせず生体内即時診断が可能である利点を有し、早期治療介入を可能にする。今後、超拡大内視鏡を腸管 GVHD の内視鏡診断に適用することは、GVHD の予後改善に貢献し得る。

謝辞

本稿を遂行するにあたり、本研究の機会を与えて下さるとともに、終始御指導・御鞭撻を賜りました北海道大学院医学研究科内科学講座消化器内科分野 坂本直哉教授に深く感謝申し上げます。

研究する機会を与えていただいたこと、また研究方法の具体的な指導から論文作成まで、すべての面において懇切丁寧に御指導・御支援を賜りました、北海道大学病院消化器内科 小野尚子講師に心より感謝申し上げます。

また、本研究を支えて下さった消化器内科学分野の皆様に感謝申し上げます。

さらに、本検討の実施に関連して検討内容に関する助言やご協力をいただいた北海道大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野 豊嶋崇徳教授を始めとした諸先生方に深謝いたします。

腸管 GVHD における病理学的観点からのご指導をいただきました北海道大学病院病理診断科 松野吉宏教授に深謝申し上げます。

2019年3月
松田 可奈

利益相反

開示すべき利益相反状態はない

引用文献

Abraham J, Janin A, Gornet JM, Peffault de Latour R, Robin M, Xhaard A, de Fontebrune FS, Mary JY, Allez M, Porcher R, et al. (2014). Clinical severity scores in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Transplantation*. 97, 965-971.

Altun R, Gokmen A, Tek I, Soydan E, Kurt Yuksel M. (2016). Endoscopic evaluation of acute intestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Turk. J. Gastroenterol.* 27, 312-316.

Bessho R, Kanai T, Hosoe N, Kobayashi T, Takayama T, Inoue N, Mukai M, Ogata H, Hibi T. (2011). Correlation between endocytoscopy and conventional histopathology in microstructural features of ulcerative colitis. *J. Gastroenterol.* 46, 1197-1202.

Bojarski C, Gunther U, Rieger K, Heller F, Loddenkemper C, Grunbaum M, Uharek L, Zeitz M, Hoffmann JC. (2009). In vivo diagnosis of acute intestinal graft-versus-host disease by confocal endomicroscopy. *Endoscopy*. 41, 433-438.

Cruz-Correa M, Poonawala A, Abraham SC, Wu TT, Zahurak M, Vogelsang G, Kalloo AN, Lee LA. (2002). Endoscopic findings predict the histologic diagnosis in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Endoscopy*. 34, 808-813.

Drew WL. (1988). Cytomegalovirus infection in patients with AIDS. *J. Infect. Dis.* 152, 449-456.

Ferrara JL, Deeg HJ. (1991). Graft-versus-host disease. *N. Engl. J. Med.* 324, 667-674.

Hiejima E, Nakase H, Matsuura M, Honzawa Y, Higuchi H, Saida S,

Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Izawa K, et al. (2016). Diagnostic accuracy of endoscopic features of pediatric acute gastrointestinal graft-versus-host disease. *Dig. Endosc.* 28, 548-555.

Kaise M. (2015). Advanced endoscopic imaging for early gastric cancer. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 29, 575-587.

Kawasaki S, Osawa S, Sugimoto K, Uotani T, Nishino M, Yamada T, Sugimoto M, Furuta T, Ikuma M. (2010). Cecal vanishing tumor associated with cytomegalovirus infection in an immunocompetent elderly adult. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2, 417-420.

Kumagai Y, Kawada K, Yamazaki S, Iida M, Odajima H, Ochiai T, Kawano T, Takubo K. (2012). Current status and limitations of the newly developed endocytoscope GIF-Y002 with reference to its diagnostic performance for common esophageal lesions. *J. Dig. Dis.* 13, 393-400.

Kudo T, Kudo SE, Mori Y, Wakamura K, Misawa M, Hayashi T, Miyachi H, Katagiri A, Ishida F, Inoue H. (2017). Classification of nuclear morphology in endocytoscopy of colorectal neoplasms. *Gastrointest. Endosc.* 85, 628-638.

Komeda Y, Kashida H, Sakurai T, Asakuma Y, Tribonias G, Nagai T, Kono M, Minaga K, Takenaka M, Arizumi T, et al. (2017). Magnifying Narrow Band Imaging (NBI) for the Diagnosis of Localized Colorectal Lesions Using the Japan NBI Expert Team (JNET) Classification. *Oncology.* 93 Suppl. 1, 49-54.

Kreisel W, Dahlberg M, Bertz H, Harder J, Potthoff K, Deibert P, Schmitt-Graeff A, Finke J. (2012). Endoscopy diagnosis of acute intestinal GVHD following allogeneic hematopoietic SCT: a retrospective analysis in 175 patients. *Bone Marrow Transplant.* 47, 430-438.

Liu A, Neyer E, Johnston L, Brown J, Gerson LB. (2013). Prevalence of graft versus host disease and cytomegalovirus infection in patients post-haematopoietic cell transplantation presenting with gastrointestinal symptoms. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 38, 955-966.

MacMillan ML, Robin M, Harris AC, DeFor TE, Martin PJ, Alousi A, Ho VT, Bolanos-Meade J, Ferrara JL, Jones R, et al. (2015). A refined risk score for acute graft-versus-host disease that predicts response to initial therapy, survival, and transplant-related mortality. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 21, 761-767.

Maeda Y, Kudo SE, Mori Y, Misawa M, Ogata N, Sasanuma S, Wakamura K, Oda M, Mori K, Ohtsuka K. (2018). Fully automated diagnostic system with artificial intelligence using endocytoscopy to identify the presence of histologic inflammation associated with ulcerative colitis. *Gastrointest. Endosc.* Pii: S0016-5107 (18)33078-5.

Marques O Jr, Averbach M, Zanoni EC, Correa PA, Paccos JL, Cutait R. (2007). Cytomegaloviral colitis in HIV positive patients: endoscopic findings. *Arq. Gastroenterol.* 44, 315-319.

Melson J, Jakate S, Fung H, Arai S, Keshavarzian A. (2007). Crypt loss in a marker of clinical severity of acute gastrointestinal graft-versus-host disease. *Am. J. Hematol.* 82, 881-886.

Nishiyama S, Oka S, Tanaka S, Sagimi S, Nagai K, Ueno Y, Arihiro K, Chayama K. (2015). Clinical usefulness of endocytoscopy in the remission stage of ulcerative colitis: pilot study. *J. Gastroenterol.* 50, 1087-1093.

Nomura K, Iizuka T, Kaji D, Yamamoto H, Kuribayashi Y, Kimura R, Yamada A, Furuhata T, Yamashita S, Kikuchi D, et al. (2014). Clinicopathological features of patients with acute graft-versus-host disease of the upper digestive tract. *J. Gastroenterol.*

Hepatol. 29, 1867–1872.

Ohwada S, Iida T, Hirayama D, Sudo G, Kubo T, Nojima M, Yamashita K, Yamano H, Nakase H. (2018). Clinicopathological comparison between acute gastrointestinal-graft-versus-host disease and infectious colitis in patients after hematopoietic stem cell transplantation. *PLoS. One.* 13, e0200627.

Peled JU, Hanash AM, Jenq RR. (2016). Role of the intestinal mucosa in acute gastrointestinal GVHD. *Blood.* 128, 2395–2402.

Przepiorka D, Wisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, Thomas ED. (1995). 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* 15, 825–828.

Roy J, Snover D, Weisdorf S, Mulvahill A, Filipovich A, Weisdorf D. (1991). Simultaneous upper and lower endoscopic biopsy in the diagnosis of intestinal graft-versus-host disease. *Transplantation.* 51, 642–646.

Serra S, Jani PA. (2006). An approach to duodenal biopsies. *J. Clin. Pathol.* 59, 1133–1150.

Shimizu Y, Takahashi M, Yoshida T, Ono S, Mabe M, Asaka M, Hatanaka K, Sakamoto N. (2013). Endoscopic in vivo cellular imaging of superficial squamous cell carcinoma of the head and neck by using an integrated endocytoscopy system. *Gastrointest. Endosc.* 78, 351–358.

Singh R, Nind G, Tucker G, Nguyen N, Holloway R, Bate J, Shetti M, George B, Tam W. (2010). Narrow-band imaging in the evaluation of villous morphology: a feasibility study assessing a simplified classification and observer agreement. *Endoscopy.* 42, 889–894.

Sugihara Y, Hiraoka S, Fujii N, Takashima S, Yamasaki Y, Inokuchi

T, Takahara M, Kuwaki K, Harada K, Tanaa T, et al. (2018). BMC gastroenterol. 18, 111.

Teshima T, Reddy P, Zeiser R. (2016). Acute Graft-versus Host Disease: Novel Biological Insights. Biol. Blood Marrow Transplant. 22, 11-16.

Washington K, Jagasia M. (2009). Pathology of graft-versus-host disease in the gastrointestinal tract. Hum. Pathol. 40, 909-917.

Xu CF, Zhu LX, Xu XM, Chen WC, Wu DP. (2008). Endoscopic diagnosis of gastrointestinal graft-versus-host disease. World J. Gastroenterol. 14, 2262-2267.

青柳邦彦, 富岡禎隆. (2012). サイトメガロウイルス感染性腸炎 (cytomegalovirus enterocolitis) . 胃と腸 47, 798.

田中三千雄, 藤本誠, 小尾龍右, 藤浪斗. (2007)消化管の拡大内視鏡観察 総論 3. 拡大観察と組織構築の関連 3)十二指腸・小腸. 胃と腸 42, 557-562.

松田可奈, 小野尚子, 石川麻倫, 宮本秀一, 安孫子怜史, 津田桃子, 山本桂子, 工藤俊彦, 清水勇一, 松野吉宏, 坂本直哉. (2018). 腸管感染症-最新の話を含めて-最近注目される腸管感染症-サイトメガロウイルス腸炎. 胃と腸 53, 446-450.