HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膵腫瘤性病変に対する 25 G 穿刺針を用いたEUS - FNA における通常圧吸引法と高陰圧吸引法の組織採取に関する多施設共同前向き無作為化研究
Author(s)	工藤, 大樹
Description	配架番号：2083
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11211号
Issue Date	2014-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11211
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57021
Type	doctoral thesis
File Information	Taiki_kudo.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文

膵腫瘤性病変に対する 25 G 穿刺針を用いた
EUS - FNA における通常圧吸引法と
高陰圧吸引法の組織採取に関する
多施設共同前向き無作為化研究
(High and low negative pressure suction techniques in endoscopic ultrasound-guided fine needle tissue acquisition using 25-gauge needles: A multicenter prospective randomized controlled trial)

2014 年 3 月

北海道大学

工藤　大樹

目　　次

発表論文目録および学会発表目録・・・・・・・・・・・・・・・　1頁

緒言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　2頁

略語表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　5頁

研究方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　6頁

研究結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　16頁

考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　23頁

総括および結論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　25頁

謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　26頁

引用文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　27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投稿予定である。

1. Taiki Kudo, Hiroshi Kawakami, Tsuyoshi Hayashi, Ichiro Yasuda, Tsuyoshi Mukai, Hiroyuki Inoue, Akio Katanuma, Kazumichi Kawakubo, Hirotoshi Ishiwatari, Shinpei Doi, Reiko Yamada, Hiroyuki Maguchi, Hiroyuki Isayama, Tomoko Mitsuhashi, Naoya Sakamoto, for the Japan EUS-FNA Study Group
High and low negative pressure suction techniques in endoscopic ultrasound-guided fine needle tissue acquisition using 25-gauge needles: A multicenter prospective randomized controlled trial
Gastrointestinal Endoscopy (投稿中)

本研究の一部は以下の学会に発表予定である。

1. 工藤大樹、河上　洋、林　毅、伊佐山浩通、安田一朗、潟沼朗生、向井　強、井上宏之
膵充実性腫瘍に対する高陰圧を用いた 25G 穿刺針による EUS-FNA は組織採取に有用なのか？
第 100 回日本消化器病学会総会、 2014 年 4 月 23 日～26 日、東京 (予定)

緒　　言

日常診療で遭遇する膵充実性腫瘤性病変は、炎症性、腫瘍含めて非常に多彩であり、その鑑別診断や治療計画の立案に悩むことは珍しくない。これらの病変の発見契機は、腹部超音波検査（Ultrasonography; US)、Computed tomography (CT) 検査、Magnetic resonance imaging (MRI) 検査などで膵に腫瘤性病変を指摘することである。

膵腫瘤性病変の中で最も多いものは膵癌である。膵癌はきわめて予後の悪い悪性新生物であり、そのほとんどが進行癌として発見される。アメリカ合衆国においては癌死の第 4 位が膵癌[1]であり、本邦においても、平成 21 年度人口動態統計年報（厚生労働省発表）によると、癌死の第 5 位に位置している。膵癌による死亡患者数は増加傾向にあり、可能な限り早期発見と治療が要求される。また、膵に発生する腫瘍の中には、腺癌だけではなく、神経内分泌腫瘍(Neuroendocrine neoplasm ; NET)、Solid pseudopapillary neoplasm (SPN) 、悪性リンパ腫、腺扁平上皮癌、腺房細胞癌、退形成膵癌などといった稀な腫瘍も含まれており、腺癌との鑑別診断は時に困難である。

その他、膵充実性腫瘤性病変として認識される疾患のなかには良・悪性新生物の他に、慢性膵炎や自己免疫性膵炎（Autoimmune pancreatitis; AIP）などの良性疾患が存在することが知られている。これらは、その病理組織学的変化（炎症性変化・線維化など）が膵の一部分に限局性に生じることがあり、膵癌との鑑別診断が時に困難である。画像診断のみで術前に膵悪性新生物と診断した中には少なくとも 5% 程度の良性疾患が含まれているとの報告がある[2]。

膵切除については、施設間で差があるものの、手術関連死亡率は 0-10%[3] と言われている。専門施設においても、膵頭十二指腸切除を行った場合、手術関連死亡率は 0-5% あるという報告[4]もあり、慢性膵炎や AIP を悪性腫瘍と誤診し、膵切除を行うことは避けなければならない。

このように、膵充実性腫瘤性病変は、良・悪性、腫瘍・非腫瘍の鑑別が非常に重要である。そこで、画像診断に加えて実臨床では超音波内視鏡（Endoscopic ultrasonography、 EUS）を用いた病理学的診断を行っている。

EUS は先端に超音波プローブを搭載した内視鏡であり、消化管内より消化管粘膜下病変や膵臓をはじめとする周囲臓器・血管・リンパ節などの観察が可能である。EUS を用いることにより、胃あるいは十二指腸から膵全体を高い分解能で観察することが可能であり、膵充実性病変の存在診断能は US、CT と比較して EUS が最も優れていることが知られている[5,6]。超音波内視鏡下穿刺吸引法(Endoscopic ultrasography-guided fine needle aspiration; EUS-FNA) は、EUS 観察下に膵病変に対して専用の針で穿刺し、吸引を加えることによって細

胞・組織を採取する方法で、1992 年に Vilmann ら [7] によって報告された。EUS-FNA により、これまで質的診断が困難であった膵病変に対して EUS の特徴である高い局所分解能を利用して詳細に観察しながら細胞・組織を採取することが可能となった。

EUS-FNA の正診率は 65-96%[8]、偶発症は 1% 程度と報告されており [9]、US あるいは CT ガイド下穿刺生検や、endoscopic retrograde cholangiopancreatography（ERCP）下の細胞診や生検と比較しても高い正診率と低い偶発症発生率であることが知られている。本邦でも 2010 年に保険収載され、専門施設を中心に普及しつつある。

EUS-FNA は患者に EUS スコープを挿入し、対象病変を描出した後、専用の針を挿入し、対象病変を穿刺する。この専用針は内筒（スタイレット）と外筒からなり、対象病変を穿刺後、内筒を抜去し、外筒の端にシリンジを装着させ、吸引圧を加える。吸引圧を加えた状態で、針を前後にストロークさせ、ある程度のストロークを終了後、吸引圧を解除し、針を抜去する。外筒内に吸引された検体をスタイレットもしくは生理食塩水、空気で押し出し、細胞診・組織診として提出するものである。

今までに EUS-FNA の検査成績を向上させるために様々な比較試験が行われ、報告されてきた。

これまでの試験は、針の太さ（市販化されている針には 19G、22G、25G がある）、吸引圧の程度（装着するシリンジの大きさ）、ストロークの回数、迅速細胞診（検査中に得られた検体の一部を染色し、目的組織が得られているか否かを判定すること）の有無を比較したものなどが存在する。これらの報告によって、針は太ければ太いほど、多くの検体を採取することが可能であるが、病変への穿刺自体が困難であることと、迅速細胞診を施行した方が正診率が向上するという事実はコンセンサスが得られている [10,11]。

過去に報告された論文の多くは、EUS-FNA の診断能を論じるときに細胞診の成績を述べてきた。これは、対象とする膵腫瘍は腺癌が頻度的に多く、核の異型の程度や核間距離、クロマチン濃染などで診断が可能だからである。しかしながら、背景に慢性膵炎を有した症例などでは、核異型が腫瘍性変化なのか、炎症性変化なのか診断に迷うことがある。また、異型度の弱い癌の診断は数個の細胞異型だけでは証明できない。悪性リンパ腫や NET などは、組織構造の評価や、免疫染色の追加をしなければ確定診断できない。従って、腺癌以外の症例においては組織学的診断アプローチ（構造異型の有無や間質への腫瘍浸潤所見、免疫染色の評価など）が要求され、多くの検体を採取することが求められる。ただし、上述したように、太い針を用いた EUS-FNA は穿刺成功率が低いため、今後さらに EUS-FNA の成績を向上させ、広く普及させるためには、「穿刺

が容易な細い針（25G）で、多くの検体が採取できる」ことが重要である。

EUS-FNA を扱った過去の報告には、吸引圧の差異で正診率が向上するか否かを検討した論文が存在する[12]。通常の EUS-FNA では 10 mL のシリンジを用いるが、この論文では 60 mL のシリンジを用いて 22G の針で病変を穿刺し、検体採取率と正診率を検討している。検体採取率は 27 病変中 26 病変と非常に高い採取率であり、高い吸引圧（高陰圧）を加える有用性を示唆するものであった。

本研究で申請者は、穿刺成功率が最も高い 25G の穿刺針と高陰圧の併用が、従来の吸引圧（通常陰圧）を用いた EUS-FNA に比べて組織検体採取率が向上するか否かを明らかにする目的で、多施設共同・前向き無作為比較試験研究を行い検討した。その結果、高陰圧併用下で EUS-FNA を行うと、25G 穿刺針を用いても有意に高い組織検体が採取可能であることが明らかとなり、高陰圧条件による穿刺が膵病変の FNA 診断に重要であることを示したので報告する。

略　　語　　集

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

AIP	Autoimmune pancreatitis
ASA	American Society of Anesthesiologists class
ASGE	American Society for Gastrointestinal Endoscopy
CT	Computed tomography
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
ERCP	Endoscopic retrograde cholangiopancreatography
EUS	Endoscopic ultrasonography
EUS-FNA	Endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration
HE	Hematoxylin and eosin staining
HNP	High negative pressure
MRI	Magnetic resonance imaging
NET	Neuroendocrine neoplasm
NNP	Normal negative pressure
PS	Performance status
SPN	Solid pseudopapillary neoplasm
UMIN	University Hospital Medical Information Network
US	Ultrasonography

研　究　方　法

試験デザイン

多施設共同前向き無作為化交差対照試験

対象患者

2011 年 7 月から 2012 年 4 月の期間において、膵充実性腫瘍を US、CT、MRI いずれかで指摘された連続 90 症例を対象とした。試験参加施設は 7 施設であり、参加条件としては、年間 100 例以上 EUS 関連検査・処置を行っており、当試験参加に同意された施設とした。登録症例の除外基準は、performance status (PS) 4、重篤な合併症を有する症例 (American Society of Anesthesiologists class (ASA 分類) Ⅲもしくは Ⅳ)、抗血栓療法を施行している症例、血小板数が 5 万/mm^2未満の症例、妊婦、消化管狭窄によりスコープの挿入が困難な症例、事前の試験参加の説明に同意を得られなかった症例とした。

0	まったく問題なく活動できる。発症前と同じ日常生活が制限なく行える。
1	肉体的に激しい活動は制限されるが、歩行可能で、軽作業や座っての作業は行うことができる。例：軽い家事、事務作業。
2	歩行可能で、自分の身のまわりのことはすべて可能だが、作業はできない。日中の 50% 以上はベッド外で過ごす。
3	限られた自分の身のまわりのことしかできない。日中の 50%以上をベッドか椅子で過ごす。
4	まったく動けない。自分の身のまわりのことはまったくできない。完全にベッドか椅子で過ごす。

表 1　Performance status
Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) より

１度	手術対象となる疾患以外に、全身的に疾患がない。手術対象の疾患は局所的で、全身障害を起こさない。
２度	軽度ないし中等度の全身疾患を有する。
３度	重篤の全身疾患を有する。
４度	重篤な全身疾患を有して、生命の危険な状態。
５度	瀕死の状況であり、手術しても助かる可能性は少ない。

表２　American Society of Anesthesiologists class
アメリカ麻酔学会 American Society of Anesthesiologists class より

EUS-FNA

患者は左側臥位とし、鎮静剤を投与する。鎮静剤の内容は各施設毎に通常用いている薬剤を使用した。当科の場合は、末梢静脈を確保し、フェンタニルクエン酸塩（第一三共製薬、東京）50-100 μg、およびミダゾラム（アステラス製薬、東京）5-10 mg を静注することにより、鎮静下に EUS-FNA を行った。検査前および検査中に患者が覚醒した場合や体動が見られた場合には適宜、フェンタニルクエン酸塩およびミダゾラムを追加静注し、鎮静を維持した。

内視鏡は GF-UCT240-AL5（オリンパスメディカルシステムズ株式会社、東京）を用いた。穿刺針は EchoTip Ultra 25G（Cook-Japan、東京）を使用した。

EUS-FNA は以下の通りに施行した。

① EUS 用スコープを経口的に患者の胃内あるいは十二指腸内に挿入し、画像上に対象病変を描出する（図 1)。



図 1：EUS で腫瘤を描出する。

② EUS 画像において超音波プローブを中心として 5 時から 7 時方向に病変を描出する。

③ ドップラーモードで穿刺経路に血管がないことを確認する。

④ スコープの鉗子口より挿入した穿刺針で病変を穿刺する（図 2)。



図 2：穿刺針で腫瘤を穿刺する。

⑤ 穿刺針に付属するスタイレットを一度押し込んでから（検体への消化管粘膜の混入を避けるため）抜去する。

⑥ 穿刺針操作部の先端に吸引用の注射器（10 mL あるいは 60 mL）を接続し、吸引圧を加える。なお、60 mL のシリンジを接続し、高陰圧を加える場合には、シリンジは Alliance II inflation system™（Boston Scientific Japan、東京）に接続した上で使用する（図 3)。50 mL まで陰圧をかける。高陰圧、通常陰圧を用いた EUS-FNA を交互に 2 回ずつ、合計 4 回穿刺は施行する。以下、高陰圧を用いた EUS-FNA 検体グループを HNP（high negative

pressure）群、通常陰圧を用いた EUS-FNA 検体グループを NNP（normal negative pressure）群と呼称する。どちらの陰圧を先に用いるかは、症例を登録した段階で無作為に割り付ける。尚、HNP 群と NNP 群については、それぞれ別の穿刺針にて行う。



図 3：60 mL のシリンジを装着した Alliance II inflation system™

⑦ 穿刺針の先端が病変から外れないように EUS 画像上で観察をしながら、穿刺針の先端を前後に 10 往復程度動かす。
⑧ 注射器による吸引を解除し、スコープから穿刺針を抜く。
⑨ スタイレットを用いて穿刺針の内部に採取された検体をホルマリン瓶に入れ、組織標本として提出する（図 4）。なお、初回と 2 回目の穿刺で得られた検体の一部は迅速細胞診と、細胞診に提出する（図 5）。2 回目の迅速細胞診で検体が採取されていないと判断された場合は、4 回目の穿刺まで細胞診提出と迅速細胞診を行う。

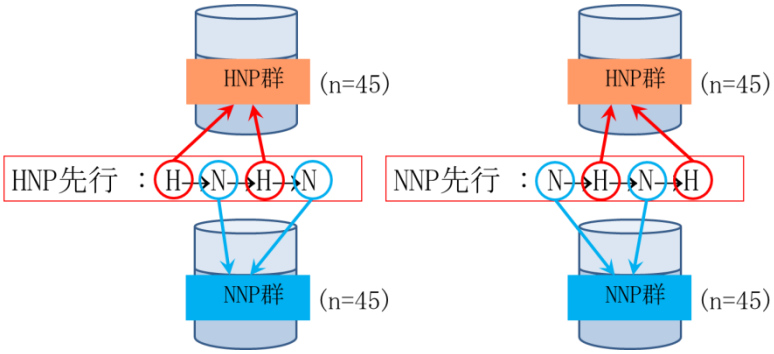


図 4 ： 4 回の穿刺を行い HNP で採取された検体と NNP で採取された検体はそれぞれ別のホルマリン瓶へ入れる。

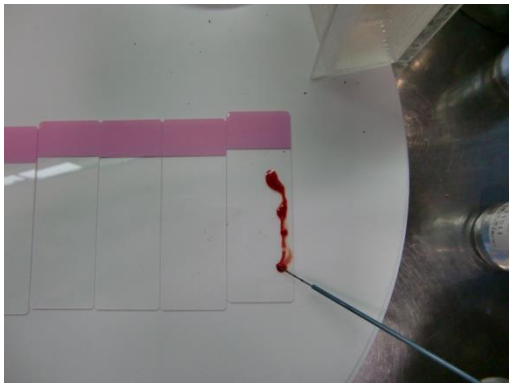


図 5：針の中の検体をスライドグラス上に押し出し、一部を細胞診へ提出。残りはホルマリン瓶へ入れる。

⑩ 4 回の穿刺を施行しても腫瘍の確定診断が得られない場合は、追加で穿刺を行い、病変の確定診断を行う。

評価項目

主要評価項目は適正な組織検体の採取率と正診率とし、副次評価項目は標本の質（検体中の血液量と介在粘膜混入の度合い）および、偶発症の頻度とした。

最終診断

最終診断は、悪性腫瘍、良性疾患に大別した。悪性疾患の中には、癌の他、SPN、悪性リンパ腫、NET を悪性とし、良性疾患は膵炎（アルコール性慢性膵炎や AIP など)、正常膵などとした。

最終診断の定義は i）外科的切除標本、ii）経過観察の画像所見や臨床所見、iii）他部位に転移があれば転移からの生検と膵腫瘍の生検の病理結果が一致、とした。なお、経過観察は少なくとも 6 か月とした。観察期間は、膵悪性疾患の多くは腺癌であり、非切除の場合の一次化学療法の無増悪生存期間が 4-6 ヵ月[13]と報告されていることに基づいて設定した。

病理学的分析

細胞診および組織診は別に行った。細胞診標本の診断能の検討には、迅速細胞診を含めて登録された各施設の診断結果を用いた。組織標本の適正度、質の評価、病理診断については、標本を北海道大学病院　病理部に集め、臨床情報、細胞診の結果、検体の割り付けられた群を盲検化した状態で、病理専門医の 1 名が診断した。診断に際しては、ヘマトキシリン・エオジン染色（HE 染色）のみとした。免疫染色や特殊染色は評価対象としなかった。そのため、診断は悪性疾患、悪性疾患の疑い、異型細胞、悪性所見なし（良性）の 4 項目とした。

悪性疾患の範疇については上述した通りである。なお、当院以外の施設のプレパラートは事前に各施設で病理診断を施行し、各施設臨床医が手術、薬物療法など患者に適切な治療を施し、標本の貸し出しが可能と判断した時点で借用した。

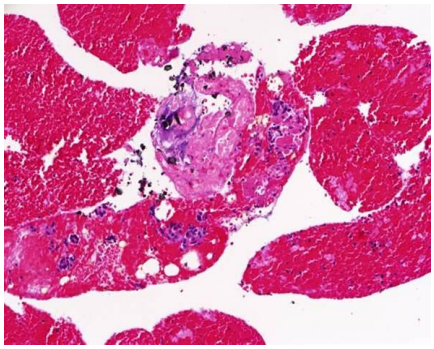
適正な組織検体の定義

組織検体の適正度は Gerke らのスコアシステムを用いた[14]。このスコアリングシステムは以下の通りである（表 3)。

Score	
0	検体なし。
1	細胞異型の評価が一部判読可能。代表的な検体を採取していない。
2	細胞異型の評価は十分可能な検体ではあるが、組織構造などの評価はできない。
3	組織構造の評価が一部可能である。
4	組織構造の評価も十分評価できる検体である。対物 10 倍の視野を越えない。
5	組織構造の評価が十分可能であり、対物 10 倍の視野に検体が収まらない。

表 3 Cellularity score

なお、対物 10 倍の顕微鏡の視野の直径は 2.2 mm であり、Score 5 は少なくとも 2.2 mm 以上の検体を意味する。
図 6 に今回の試験で採取され、実際に評価を行った標本の代表例を提示する。

	Score 1 核を有する細胞が個在性・散在性に認められる。無構造に採取されており、細胞間の関係性や、組織構造の評価はできない。細胞異型の評価も細胞数が少ないため困難である。

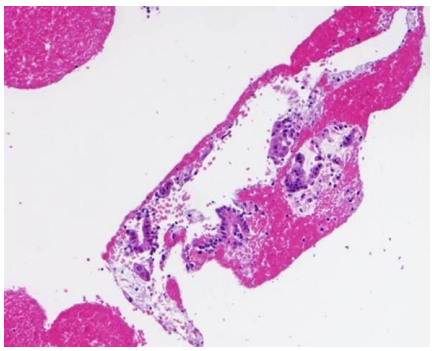
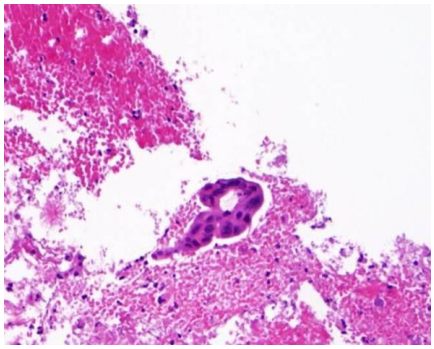
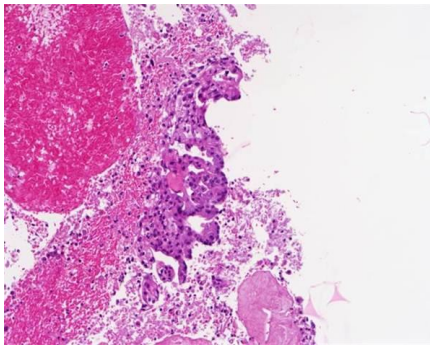
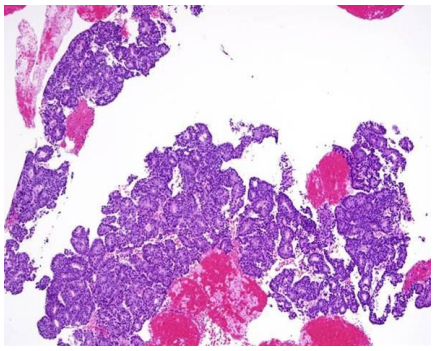
	Score 2 核を有する細胞が一定の集塊状にみられるが、組織構造の評価はできない（中央やや左下の集塊は混入した介在粘膜である）。
	Score 3 採取された細胞が管腔構造を形成しているのがわかる。
	Score 4 採取された細胞が一部管腔を形成しているように見えるが、構造異型も高度であり、腺癌の所見であることがわかる。これに間質が同時に採取され、間質内に異型上皮細胞が浸潤している所見もみられることがある。
	Score 5 対物レンズ 10 倍視野の写真に異型細胞集塊が収まらずに採取されている像である（管状腺癌ではなく、腺房細胞癌であったが、FNA 検体で十分診断できた）。

図 6 本研究で得られた検体の score 別代表例

【組織診断に適正（adequate）な検体の定義】

適正な組織検体採取は、上記 score の 3 以上の検体を「組織学的診断に適正で

ある」と定義した。

検体の質の評価（介在粘膜と赤血球混入の程度）

検体の質に関しては、赤血球混入の程度と介在粘膜混入の程度をスコア別に評価した。

赤血球混入程度は score 0（軽度）～score 2（高度）の 3 段階に、介在粘膜混入の程度は、score 0（介在粘膜の混入なし）、score 1（スライド上の検体の 25% 以下に混入がみられる）、score 2（スライド上の検体の 25-50% に混入がみられる）、score 3（スライド上の検体の 50% 以上に混入がみられる）の 4 段階にスコアを設定した（表 4）。

Score	
赤血球混入の程度	
0	軽度。
1	中等度。
2	高度。
介在粘膜混入の程度	
0	混入なし。
1	スライド上の検体の 25% 以下に混入がみられる。
2	スライド上の検体の 25-50% に混入がみられる。
3	スライド上の検体の 50% 以上に混入がみられる。

表 4 検体質の評価に用いたスコア

病理診断

HE 染色のみでの判定であり、病理診断は「悪性」、「悪性疑い」、「異型細胞」、「悪性所見なし（良性）」の 4 つに分類した。

病理医が「悪性」、「悪性疑い」と診断したもので、最終診断が癌、NET、悪性リンパ腫、SPN であったものを、「真陽性」とし、「異型細胞」もしくは「悪性所見なし」としたものの内で、最終診断が膵炎もしくは正常膵であったものを「真陰性」と定義した。一方、EUS-FNA 診断が「悪性」、「悪性疑い」と診断したもので、最終診断が膵炎もしくは正常膵であったものについては「偽陽性」、EUS-FNA 診断が「異型細胞」もしくは「悪性所見なし」と診断されたもので、最終診断が癌、神経内分泌腫瘍、悪性リンパ腫、SPN であったものについては「偽陰性」と定義した。また、穿刺したが細胞が採取されず、プレパラートの作成自体が不能であったものや、検体を作成したが、上述の組織検体適正度の score が 0 であるものについては「診断不能」と定義した。正診率は「真陽性」

と「真陰性」を合計し全体症例数（90 例）で除したものとした。

有害事象の観察

EUS-FNA 施行後最低48時間以内に起きた偶発症を観察した。偶発症はEUS-FNA施行中もしくは施行後に、内視鏡施行医、回復室もしくは病室で観察している看護師、もしくは患者、転院先の医師などが気づいたすべての症状を記録し、症状が完全に回復するまで経過観察と記録を行った。膵臓に対する EUS-FNA の合併症として最も多いのは膵炎である[9]。そのため、検査前後に血清アミラーゼとリパーゼを測定し、理学所見と合わせて膵炎発症の有無を評価した。全ての偶発症については American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE) workshop に基づき記録した（表 5)[15]。

有害事象の定義

有害事象とは、予定していた手技の障害となるもの、その結果、入院したもの、入院期間が延長したもの、他の手技、投薬が必要になる事象である。

分類		定義
心血管系	血圧低下	収縮期/拡張期血圧　90/50mmHg 未満もしくは 20% 以上の血圧低下
	高血圧	収縮期/拡張期血圧　190/130mmHg 以上もしくは 20% 以上の血圧上昇
	不整脈	
	心停止	
	心筋梗塞	
	脳血管イベント	
肺	低酸素血症	経皮的動脈血酸素飽和度 85% 未満
	呼吸低下	
	喉頭痙攣	
	気管痙攣	
	肺炎	
血栓症	深部静脈血栓	
	肺血栓・塞栓症	
機器による障害	穿孔	
	穿通	
	嵌頓	

	機器の故障	
出血		吐血、下血もしくは 2g/dl 以上のヘモグロビンの低下
感染	胆管炎	胆汁うっ滞を伴う 38℃以上の発熱
	膵感染	
	直接感染	
薬剤反応	アレルギー	
疼痛	腹痛	膵炎と腸管穿孔を除く
	腹痛以外	
膵炎		腹痛と、血清アミラーゼ/リパーゼの施設基準値の 3 倍以上の上昇
外皮障害		皮膚、眼、骨、筋肉の損傷
その他		

表 5 有害事象の定義

症例数設定の根拠

この臨床研究の目的は、25G 穿刺針を用いた EUS-FNA に高陰圧を併用することで組織検体採取率が向上するかどうかを主要評価項目とした。既報では、膵腫瘍に対して 25G 穿刺針を用いた EUS-FNA を施行した場合、組織診断は 45.8%であった[16]。今回、われわれは通常陰圧での組織検体採取率を 50% と設定した。さらに高陰圧を用いた EUS-FNA での組織検体採取率が 65%、不一致率が 25%、検出力を 0.8、α を 0.05 と設定し、10% の脱落症例を見込んで症例数は 90 例とした。

統計解析

各評価項目の統計学的解析には MacNemar の χ^2 検定を用いた。いずれの検定においても、P 値が 0.05 未満の時に統計学的に有意であると判断した。すべての統計学的解析は JMP ソフトウェア version8 (SAS Institute、 Cary、 NC、 USA) を使用した。

臨床試験登録

この臨床試験は University Hospital Medical Information Network (UMIN) に登録し行った (UMIN 000005939)。

研　究　結　果

【患者背景】

登録された 90 症例のうち、52 人は男性、38 人は女性であり、年齢中央値は 67 歳であった。全ての病変は EUS で描出が可能であり、EUS-FNA 手技は全例で成功した。病変部位の内訳は、膵頭部、膵体部、膵尾部それぞれ 34、40、16 例であった。患者の PS については、0 が 81 名、1 が 8 例、2 が 1 例であり、ASA スコアは 0 が 5 例、1 が 81 例、2 が 4 例であった。穿刺経路は、56 例は胃を、34 例は十二指腸を経由して病変を穿刺した。病変の大きさの中央値は 28.2 mm (7.2-63.9 mm) であった（表 4)。

年齢中央値（範囲）		67.5（27-87）歳
性別（男性/女性）		52/38
PS	0	81
	1	8
	2	1
ASA 分類	1	86
	2	4
病変部位（数）	膵頭部	34
	膵体部	40
	膵尾部	16
穿刺経路	胃	56
	十二指腸	34
平均腫瘍径（長径、範囲）		28.2（7.2-63.9）mm
腫瘍径別症例数	0-20 mm	22
	21-40 mm	58
	41-60 mm	8
	60 mm 以上	2

表 6 患者背景

全例に対して迅速細胞診を施行した。

最終診断は、25 例は i）外科的切除標本を、残り 65 例は ii）経過観察の画像所見や臨床所見を用いて行った。

【適正組織検体採取率】

組織学的診断可能な検体採取率は、NNP 群が 90 例中 65 例（72.2%）であった

のに対して、HNP 群では 90 例中 81 例（90%）だった。一致率は 77.8%（70/90）、不一致率が 22.2%（20/90）例であり、HNP 群が有意に組織診断可能（score 3 以上）であった。表 5、図 7 は、今回の研究で得られた cellularity のスコア別の症例数であり、表 6 は cellularity score を 2 以下、3 以上に分けた場合の 2×2 表である。

		NNP						
	Score	0	1	2	3	4	5	Total
HNP	0	2	0	0	0	0	0	2
	1	0	0	2	1	0	0	3
	2	0	1	2	1	0	0	4
	3	2	1	4	11	8	1	27
	4	5	0	4	14	13	3	39
	5	2	0	0	3	3	7	15
	Total	11	2	12	30	24	11	90

表 7 Cellularity score

HNP、 high negative pressure; NNP、 normal negative pressure

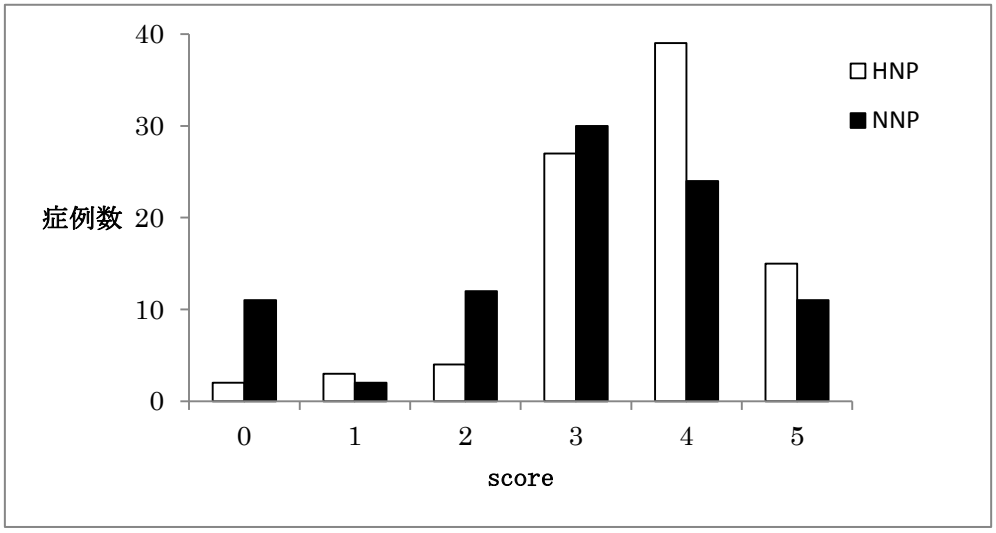


図 7 スコア別症例数

HNP、 high negative pressure; NNP、 normal negative pressure

		NNP		
Score≧3		Yes	No	Total
HNP	Yes	63	18	81
	No	2	7	9
Total		65	25	90

表 8　適正な組織検体採取率

$P < 0.05$ (McNemar 検定)

HNP、 high negative pressure; NNP、 normal negative pressure

【正診率】

登録症例の最終診断の結果を表 6 に示す。腺癌 71 例、腺癌以外の膵原発癌 6 例（腺房細胞癌 1 例、退形成膵癌 1 例、分類不能癌 4 例)、肺腺癌の膵転移 1 例、Solid-pseudopapillary neoplasm (SPN) 1 例、NET 4 例、膵炎 7 例であった。分類不能癌とした根拠については、3 例が腫瘍マーカー、画像などの臨床所見から、臨床の現場で組織型が特定できず、化学療法を施行していたため、1 例は EUS-FNA を施行したが、追加の治療をまたず死亡したため（当院での評価は腺扁平上皮癌疑い)、分類不能とした（表 9)。

	症例数
腺癌	71
腺癌以外の膵原発癌	6
転移性膵腫瘍（ 腺癌 ）	1
Solid-pseudopapillary neoplasm (SPN)	1
NET	4
悪性所見なし（膵炎、正常膵）	7
全体	90

表 9 最終診断

細胞診は、各登録施設毎の成績であり、HNP 群と NNP 群とで比較をしていない。細胞診では悪性疾患を診断する感度が 89.2% (74/83)、特異度が 100% (7/7) であった。

組織診については、NNP 群では 76 例が標本作成可能であり、感度 86.1% (62/72)、特異度 100% (4/4) であったのに対し、HNP 群では 85 例が標本作成可能であり、感度 88.5% (69/78)、特異度 71.4% (5/7) であった。正診率は、NNP 群で 73.3% (66/90)、HNP 群で 82.2% (74/90) であり、統計学的な有意差はなかった（P=0.10)。

採取された検体の適正率と、正診率との関連を見るため、得られた 180 標本 (プレパラートが作成できなかった標本については cellularity が 0、正診できなかったと仮定) を比較したところ、cellularity 2 以下と 3 以上の検体では正診率に有意な差（$P < 0.001$）が見られた（表 10)。

		Accuracy		
		Accurate	Inaccurate	Total
Adequacy	Adequate	130	16	146
	Inadequate	10	24	34
	Total	140	40	180

表 10 検体適正率と正診率の関係

$P < 0.001$ (Pearson の χ^2 乗検定)

また、腺癌については細胞異型のみで診断が可能だった可能性があるため、腺癌以外について検体適正率と正診率の関係を検討した。腺癌以外の病変は 19 病変であった。HNP 群においては 19 病変中 cellularity score が 2 以下であったものは 2 病変のみであり、検体の適正さと正診率に関連性はみられなかったが、NNP 群では組織診断学的なアプローチが可能な場合のみに診断能が向上していることが分かった (表 11)。

NNP		Accuracy		
		Accurate	Inaccurate	Total
Adequacy	Adequate	11	2	13
	Inadequate	1	5	6
	Total	12	7	19

P=0.0043 (Pearson の χ^2 乗検定)

HNP		Accuracy		
		Accurate	Inaccurate	Total
Adequacy	Adequate	13	4	17
	Inadequate	1	1	2
	Total	14	5	19

表 11 検体の適正度と正診率の関係（腺癌以外）

P = 0.4213 (Pearson の χ^2 乗検定)

検体の質の評価

HNP で得られた血液量は NNP に比べ、有意に多かった（P=0.0042)。介在粘膜の混入度について差はみられなかった（P=0.0795)(表 12、13)。

血液量	HNP	NNP
0 なし、もしくは、ごく少量	16	28
1 中等度	41	43
2 多量	33	19

表 12 検体中の血液量

介在粘膜の混入度	HNP	NNP
0 なし	70	68
1 スライド上の標本面積の 25% 未満	19	10
2 スライド上の標本面積の 25-50%	1	10
3 スライド上の標本面積の 50% より大きい	0	2

表 13 検体中の介在粘膜の混入度

有害事象

1 例で膵炎（ASGE ガイドラインで“軽症”の分類）を発症したが、保存的加療で改善した。有害事象の発生率は 1.1%（1/90）であった。クロスオーバー試験のため、HNP 群と NNP 群とに分けて比較検討できなかったが、高陰圧を併用した EUS-FNA を追加したことによる有害事象と解釈し、既報の論文と比較[9]すると、有害事象に明らかな差は認められなかった。

考察

本研究の結果より、25G 穿刺針を用いて EUS-FNA を行う上でより高い陰圧を併用することは、組織診断のための適正な検体を得ることができることが示された。

現在市販されている EUS-FNA 専用穿刺針には、太い順に 19G、22G、25G の穿刺針があるが、その中でも 25G 穿刺針は最も高い穿刺成功率を有する[16]。特に、膵頭部病変の描出は主に経十二指腸的に行われることが多く、上十二指腸角を内視鏡が通過した際、先端に急峻な屈曲が生じ、内視鏡内を針が通過する際に強い抵抗が生じるためである。また、22G 穿刺針を用いるよりも少ない偶発症率であり、膵病変に対して 25G を用いることを推奨している論文も散見される[17-19]。

細い針の不利な点は、採取できる検体の量が少ないことである。背景に慢性膵炎が存在する症例では、時に炎症と腫瘍の鑑別が難しいことがある。また、細胞異型の弱い癌も構造異型なしでは FNA 検体で癌と診断することは困難である。加えて、腺癌以外の一部の膵腫瘍（SPN、NET、悪性リンパ腫など）については、免疫染色が必要であり、組織標本作成可能な検体を採取することが必須と言える。坂本らは、24 名の患者の膵病変に対して 19 G（Trucut 針）、22G、25G と異なる針でそれぞれ 2 回ずつ穿刺し、その穿刺成功率、細胞診診断率、組織診診断率の検討を報告しているが、25 G 穿刺針の穿刺成功率は 100%であったものの、組織診断が可能であった症例はわずか 11 例（45。8%）に留まっていた[16]。従って、細い針（25G 穿刺針）により、多くの組織診断可能な検体を採取することは、膵病変に対する EUS-FNA 診断能の向上に貢献できるといえる。

EUS-FNA を施行する際に吸引圧をかけることは、従来から行われており、いくつか報告が存在する[11,20,21]。European Society of Gastrointestinal Endoscopy ガイドラインでは、膵病変については吸引を推奨するとされている[11]が、吸引の差異を検討した論文が非常に少なく、確立された見解は得られていない。Larghi らは、Alliance II と 60 mL シリンジを用いて組織検体採取が可能かを報告した[12]。この論文は 27 名の患者を対象とし、22G 穿刺針を用い、通常陰圧下の従来の EUS-FNA を 5 回施行したのち、高陰圧併用下に穿刺吸引を行い、組織検体を得られるかどうかを検討している。膵以外の病変も含み、少ない症例数での検討ではあるが、組織検体採取率は 96% と高率であった。

本研究では、知見をもとに、25G 穿刺針と高陰圧を併用することで、組織学的診断可能な適正な検体を採取できるのではないかと仮説をたてた。今回の研究結果では、25G 穿刺針での穿刺成功率は病変の部位を問わず 100% であったことに加え、組織検体採取率は 90% であり、既報の報告の 45.8%[16]を大きく上回っ

ていた。また、NNP 群よりも HNP 群の検体は組織診に適正であった。高陰圧は EUS-FNA における検体採取において有用であり、25G 穿刺針を用いた EUS-FNA の従来法に上乗せ効果があることが示された。高陰圧を併用する手技は従来のシリンジに代えて 60 mL のシリンジを装着するのみであり、非常に簡便で、日常診療において導入可能であると思われる。

しかしながら、今回の研究では組織検体採取率において HNP 群が有意に優れていたのに対し、正診率には差がみられなかった。その理由として、本研究で登録された症例のほとんどが膵癌であったことが挙げられる。つまり、細胞異型のみで診断が可能であったことで、上皮配列の乱れ、間質への腫瘍浸潤の有無などの、組織学的評価がなくとも良・悪性の診断が可能な症例が大部分であり、HNP 群、NNP 群ともに高い正診率を有する結果となったと考えられる。しかし、実臨床では細胞診のみでは診断できない腫瘍も存在するため、上皮癌以外の膵腫瘍については、この結果は当てはまらないと考える。実際、本研究における腺癌以外 19 病変の検討では、組織診断が可能な検体（cellularity 3 以上）の方が正しい診断が下されている。これは、細胞異型に加え、細胞間配列や間質との関係などが診断の根拠となった可能性が高い。ただし、本研究では腺癌以外の症例数が少ないため、腺癌以外の病変に対する組織診の有用性を証明するには、さらなる症例数の蓄積と検討が必要である。

25G 針による高陰圧併用の EUS-FNA の問題点として、採取される血液量、すなわち、標本を作製した際、プレパラート上に認められる血液量が増えることが挙げられる。しかし HNP、NNP 両群間には正診率において差がみられていない。細胞診と違い、組織診断に用いるプレパラート上では、血球成分とそれ以外の細胞や間質は別々に視認されることが多い。そのため、膵病変に関しては膵組織、異型細胞などが血球成分に妨げられることなく認識可能であり、診断能に影響しなかったためと考えられる。

本研究はいくつかの限界と課題を有している。内視鏡に吸引シリンジを装着するため、内視鏡施行医に対して完全な盲検化ができなかったこと、HE 染色のみでの診断であったため、免疫染色を必要とする病変に対しての診断の正確性に劣ることである。しかし、本研究の評価対象を HE 染色のみとした理由は、実臨床において免疫染色や特別染色はあくまで臨床情報とヘマトキシリン・エオジン染色を参考に依頼されるものであり、免疫染色や特別染色を評価対象とした場合、病理医に対する盲検化や組織標本評価の公正を欠くと思われたためである。また、今回の試験はクロスオーバー試験であったため、HNP-NNP 群間で有害事象を直接比較できかったことが問題点として挙げられる。今後の課題としては、腺癌以外の悪性腫瘍や良性腫瘍、炎症性疾患についてさらなる症例の蓄積と、組織診の意義を証明することが望まれる。

総　括　お　よ　び　結　論

本研究で得られた新知見は以下のとおりである。

・25G 穿刺針を用いた EUS-FNA に高陰圧を併用することは、組織診断可能な検体採取率を有意に向上させる。

・組織診断可能な検体を採取することは病理診断の診断率も向上するため、結果的に EUS-FNA 診断能の向上に寄与する。

・高陰圧を行うことで採取される血球量は増加するが、組織学的診断の妨げにはならない。

・高陰圧併用下 EUS-FNA において、偶発症増加は見られず、一般臨床においても許容できる手技である。

本研究は、多施設共同研究によって高陰圧併用 EUS-FNA が組織検体採取率の向上に寄与することを示した初めての報告である。

上記の新知見により、膵病変に対する EUS-FNA の診断成績の向上が期待できる。また、25G 穿刺針は穿刺が最も簡便な針であり、この手技を広めることで 25G 穿刺針を用いた EUS-FNA の成績向上と、一般臨床施設や一般臨床医に対して EUS-FNA を普及させることに貢献できると考えられる。

今後の課題は、高陰圧を用いた手技は膵疾患に対しては腺癌以外の悪性腫瘍や良性腫瘍、炎症性疾患についてさらなる症例の蓄積と、膵疾患以外の様々な病変(縦隔腫瘍、腹腔内腫瘍、消化管粘膜下腫瘍など)に対しての有用性の検討が必要である。また、高陰圧を用いる以外にも EUS-FNA 手技における方法論について、さらなる工夫や経験の蓄積、実臨床における EUS-FNA の位置づけ、意義についての検討を行うことが重要である。

謝　　辞

本研究の実施および本論文の作成において、以下の先生にご指導いただきました。この場を借りて深謝申し上げます。

北海道大学大学院医学研究科　消化器内科学分野
　　坂本　直哉　先生
北海道大学病院　消化器内科
　　河上　洋　先生、栗谷　将城　先生、川久保　和道　先生
北海道大学　病院病理部
　　松野　吉宏　先生、三橋　智子　先生、畑中　佳奈子先生
札幌医科大学　第 4 内科
　　林　毅　先生、石渡　裕俊　先生
岐阜大学　地域腫瘍学
　　安田　一朗　先生
岐阜大学　生体支援センター
　　土井　晋平　先生
岐阜市民病院　消化器内科
　　向井　強　先生
三重大学大学院医学系研究科　消化器内科学講座
　　井上　宏之　先生、山田　玲子先生
手稲渓仁会病院　消化器病センター
　　潟沼　朗生　先生、真口　宏介　先生
東京大学　消化器内科
　　伊佐山　浩通　先生
北海道大学　高度先進医療センター
　　大庭　幸治　先生

さらに、本研究に参加していただいた施設の消化器内科、病理部関係各位の諸先生方、検査技師、看護師の方々に心より深く感謝申し上げます。

引　用　文　献

1. Vincent, A.et al. Pancreatic cancer. *Lancet* 378, 607-620.
2. van Gulik, T. M. *et al.* Incidence and clinical findings of benign, inflammatory disease in patients resected for presumed pancreatic head cancer. *Gastrointestinal endoscopy* 46, 417-423 (1997).
3. Gooiker, G. A. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the volume-outcome relationship in pancreatic surgery. *The British journal of surgery* 98, 485-494.
4. Nimura, Y. *et al.* Standard versus extended lymphadenectomy in radical pancreatoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas: long-term results of a Japanese multicenter randomized controlled trial. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* 19, 230-241.
5. Chang, K. J. *et al.* Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of pancreatic carcinoma. *The American journal of gastroenterology* 89, 263-266 (1994).
6. Yasuda, K.et al. The diagnosis of pancreatic cancer by endoscopic ultrasonography. *Gastrointestinal endoscopy* 34, 1-8 (1988).
7. Vilmann, P., Jacobsen, G. K., Henriksen, F. W. & Hancke, S. Endoscopic ultrasonography with guided fine needle aspiration biopsy in pancreatic disease. *Gastrointestinal endoscopy* 38, 172-173 (1992).
8. Hartwig, W. *et al.* Preoperative tissue diagnosis for tumours of the pancreas. *The British journal of surgery* 96, 5-20.
9. Wang, K. X. *et al.* Assessment of morbidity and mortality associated with EUS-guided FNA: a systematic review. *Gastrointestinal endoscopy* 73, 283-290.
10. Varadarajulu, S., Fockens, P. & Hawes, R. H. Best practices in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 10, 697-703.
11. Polkowski, M. *et al.* Learning, techniques, and complications of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Technical Guideline. *Endoscopy* 44, 190-206.
12. Larghi, A.et al. EUS-guided fine needle tissue acquisition by using high

negative pressure suction for the evaluation of solid masses: a pilot study. *Gastrointestinal endoscopy* 62, 768-774.

13. Ueno, H. *et al.* Randomized phase III study of gemcitabine plus S-1, S-1 alone, or gemcitabine alone in patients with locally advanced and metastatic pancreatic cancer in Japan and Taiwan: GEST study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 31, 1640-1648.
14. Gerke, H., Rizk, M. K., Vanderheyden, A. D. & Jensen, C. S. Randomized study comparing endoscopic ultrasound-guided Trucut biopsy and fine needle aspiration with high suction. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology* 21, 44-51.
15. Cotton, P. B. *et al.* A lexicon for endoscopic adverse events: report of an ASGE workshop. *Gastrointestinal endoscopy* 71, 446-454.
16. Sakamoto, H. *et al.* Prospective comparative study of the EUS guided 25-gauge FNA needle with the 19-gauge Trucut needle and 22-gauge FNA needle in patients with solid pancreatic masses. *Journal of gastroenterology and hepatology* 24, 384-390.
17. Iwashita, T. *et al.* High single-pass diagnostic yield of a new 25-gauge core biopsy needle for EUS-guided FNA biopsy in solid pancreatic lesions. *Gastrointestinal endoscopy*.
18. Lee, J. K. *et al.* A prospective, randomized trial comparing 25-gauge and 22-gauge needles for endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of pancreatic masses. *Scandinavian journal of gastroenterology*.
19. Madhoun, M. F. *et al.* The diagnostic accuracy of 22-gauge and 25-gauge needles in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of solid pancreatic lesions: a meta-analysis. *Endoscopy* 45, 86-92.
20. Puri, R. *et al.* Randomized controlled trial of endoscopic ultrasound-guided fine-needle sampling with or without suction for better cytological diagnosis. *Scandinavian journal of gastroenterology* 44, 499-504.
21. Wallace, M. B. *et al.* Randomized controlled trial of EUS-guided fine needle aspiration techniques for the detection of malignant lymphadenopathy. *Gastrointestinal endoscopy* 54, 441-447.