HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	エンドサイトスコピーによる食道腫瘍生体内組織診断の有用性に関する検討
Author(s)	霜田, 佳彦
Description	配架番号：2698
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14956号
Issue Date	2022-03-24
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k14956
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85783
Type	doctoral thesis
File Information	SHIMODA_Yoshihiko.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文

エンドサイトスコピーによる
食道腫瘍生体内組織診断の有用性に関する検討

(Efficacy of endoscopic in vivo histological diagnosis of
esophageal tumors by using an endocytoscopy)

２０２２年３月

北　海　道　大　学

霜　田　佳　彦

学　位　論　文

エンドサイトスコピーによる
食道腫瘍生体内組織診断の有用性に関する検討

(Efficacy of endoscopic in vivo histological diagnosis of
esophageal tumors by using an endocytoscopy)

２０２２年３月

北　海　道　大　学

霜　田　佳　彦

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

方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　9 頁

結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・13 頁

考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・20 頁

結論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・23 頁

謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24 頁

利益相反・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　25 頁

引用文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26 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雑誌に投稿中である。

1. Yoshihiko Shimoda, Yuichi Shimizu, Hiroaki Takahashi, Satoshi Okahara, Takakazu Miyake, Shin Ichihara, Ikko Tanaka, Masaki Inoue, Sayoko Kinowaki, Masayoshi Ono, Keiko Yamamoto, Shoko Ono, Naoya Sakamoto
   Optical biopsy for esophageal squamous cell neoplasia by using endocytoscopy – A multicenter prospective study
   World Journal of Gastroenterology

本研究の一部は以下の学会にて発表した

1. Yoshihiko Shimoda, Yuichi Shimizu, Hiroaki Takahashi, Satoshi Okahara, Takakazu Miyake, Shin Ichihara, Ikko Tanaka, Masaki Inoue, Sayoko Kinowaki, Masayoshi Ono, Keiko Yamamoto, Shoko Ono, Naoya Sakamoto
   Optical biopsy for esophageal squamous cell neoplasia by using endocytoscopy – A multicenter prospective study
   UEG Week Virtual 2021、2021 年 10 月 3 日・Vienna, Austria (Hybrid Meeting)

要旨

【背景と目的】

食道扁平上皮癌は予後不良な疾患であるが、早期に発見することができれば内視鏡的粘膜下層剥離術（Endoscopic Submucosal Dissection: ESD）で、極めて低侵襲に根治が可能である。早期食道癌に対する内視鏡診断は、白色光観察、ヨード染色、狭帯域光強調画像（Narrow Band Imaging: NBI）等の技術、さらにこれらに拡大内視鏡の技術を組み合わせて行われ、近年急速な発展を遂げている。しかし実臨床においては、内視鏡的に食道癌と診断された病変に対しても生検を行い、組織学的に癌と診断されてから内視鏡切除が選択されるのが実情である。

最近、拡大内視鏡の拡大倍率を飛躍的に上昇させ、消化管粘膜を生体内で細胞レベルまで超拡大観察することが可能なエンドサイトスコピー（endocytoscopy: ECS)が開発された。現在、ECS は通常白色光のみならず NBI 機能も搭載し、日常診療に活用することが可能となっている。しかし、今までの ECS の有用性に関する報告は、生体内の超拡大観察画像と切除標本の組織像を対比させた後ろ向き研究のみで、生検未施行の消化管病変に対する ECS 診断能を検討した前向き研究の報告は無い。

仮に ECS を含む精密内視鏡診断が生検組織診断に取って代わることができるなら、実臨床における恩恵は多大であると考える。今回、早期食道扁平上皮癌のハイリスク症例を対象に、食道腫瘍疑い病変に対する ECS による生体内組織診断能を検討する前向き研究を行い、いわゆる光学生検が実臨床に応用可能であるかを検証した。

【対象と方法】

北海道大学病院と恵佑会第二病院にて前向き研究を行った。研究期間は 2019 年 9 月 1 日から 2020 年 11 月 30 日までとし、2 施設における早期食道扁平上皮癌ハイリスク症例を対象とした。ハイリスク症例の定義は、過去に早期食道扁平上皮癌に対する内視鏡治療が行われた症例、もしくは頭頸部扁平上皮癌の治療歴のある症例のうち、過去の内視鏡画像から食道粘膜に多発ヨード不染域を認めるものとした。また、これらに加えて、他院より早期食道扁平上皮癌疑いとして紹介された症例も対象とした。既に内視鏡生検が行われ、扁平上皮癌と組織診断されている症例は除外した。

対象症例に対して、文書による同意を取得した後、ECS を用いた内視鏡サーベイランスを行った。内視鏡機器は GIF-H290EC（オリンパス・メディカルシステム社、東京）（諸元: スコープ径 9.7mm、スコープ長 1030mm、拡大能 520 倍）を用いた。サーベイランスの方法として、初めに通常白色光および NBI 観察を行い、食道に腫瘍を疑う病変を認めた場合、癌を疑う所見を確認した後に超拡大観察を行った。超拡大観察像は Inoue らの EC 分類に則って診断を行った。

指摘病変が白色光、NBI 観察、超拡大観察にて総合的に癌と診断された場合、生検は行わずに、後日、入院の上で ESD による切除を行った。総合的に非癌と診断された場合のみ、確認のための生検を行った。切除標本および生検標本に対して、臨床情報を提供されていない病理専門医（札幌厚生病院病理部）が、第 11 版食道癌取り扱い規約に則って組織診断を行った。

【結果】

研究期間中に 197 症例が登録された。内訳は男性 167 例、女性 30 例。年齢中央値は 73 歳（範囲 55 歳～90 歳）であった。本研究における対象患者の登録基準としては、169 例が食道扁平上皮癌内視鏡治療後症例、80 例が頭頸部癌治療後症例（うち 61 例が重複）、9 例が早期食道扁平上皮癌疑いとして他院より紹介された症例（生検未施行症例）であった。登録例のうち、治療後の狭窄のためスコープが通過できなかった 4 例が脱落例となった。白色光観察、NBI 観察にて 90 例に腫瘍疑い病変が指摘され、引き続き超拡大観察を行った。

評価可能な超拡大画像が得られた割合は 96.7% (95% 信頼区間 90.8%-98.9%)であった。癌と内視鏡診断され、生検未施行のまま ESD が行われたのは 37 症例 41 病変であった。平均腫瘍径（± 標準偏差）は 15.4 ± 4.9 mm であった。切除標本の組織診断結果は全 41 病変が、扁平上皮癌であった。深達度は 14 病変が pT1a-EP、25 病変が pT1a-LPM、2 病変が pT1a-MM であった。

非癌と内視鏡診断され、生検が行われたのは 50 症例 50 病変であった。平均腫瘍径（± 標準偏差）は 9.6 ± 3.3 mm であった。標本の組織診断結果は、1 病変が扁平上皮癌、49 病変は非癌であった。非癌病変の内訳は、10 病変が上皮内腫瘍、31 病変が食道炎、8 病変が再生上皮であった。

病変毎の ECS 診断成績は、感度 100% (95%信頼区間 87.7%-100%)、特異度 94.2% (95%信頼区間 84.1%-98.8%)、正診率 96.8% (95%信頼区間 91.0%-99.3%)であった。

【考察】

早期食道癌は、平坦もしくは軽度陥凹型として認められることが多いため、内視鏡診断のみならず病変からの生検組織診断にて癌と確診が得られてから、治療適応が決定されることが多い。しかし、早期食道癌で、特に範囲の広い病変において、しばしば病巣内に非癌部分を伴っており、生検にて癌と確診が得られないことがある。また、生検鉗子把持による組織の挫滅も正確な組織診断を妨げる一因となる。複数部位からの生検により正診率は上昇すると考えられるが、生検後の出血リスク、さらに、内視鏡切除の技術的困難要因である生検後の線維化を引き起こす要因となり、大きな臨床的問題と考えられる。さらに、近年では抗血小板剤や抗凝固剤を内服している症例も増えており、生検時の休薬の必要性も重要な問題となってくる。

今回の前向き研究では、96.8%と極めて良好な正診率が得られた。さらに癌と診断され切除された症例に、偽陽性症例が 1 例も無かったことは特筆される。この良好な成績の一因としては、生検組織診断は病変内の一点のみの診断であるのに比べて、ECS は病変全体を超拡大観察にて「面」として観察、診断できることが考えられる。超拡大観察を含めた精密内視鏡診断は極めて信頼性が高いと考えられる。この光学生検が実臨床で使われるようになれば、前述の問題の解決のみならず、病理診断医の負担軽減にもつながると考えられる。

【結論】

早期食道扁平上皮癌のハイリスク症例を対象に、食道腫瘍疑い病変に対する ECS による生体内組織診断能を検討する前向き研究を行った結果、極めて良好な診断成績が得られた。白色光、NBI 観察にて食道腫瘍が疑われた病変に対する ECS を用いた光学生検は、実臨床に十分に応用可能であると考えられた。

略語表

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。

AI	artificial intelligence
ECS	endocytoscopy
EP	epithelium
ESD	endoscopic submucosal dissection
LPM	lamina propria mucosae
MM	muscularis mucosa
NBI	narrow band imaging

緒言

食道扁平上皮癌は本邦においては食道悪性腫瘍の 90%以上を占め、予後不良な疾患であるが、早期に発見することができれば内視鏡的粘膜下層剥離術（Endoscopic Submucosal Dissection: ESD）で、極めて低侵襲に根治が可能である。早期食道癌の発見には上部消化管内視鏡によるサーベイランスが必須であり、内視鏡診断技術は本邦を中心に大きく発展を遂げた。早期食道癌に対する内視鏡診断は、白色光観察、ヨード染色、狭帯域光強調画像（Narrow Band Imaging: NBI）等の技術（図 1)、さらにこれらに拡大内視鏡の技術（図 2）を組み合わせて行われ、近年、急速な発展を遂げている。

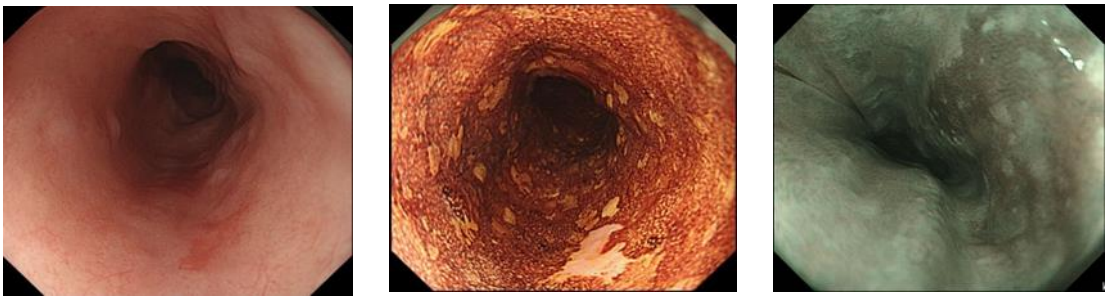

図 1　早期食道癌白色光画像（左)。ヨード染色像（中)。NBI 画像（右)。

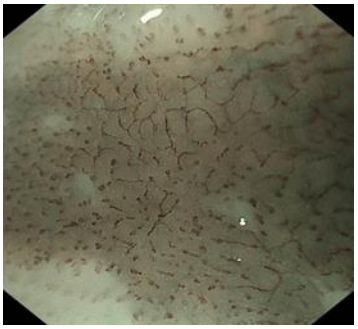

図 2　NBI 拡大内視鏡画像（80 倍)。

現在、これらの内視鏡診断技術による早期食道扁平上皮癌の正診率は約 90%と報告されている(Takahashi et al., 2014; Nagami et al., 2014; Goda et al., 2016)。しかし実臨床においては、内視鏡的に食道癌と診断された病変に対しても生検を行い、組織学的に癌と診断されてから内視鏡切除が選択されるのが実情である。

最近、拡大内視鏡の拡大倍率を飛躍的に上昇させ、消化管粘膜を生体内で細胞レベルまで超拡大観察することが可能なエンドサイトスコピー（endocytoscopy: ECS)が開

発された。Inoue ら(Inoue et al., 2006)は ECS が試作機の段階で、早期食道扁平上皮癌、異型上皮（dysplasia)、食道炎等の超拡大内視鏡像を、当時の国際的な病理分類であるウィーン分類（Grade 1 - 5）に当てはめた ECA 1–5 の分類基準を報告した。この基準では ECA 4, 5 がウィーン分類 4, 5（治療が必要とされる severe dysplasia および扁平上皮癌）の診断に相当し（図 3)、将来的な生体内における光学生検の可能性について報告している(Inoue et al., 2006; Minami et al., 2012)。

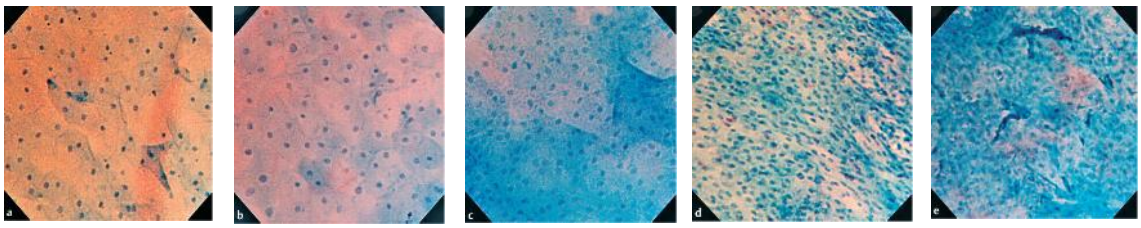

図 3　ECA 分類。左から ECA 1, 2, 3, 4, 5（Inoue H., Sasajima K., Kaga M., Sugaya S., Sato Y., Wada Y., Inui M., Satodate H., Kudo SE., Kimura S., et al.(2006) Endoscopic in vivo evaluation of tissue atypia in the esophagus using a newly designed integrated endocytoscope: a pilot trial. Endoscopy. 38, 891-5 より転載)。

ECS はその後、画質や操作性に対して改良が重ねられ、520 倍の拡大機能を持ちながら通常の消化管内視鏡スコープと同等の操作性、同等の直径を有するスコープとして、2019 年に市販が開始された（図 4)。Kumagai らは最新の ECS を試作機と比較し、特に食道扁平上皮領域の腫瘍において画質の向上により有用性が高まったことを報告している(Kumagai et al., 2017)。現在の ECS は通常白色光のみならず、NBI 機能も搭載し、日常診療に活用することが可能となっている。しかし、これまでの ECS の有用性に関する報告は、生体内の超拡大観察画像と切除標本の組織像を対比させた後ろ向き研究のみで、生検未施行の消化管病変に対する ECS 診断能を検討した前向き研究の報告は無い。

図 4　エンドサイトスコピー市販型、先端部分（スコープ径 9.7mm)。

最新版の食道癌取り扱い規約によると、食道扁平上皮腫瘍は扁平上皮癌（squamous cell carcinoma）と上皮内腫瘍（intraepithelial neoplasia）に分類される（食道癌取り扱い規約第11版. 2015.)。上皮内腫瘍は、上皮細胞の構造異型、細胞異型が癌ほど強くないもので、前述のウィーン分類では Grade 3 に相当し、経過観察が推奨される病変である(Gabbert et al., 2000; Schlemper et al., 2000; Dixon MF. 2002; Shimizu Y., 2006) (図 5)。ECS による超拡大観察は、粘膜表面から深さ 50μm までが焦点範囲と報告されており(Mori et al., 2013; Mori et al., 2016a; Kataoka et al., 2020)、扁平上皮癌と上皮内腫瘍の鑑別は可能であると考えられる。

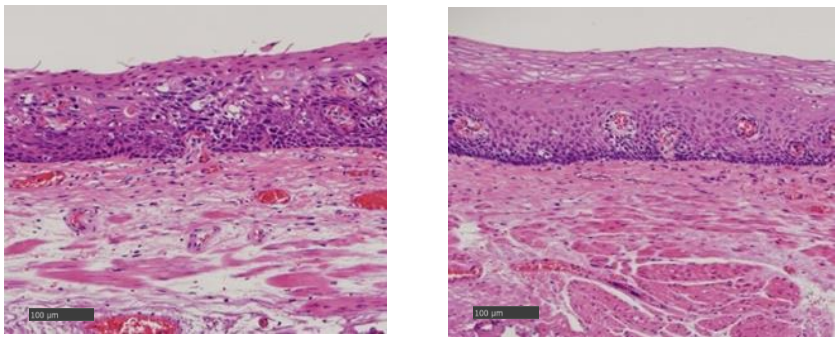

図 5　扁平上皮癌（左)、上皮内腫瘍（右）の組織像（ヘマトキシリン・エオジン染色、scale bar=100μm)。

仮に ECS を含む精密内視鏡診断が、生検組織診断に取って代わることができるなら、実臨床における恩恵は多大であると考える。今回、早期食道扁平上皮癌のハイリスク症例を対象に、食道腫瘍疑い病変に対する ECS による生体内組織診断能を検討する前向き研究を行い、いわゆる光学生検が実臨床に応用可能であるかを検証した。

方法

1. 対象

北海道大学病院と恵佑会第二病院にて前向き研究を行った。研究期間は 2019 年 9 月 1 日から 2020 年 11 月 30 日までとし、2 施設における早期食道扁平上皮癌ハイリスク症例を対象とした。ハイリスク症例の定義は、過去に早期食道扁平上皮癌に対する内視鏡治療が行われた症例、もしくは頭頸部扁平上皮癌の治療歴のある症例のうち、過去の内視鏡画像から、食道粘膜に多発ヨード不染域を認めるもの（JEC 分類 grade C 症例）とした。なお、この JEC 分類とは、全国 16 施設が参加した早期食道扁平上皮癌内視鏡治療症例の異時性多発食道癌発生率を調べる多施設前向き研究で使用された分類で（grade A, B, C に分類)、grade C（内視鏡画面 1 視野に 10 個以上のヨード不染域を認めるもの）が異時性多発食道癌発生の有意なリスク因子であることが証明されている(Katada et al., 2016)（図 6)。また、これらに加えて他院より早期食道扁平上皮癌疑いとして紹介された症例も対象とした。除外基準は以下のとおりとした。(1) 既に内視鏡生検が行われ扁平上皮癌と組織診断されている症例。(2) 未成年。(3) 妊産婦。(4) 研究参加に関する理解が困難な症例。(5) その他、検査施行医が研究対象として不適当と判断した症例。

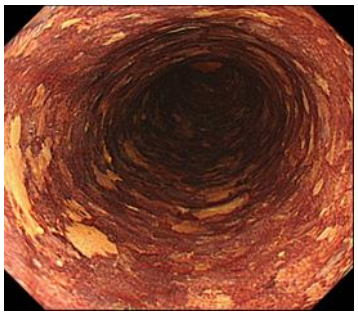

図 6　JEC 分類 grade C 症例。

本研究は、北海道大学病院、生命・医学系研究倫理審査委員会事務局の承認の下に行われた（自 018-0373)。また、University Hospital Medical Information Network Clinical Trials Registry に登録した(ID: 000037383)。

2. 手法

対象症例に対して事前に研究参加に関する説明をし、文書による同意を取得した後で、ECS を用いた内視鏡サーベイランスを行った。使用内視鏡機器は GIF-H290EC

（オリンパス・メディカルシステム社、東京）で、諸元はスコープ径 9.7mm、スコープ長 1030mm、内部チャンネル径 2.2mm、拡大能 520 倍（最大倍率時視野 570μm x 500μm）である(Kumagai et al., 2020a; Kumagai et al., 2020b)。具体的なサーベイランスの方法として、初めに通常白色光および NBI 観察を行い、食道に腫瘍を疑う所見を認めた場合（白色光における赤色変化や NBI における茶色変化; brownish area)、癌を疑う所見（白色光における表面の凹凸不整や NBI における毛細血管背景の濃色変化; background coloration）を確認した後（図 7)、超拡大観察を行った。

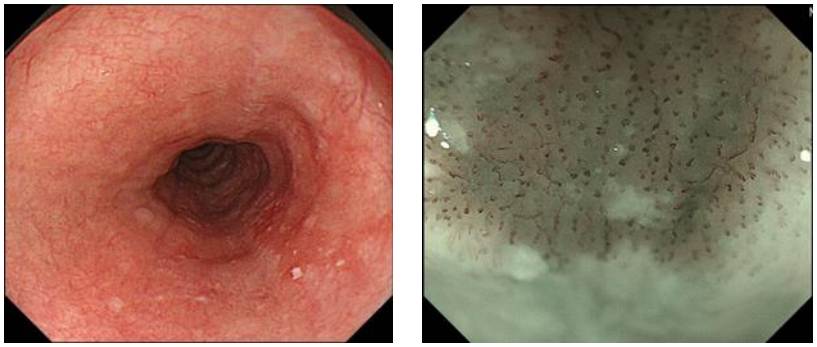

図 7　早期食道扁平上皮癌症例。白色光において赤色変化、および表面の凹凸不整を認める（左)。NBI 拡大観察では、毛細血管背景の濃色変化を認める（右)。

超拡大観察は 0.05%クリスタルバイオレット 10ml と 1%メチレンブルー1ml を混ぜた溶液を 2〜4ml 散布し、細胞質と核を染色した後に行った。超拡大観察像は後述する EC 分類に則って診断を行った。大きさ 5mm 未満の病変は癌である可能性が極めて低いことが報告されているため（Yokoyama et　al., 1995; Liu et al., 2020)、本研究からは除外した。

指摘病変が、白色光、NBI 観察、超拡大観察にて総合的に癌と診断された場合、生検は行わずに、後日、入院の上で内視鏡切除が行われた。総合的に非癌と診断された場合のみ、確認のための生検を行った。全ての内視鏡操作、診断は、早期食道癌の内視鏡診断に習熟した内視鏡医 5 名（北海道大学病院 2 名、恵佑会第二病院 3 名）によって行われた。

3. EC 分類

2019 年に Abad ら(Abad et al., 2020)は、過去に報告された ECA 分類（図 3）を元にした新世代の ECS 超拡大画像の新しい診断基準である EC 分類を提唱した。本研究では超拡大観察の診断基準として、この EC 分類を用いた。詳細を以下に転載し、画像（自験例）を提示する（図 8)。

-EC1a is normal, it shows regularly arranged large rhomboid-shaped cells.
-EC1b is esophagitis, it shows blunted edges and more rounded cells.
-EC2 is intraepithelial neoplasia, it shows an increase in cellular density but still with a recognizable cell structure.
-EC3 is squamous cell carcinoma, it shows complete loss of cellular structure with a significant increase in cellular density.

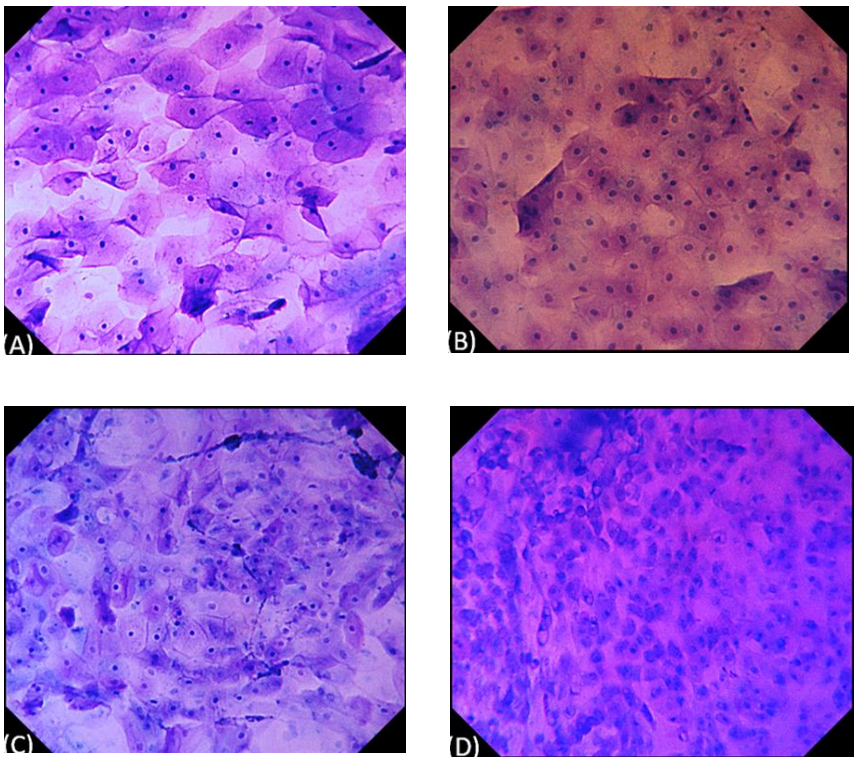

図８　EC 分類。(A)正常(左上)。(B)食道炎(右上)。(C)上皮内腫瘍(左下)。(D)扁平上皮癌(右下)。

一つの病変内には食道扁平上皮癌だけでなく、上皮内腫瘍、食道炎が混在する可能性がある。その場合、ECS 観察時には EC3 だけでなく、EC2 や EC1a、EC1b なども同一病変内で観察される症例も存在することが想定される。異なる EC 診断が混在する場合は、診断の優先順位を異型度のより高いものとした。

4. 組織診断

内視鏡切除は内視鏡的粘膜下層剥離術（Endoscopic submucosal dissection: ESD）の手法を用いた。切除標本はパラフィン包埋した後、長軸方向に 2mm 間隔でスライスし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。生検標本はパラフィン包埋した後、中央でスライスし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。臨床情報を提供されてい

ない病理専門医（札幌厚生病院病理部）が、最新版（第 11 版）の食道癌取り扱い規約に則って組織診断を行った。

5. 評価項目

主要評価項目は ECS 診断の感度（組織診断にて実際に扁平上皮癌と診断された病変のうち、ECS により癌と診断された病変の割合)、副次的評価項目は、評価可能な超拡大画像が得られる割合、ECS診断の特異度、陽性的中度、陰性的中度、正診率とした。

6. 統計学的解析

先行研究において、早期食道扁平上皮癌に対する内視鏡下生検診断による感度は85.6%であった。この研究は食道腫瘍が疑われた 85 症例、111 病変を対象に行われたもので、生検診断で異型上皮（上皮内腫瘍）と診断された病変に対しても、内視鏡的に癌を強く疑う病変に対しては内視鏡的切除あるいは外科切除が行われ、切除標本の組織診断を最終診断として検証された。感度 = 生検で癌と診断された病変数/切除標本で癌と診断された病変数、として算出された(Nagai et al., 2014)。本研究における ECS 診断による悪性診断の期待感度を 95%と仮定し、閾値感度を 80%とした場合、有意水準 5%（片側）で検出力 80%を達成する食道癌症例数は二項検定（正規近似）をもとに算出すると 35 例と算出された。ハイリスクグループにおける食道癌年間発生率は約 20%と報告されており(Katada et al., 2016)、脱落例、不適格例の発生を見込んで、目標症例数を 200 例とした。ECS 診断の感度、特異度、陽性的中度、陰性的中度、正診率を、95%信頼区間を含めて計算した。統計解析ソフトは JMP Pro 15.0.(SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) 、EZR version 1.54.(自治医科大学附属さいたま医療センター血液科)を使用した。

結果

登録症例

研究期間中に 197 症例が登録された。表 1 に患者背景を示す。男性 167 例、女性 30 例で、年齢中央値は 73 歳（範囲 55 歳～90 歳）であった。本研究における対象患者の登録基準としては、169 例が食道扁平上皮癌内視鏡治療後症例、80 例が頭頸部癌治療後症例（うち 61 例が重複)、9 例が早期食道扁平上皮癌疑いとして他院より紹介された症例（生検未施行症例）であった。登録された 197 例のうち、治療後の食道狭窄、もしくは咽頭狭窄のためスコープが通過できなかった 4 例が脱落例となった。白色光観察、NBI 観察にて 90 例に腫瘍疑い病変が指摘され、引き続き超拡大観察が行われた。うち 3 例においては染色液散布後に指摘病変が不明となり、超拡大画像が得られなかった。全体の結果の流れをシェーマに示す（図 9)。

表 1. 登録された患者の背景

	全症例 (n = 197) n (%)
性別 (男性)	167 (84.8%)
年齢 (歳)、中央値 (範囲)	73 (55-90)
既往歴	
早期食道癌内視鏡治療後	169※
頭頚部癌治療後	80※
食道癌紹介症例(生検未施行)	9

※61 例で重複あり。

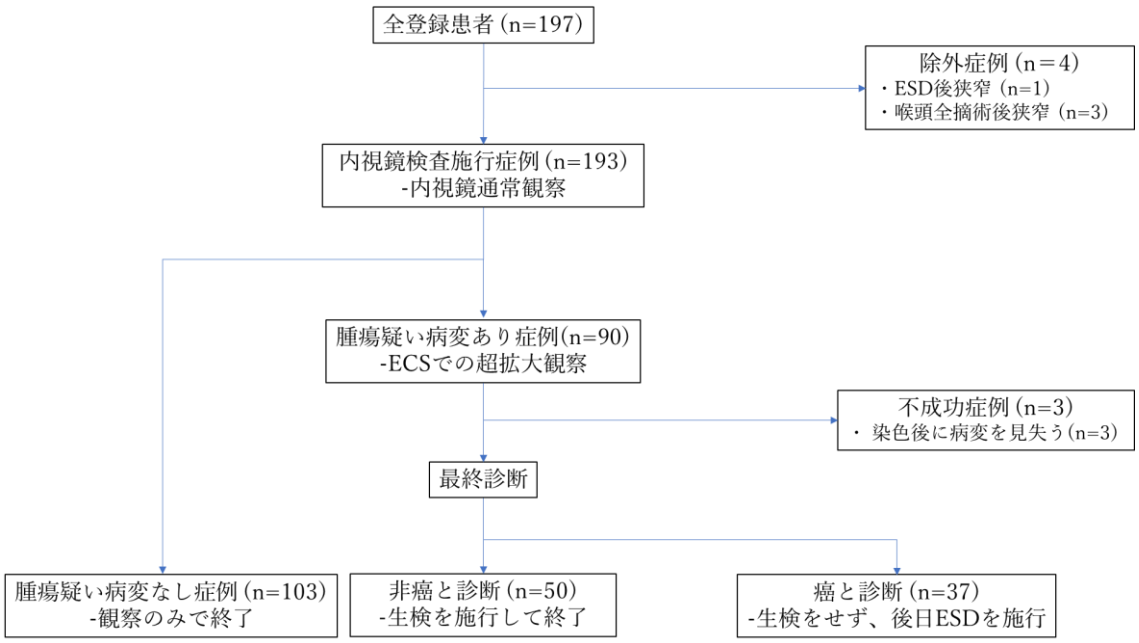

図 9　本研究における全体の流れ。

診断結果

評価可能な超拡大画像が得られた割合は 96.7% (95% 信頼区間 90.8%-98.9%)であった。表 2 に、癌と内視鏡診断され、生検未施行のまま ESD が行われた 37 症例 41 病変の背景を示す。平均腫瘍径（± 標準偏差）は 15.4 ± 4.9 mm であった。病変部位は、1 病変は頸部食道、13 病変は胸部上部食道、13 病変は胸部中部食道、14 病変は胸部下部食道に認められた。腹部食道には病変を認めなかった。白色光観察では、全病変に発赤が認められ、うち 17 病変に表面凹凸不整の所見が認められた。NBI 観察では、全病変が茶色変化として認められ、うち 38 病変に毛細血管背景の濃色変化の所見が認められた。超拡大画像の EC 分類診断は、EC 1a, 1b, 2 と診断された病変は無く、全病変が EC 3 と診断された。全症例に対して、後日、入院の上で ESD が行われた。組織診断結果は全 41 病変共、扁平上皮癌であった。食道癌取り扱い規約第 11 版に基づいた深達度は、14 病変が pT1a-EP、25 病変が pT1a-LPM、2 病変が pT1a-MM であった。癌と診断され正診した症例を図 10 に示す。

表 2. 癌と内視鏡診断され、生検未施行のまま ESD が行われた 37 症例 41 病変の背景

		41 病変 (37 例)
病変のサイズ (mm)、平均 (±標準偏差)		15.4 (± 4.9)
病変の局在、頸部/上部/中部 /下部/腹部		1 / 13 / 13 / 14 / 0
内視鏡所見 (白色光観察)		
発赤	+/-	41 / 0
表面の凹凸不整	+/-	17 / 24
内視鏡所見 (NBI 観察)		
茶色変化	+/-	41 / 0
毛細血管背景の濃色変化	+/-	38 / 3
EC 分類		
1a / 1b / 2 / 3		0 / 0 / 0 / 41
病理組織学的診断		
癌 / 非癌		41 / 0
深達度		
EP / LPM / MM		14 / 25 / 2

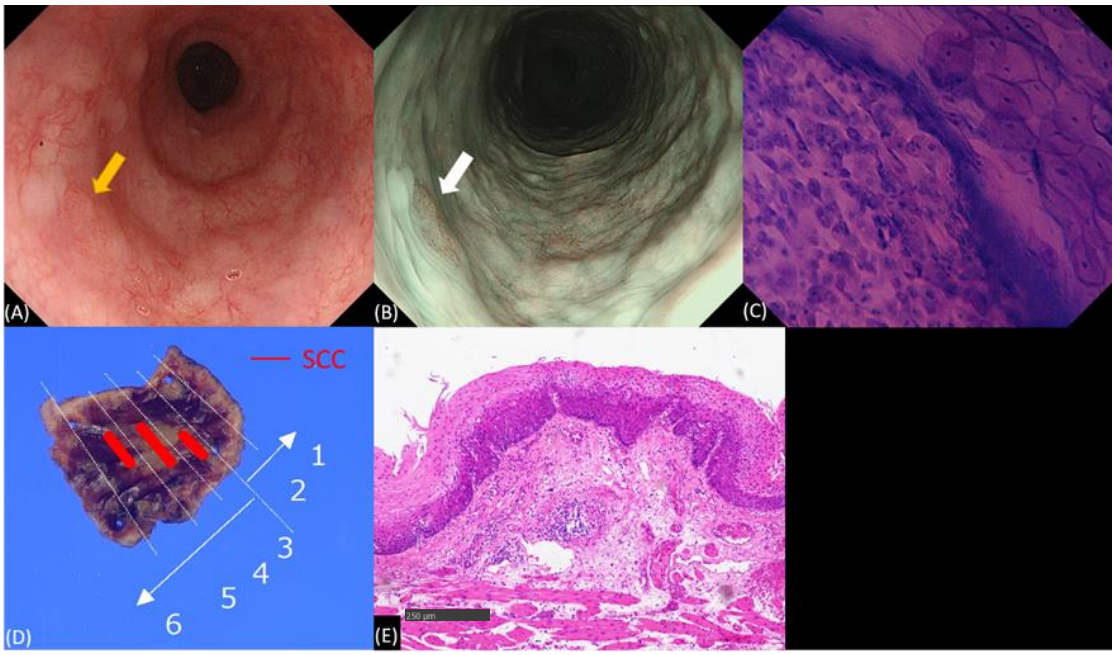

図 10　癌と診断され、正診された症例。白色光に発赤病変を認める（左上、黄矢印)。NBI 観察では毛細血管背景の濃色変化を伴う茶色変化として描出される（中央上、白矢印)。超拡大観察で EC3 と診断された（右上)。白色光および NBI 観察にて癌の所見を認め、総合的に癌と診断され生検は行わずに ESD が施行された（左下)。組織診断は扁平上皮癌であった（中央下)。（ヘマトキシリン・エオジン染色、scale bar=250 μ m)。

次に、非癌と内視鏡診断され生検が行われた 50 症例 50 病変の背景を表 3 に示す。平均腫瘍径（± 標準偏差）は 9.6 ± 3.3 mm であった。病変部位については、頸部食道病変は無く、18 病変は胸部上部食道、21 病変は胸部中部食道、10 病変は胸部下部食道、1 病変は腹部食道に認められた。白色光観察では 32 病変に発赤が認められ、うち 4 病変に表面凹凸不整の所見が認められた。NBI 観察では 47 病変が茶色変化として認められ、うち 2 病変に毛細血管背景の濃色変化の所見が認められた。超拡大画像の EC 分類診断は、EC 1a と診断された病変は無く、26 病変が EC 1b、23 病変が EC 2、1 病変が EC 3 と診断された。非癌と診断され正診した症例を図 11 に示す。なお、この EC 3 と診断された病変に関しては、白色光、NBI 観察で癌を強く疑う所見が認められなかったため、超拡大観察画像で癌が疑われたものの、総合的に非癌と診断され生検が行われたものであった。本症例の生検組織診断は扁平上皮癌であった。図 12 に本症例を提示する。他の 49 病変の組織診断結果は全て非癌であった。内訳は、10 病変が上皮内腫瘍、31 病変が食道炎、8 病変が再生上皮であった。

表 3. 総合的に非癌が疑われ、生検を行った病変の特徴

		50 病変 (50 例)
病変のサイズ (mm)、 平均 (±標準偏差)		9.6 (± 3.3)
病変の局在、頸部/上部/中部 /下部/腹部		0 / 18 / 21 / 10 / 1
内視鏡所見 (白色光観察)		
発赤	+/-	32 / 18
表面の凹凸不整	+/-	4 / 46
内視鏡所見 (NBI 観察)		
茶色変化	+/-	47 / 3
毛細血管背景の濃色変化	+/-	2 / 48
EC 分類		
1a / 1b / 2 / 3		0 / 26 / 23 / 1
病理組織学的診断		
癌 / 非癌		1 / 49
非癌病変の分類		
上皮内腫瘍 / 食道炎 / 再生上皮		10 / 31 / 8

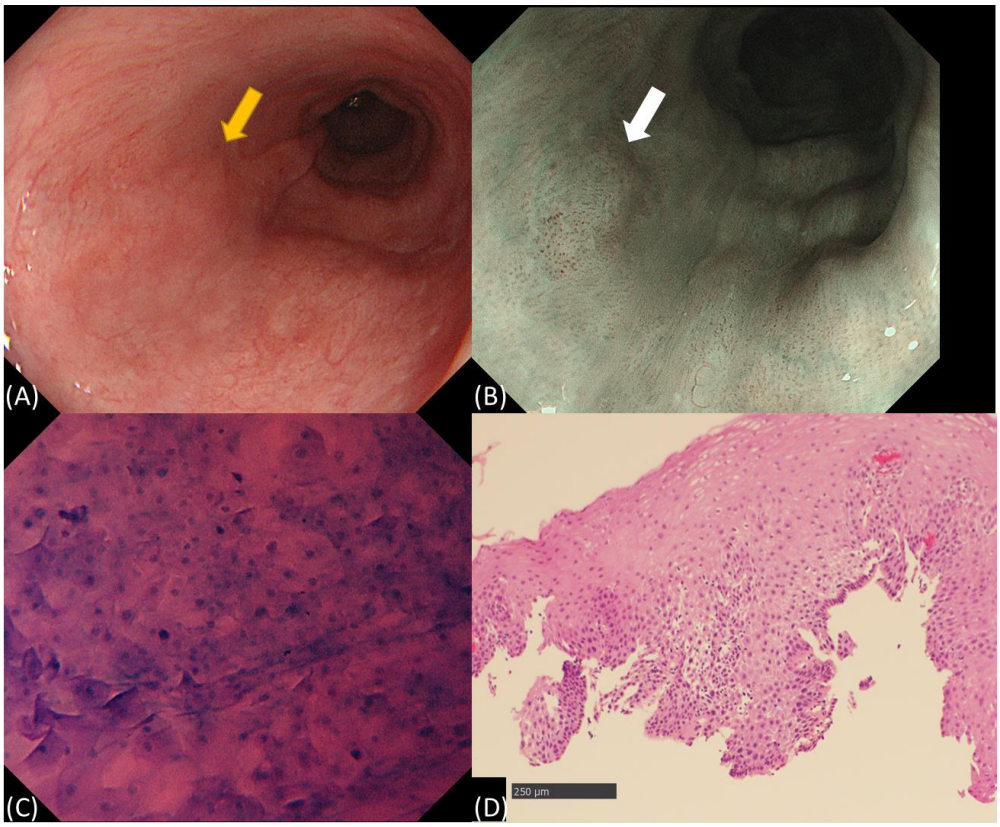

図 11　非癌と診断され正診した症例。白色光に発赤病変を認める（左上、黄矢印）。NBI 観察ではかすかな茶色変化として描出される（右上、白矢印）。超拡大観察で EC2 と診断された（左下）。白色光および NBI 観察にて癌の所見に乏しく、総合的に非癌と診断され生検が行われ、組織診断は上皮内腫瘍であった（右下）。（ヘマトキシリン・エオジン染色、scale bar=250 μ m）。

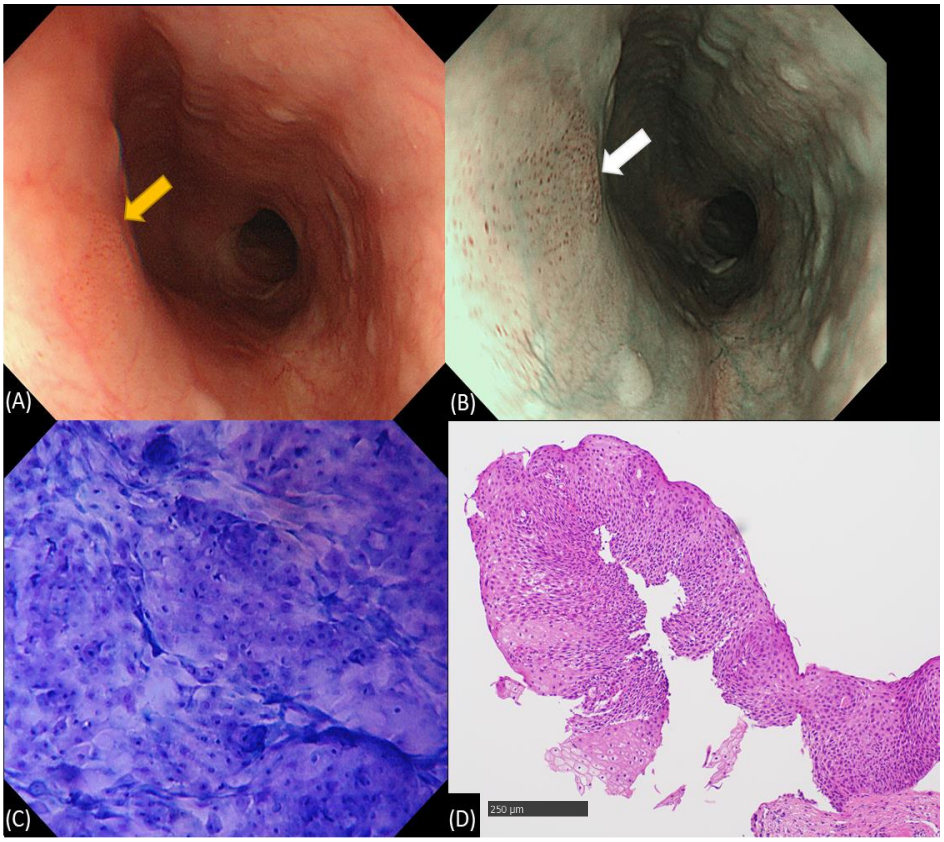

図 12　白色光、NBI 観察診断と超拡大観察診断の乖離例。白色光ではかすかな発赤として認められる（左上、黄矢印）。NBI 観察ではかすかな茶色変化として認められる（右上、白矢印）。超拡大観察では EC 3 と診断された（左下）。白色光および NBI 観察にて癌の所見に乏しく、総合的に非癌と診断され生検が行われたが、組織診断は扁平上皮癌であった（右下）。（ヘマトキシリン・エオジン染色、scale bar=250μm）。

表 4 に病変毎の ECS 診断成績を示す。超拡大観察不成功症例 3 例を非正診例かつ、癌、非癌診断未施行例とみなした場合、感度 42/42、特異度 49/52、正診率 91/94、陽性的中度 42/42、陰性的中度 49/49 となり、感度 100% (95%信頼区間 87.7%-100%)、特異度 94.2% (95%信頼区間 84.1%-98.8%)、正診率 96.8% (95%信頼区間 91.0%-99.3%)、陽性的中度 100% (95%信頼区間 87.7%-100%)、陰性的中度 100% (95%信頼区間 89.4%-100%)であった。

表 4. 食道病変毎の ECS の診断精度

感度 (%)	特異度 (%)	正診率 (%)	陽性的中度 (%)	陰性的中度 (%)
100 (87.7-100)	94.2 (84.1-98.8)	96.8 (91.0-99.3)	100 (87.7-100)	100 (89.4-100)

考察

一般的に、ポリープ等の隆起性病変として認められ内視鏡診断の比較的容易な大腸腺腫や早期大腸癌と異なり、早期胃癌や早期食道癌は平坦、もしくは軽度陥凹型として認められることが多いため、内視鏡診断のみならず病変からの生検組織診断にて癌と確診が得られてから治療適応が決定されることが多い。しかし、早期食道癌においては、特に範囲の広い病変において、しばしば病巣内に上皮内腫瘍を伴っており、生検にて癌と確診が得られないことがある。また、生検鉗子把持による組織の挫滅も正確な組織診断を妨げる一因となる。実際、早期食道癌における生検組織診断の正診率は内視鏡診断の正診率とほぼ同等の 90%に過ぎないと報告されている(Nagami Y et al., 2014)。複数部位からの生検により正診率は上昇すると考えられるが、生検後の出血リスクを増悪させ、また、病変の形態変化が生じて次回の内視鏡時の診断の障害となりうることに加え、内視鏡切除の技術的困難要因である生検後の線維化を引き起こす要因となり、大きな臨床的問題と考えられる。さらに、近年では抗血小板剤や抗凝固剤を内服している症例も増えており、生検時の休薬の必要性も重要な問題となってくる。ECS を活用することによって生検回数を最小限にすることができ、これら生検に伴う障害を回避することが可能と考えられる。また、その結果として病理医の負担の軽減や、病理診断に要する時間を無くし、治療開始までの期間を短縮できるなどの恩恵が得られると考えられる。

今回の前向き研究では、96.8%と極めて良好な正診率が得られた。さらに、癌と診断され切除された症例に偽陽性症例が 1 例も無かったことは特筆される。この良好な成績の一因としては、生検組織診断は病変内の一点のみの診断であるのに比べて、ECS は病変全体を超拡大観察にて「面」として観察、診断できることが考えられる。超拡大観察を含めた精密内視鏡診断は極めて信頼性が高いと考えられる。この光学生検が実臨床で使われるようになれば、前述の問題の解決のみならず、病理診断医の負担軽減にもつながると考えられる。

今回の研究では 1 例のみ白色光、NBI 観察診断と超拡大観察診断の乖離例があった。これは、超拡大観察にて癌の所見であったが、白色光および NBI 観察の所見が非癌であり、最終的に非癌と診断され生検が行われた結果、癌と組織診断されたものであった。この症例に関しては、病理診断医も上皮内腫瘍か癌か鑑別に苦慮した症例であり、組織診断の容易でない症例は ECS 診断も困難であると考えられた。

超拡大観察を行う際には通常観察後に追加で 2〜3 分ほどの時間を要するが、内視鏡生検手技に要する時間との差は大きくはなく、上記の利点を考慮すると重要な問題ではないと考える。

今回の研究で明らかになったECS診断の最大の弱点として、3例において染色により病変が不明瞭となり、超拡大観察像が得られなかったことがあげられる。これらの病変は全て径 1cm 未満の小病変であり、白色光および NBI 観察の所見は非癌であった。また、その後の経過観察内視鏡検査にて非腫瘍病変であることが確認されている。一方、超拡大観察にて EC3 となり癌が疑われるような病変は、核腫大、核密度上昇を反映して染色にて濃染するため、染色後に不明瞭化することは少ないものと推察される。実臨床においては、白色光および NBI 観察にて腫瘍疑い病変が発見された場合、早期食道癌の可能性が高いと判断された病変のみに対して染色を行い、超拡大観察による光学生検にて診断の最終確認を行うことが、上記の病変不明瞭化に伴う非正診例を減少させ、ひいては ECS の効率的な活用につながると考える。今後は病変不明瞭化を回避できるような、色調の薄い染色方法が開発されれば、ECSによる光学生検のさらなる発展、および普遍化につながると考えられる。

今回の研究の制約としては第一に、白色光や NBI 観察にて、ある程度の鑑別診断がなされた後に超拡大観察を行い、総合的に診断を行ったために超拡大観察の実際の上乗せ効果が不明であることがあげられる。第二に、本研究で実際に ECS 診断に携わった全員が早期食道癌の内視鏡診断に習熟した内視鏡医であったため、一般的な消化器内科医に今回の様な成績が望めるかは不確かであることがあげられる。しかし近年、人口知能（artificial intelligence: AI)が医療の様々な分野で応用されつつあり、消化器内視鏡診断の分野でも AI の活用が試みられている(El Hajjar et al., 2020; Horie et al., 2019; Zhu et al., 2019; Urban et al., 2018; Misawa et al., 2016)。実際、大腸内視鏡の領域ではECSにAIの機能を組み合わせた機器が開発され、多施設共同後ろ向き研究にて腺腫と非腺腫の鑑別診断能が極めて高いことが報告されており(Kudo T., 2017)、現在、同様の多施設共同前向き研究が進行中である。また、早期食道癌の領域においても ECS による超拡大画像に対して AI を用いて診断する後ろ向き研究が行われ、正診率90.9%と良好な成績が報告されている(Mori et al., 2016b; Kumagai et al., 2019)。将来、白色光、NBI 画像、超拡大観察像を総合的に診断できる AI 診断システムが開発されれば、内視鏡初学者においても本研究と同等の診断能が期待できると考える。

結論として、今回の前向き研究から、白色光、NBI観察にて食道腫瘍が疑われた病変に対するECSを用いた光学生検は実臨床に十分に応用可能であると考えられた。

なお、今後の展望についてであるが、以前にShimizuらはECS試作機を用い、表在型頭頸部扁平上皮癌を対象とした生体内細胞診断の有用性を報告した（Shimizu Y., 2013)。また、Inoueらは頭頸部癌内視鏡切除後の異時性多発頭頸部癌発症リスクを、頭頸部アルコール代謝遺伝子多型に基づき評価する、全国7施設（主幹施設：北海道大学病院）での多施設共同研究を行った（Inoue et al., 2021)。現在、同じ7施設による

頭頸部扁平上皮癌高リスク群患者を対象とした、ECS を用いた生体内組織診断能を評価する多施設前向き研究を計画中である。

結論

1）本研究では、以下の知見が得られた。

- 早期食道扁平上皮癌のハイリスク症例を対象に、食道腫瘍疑い病変に対する ECS による生体内組織診断能を検討する前向き研究を行った結果、評価可能な超拡大画像が得られた割合は 96.7%であり、評価不能症例を非正診例としても、感度 100%、特異度 94.2%、正診率 96.8% と、極めて良好な成績が得られた。
- 生体内組織診断で癌と診断され、切除された症例は、病理組織学的にも全て癌であった。
- 以上より、白色光、NBI 観察にて食道腫瘍が疑われた病変に対する ECS を用いた光学生検は、実臨床に十分に応用可能であると考えられた。

2）本知見の臨床的意義であるが、研究終了後も申請者が所属する北海道大学消化器内科では、食道癌 ESD 後異時性多発癌症例の多くは、内視鏡発見時に生検を行わずに ESD 予定としている。これにより病理診断に要する時間を無くし、治療開始までの期間を短縮することができている。今後、国内、国外の学会や学術誌、講演等で発信を続けることにより、このような方法が一般の消化器内視鏡医の間に広まり、標準的診断法・治療法となっていくことが期待される。

3）本研究から得られた新知見から展開されうる研究であるが、同手法を用いた、よりエビデンスレベルの高い、多施設前向き研究を検討中である。また、前述したように頭頸部扁平上皮癌高リスク群患者を対象とした、ECS を用いた頭頸部病変に対する生体内組織診断能を評価する多施設前向き研究を計画中である。今後は ECS 診断技術をより普遍化させるべく、食道腫瘍疑い病変の白色光、NBI 画像、超拡大観察像を総合的に診断できる AI 診断システム開発に関する研究も検討すべきと考える。

4）今後の課題であるが、本研究の非正診例の原因となった、染色により病変が不明瞭となり、超拡大観察像が得られなくなる事態をいかに少なくするかである。内視鏡操作技術で克服できる問題ではないため、色調の薄い染色方法、つまり染色液散布後も病変を視認でき、かつ細胞質と細胞核が十分に染色される染色方法の開発が望まれる。この点についても病理組織学系、生化学系の研究者と協力した研究が必要であると考える。

謝辞

本研究の機会を与えて下さった、北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室　坂本直哉教授に深く感謝申し上げます。

また、このような研究を遂行する貴重な機会を与えていただき、研究方法の指導から論文作成まで、御指導・御支援を賜りました、北海道医療センター　内科系診療部長・消化器センター長　清水勇一先生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。

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恵佑会札幌病院　内科・消化器内科　高橋宏明先生、岡原聡先生、札幌医科大学大学附属病院消化器内科学講座　三宅高和先生、札幌厚生病院　病理診断科　市原真先生に深く御礼申し上げます。

2021 年 11 月
霜田　佳彦

利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

Abad, M.R.A., Shimamura, Y., Fujiyoshi, Y., Seewald, S., Inoue, H. (2020). Endocytoscopy: technology and clinical application in upper gastrointestinal tract. Transl Gastroenterol Hepatol. *5*, 28.

Dixon, M.F. (2002). Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. Gut. *51*, 130-1.

El, Hajjar, A., Rey, J.F. (2020). Artificial intelligence in gastrointestinal endoscopy: general overview. Chin Med J (Engl). *133*, 326-334.

Gabbert, H.E., Shimoda, T., Mainault, P., et al.(2000) Squamous cell carcinoma of the esophagus. Pathology and genesis: Tumor of the digestive system. WHO classification of tumours.11-19: 2000

Goda, K., Dobashi, A., Yoshimura, N., Aihara, H., Kato, M., Sumiyama, K., Toyoizumi, H., Kato, T., Saijo, H., Ikegami, M., et al. (2016). Dual-focus versus conventional magnification endoscopy for the diagnosis of superficial squamous neoplasms in the pharynx and esophagus: a randomized trial. Endoscopy. *48*, 321-9.

Horie, Y., Yoshio, T., Aoyama, K., Yoshimizu, S., Horiuchi, Y., Ishiyama, A., Hirasawa, T., Tsuchida, T., Ozawa, T., Ishihara, S., et al. (2019). Diagnostic outcomes of esophageal cancer by artificial intelligence using convolutional neural networks. Gastrointest Endosc. *89*, 25-32.

Inoue, H., Sasajima, K., Kaga, M., Sugaya, S., Sato, Y., Wada, Y., Inui, M., Satodate, H., Kudo, SE., Kimura, S., et al. (2006) Endoscopic in vivo evaluation of tissue atypia in the esophagus using a newly designed integrated endocytoscope: a pilot trial. Endoscopy. *38*, 891-5.

Inoue, M., Shimizu, Y., Taniguchi, M., Kimura, Y., Furuhashi, H., Dobashi, A., Ikeya, T., Goda, K., Kato, M., Kato, M., et al. (2021). Evaluation of the risk of metachronous multiple squamous cell carcinoma of the head and neck after transoral surgery based on the genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase 1B and aldehyde dehydrogenase 2. Carcinogenesis, *42*, 1232–1238.

Kataoka, S., Kudo, SE., Misawa, M., Nakamura, H., Takeda, K., Toyoshima, N., Mori, Y.,

Ogata, N., Kudo, T., Hisayuki, T., et al. (2020). Endocytoscopy with NBI has the potential to correctly diagnose diminutive colorectal polyps that are difficult to diagnose using conventional NBI. Endosc Int Open. *8*, E360-E367.

Katada, C., Yokoyama, T., Yano, T., Kaneko, K., Oda, I., Shimizu, Y., Doyama, H., Koike, T., Takizawa, K., Hirao, M. (2016). Alcohol Consumption and Multiple Dysplastic Lesions Increase Risk of Squamous Cell Carcinoma in the Esophagus, Head, and Neck. Gastroenterology. *151*, 860-869.

Kudo, T., Kudo, S.E., 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.

Kumagai, Y., Higashi, M., Muramatsu, S., Mochiki, E., Ishida, H. (2020a). Endocytoscopic Observation of Non-Ampullary Mucosal Duodenal Cancer. Case Rep Gastroenterol. *14*, 156-164.

Kumagai, Y., Takubo, K., Kawada, K., Aoyama, K., Endo, Y., Ozawa, T., Hirasawa, T., Yoshio, T., Ishihara, S., Fujishiro, M., et al. (2019). Diagnosis using deep-learning artificial intelligence based on the endocytoscopic observation of the esophagus. Esophagus : official journal of the Japan Esophageal Society. *16*, 180–187.

Kumagai, Y., Takubo, K., Kawada, K., Higashi, M., Ishiguro, T., Sobajima, J., Fukuchi, M., Ishibashi, KI., Mochiki, E., Aida, J., Kawano, T., et al. (2017). A newly developed continuous zoom-focus endocytoscope. Endoscopy. *49*, 176-180.

Kumagai, Y., Yamamoto, E., Higashi, M., Ishiguro, T., Hatano, S., Toyomasu, Y., Amano, K., Suzuki, O., Ishibashi, K.I., Mochiki, E., et al. (2020b). Endocytoscopic observation with methylene blue staining for duodenal neoplasms associated with familial adenomatous polyposis. Sci Rep. *10*, 19221.

Liu, M., Zhou, R., Guo, C., Xu, R., Liu, A., Yang, H., Li, F., Duan, L., Shen, L., Wu, Q., et al. (2021). Size of Lugol-unstained lesions as a predictor for risk of progression in premalignant lesions of the esophagus. Gastrointest Endosc. *93*, 1065-1073.

Minami, H., Inoue, H., Yokoyama, A., Ikeda, H., Satodate, H., Hamatani, S., Haji, A., Kudo, S. (2012). Recent advancement of observing living cells in the esophagus using CM double staining: endocytoscopic atypia classification. Dis Esophagus. *25*, 235-41.

Misawa, M., Kudo, S. E., Mori, Y., Nakamura, H., Kataoka, S., Maeda, Y., Kudo, T., Hayashi, T., Wakamura, K., Miyachi, H., et al. (2016). Characterization of Colorectal Lesions Using a Computer-Aided Diagnostic System for Narrow-Band Imaging Endocytoscopy. Gastroenterology. *150*, 1531–1532.

Mori, Y., Kudo, S., Ikehara, N., Wakamura, K., Wada, Y., Kutsukawa, M., Misawa, M., Kudo, T., Kobayashi, Y., Miyachi, H., et al. (2013). Comprehensive diagnostic ability of endocytoscopy compared with biopsy for colorectal neoplasms: a prospective randomized noninferiority trial. Endoscopy. *45*, 98-105.

Mori, Y., Kudo, SE., Ogawa, Y., Wakamura, K., Kudo, T., Misawa, M., Hayashi, T., Katagiri, A., Miyachi, H., Inoue, H., et al. (2016). Diagnosis of sessile serrated adenomas/polyps using endocytoscopy (with videos). Dig Endosc. *28*, 43-8.

Mori, Y., Kudo, S. E., Chiu, P. W., Singh, R., Misawa, M., Wakamura, K., Kudo, T., Hayashi, T., Katagiri, A., Miyachi, H., et al. (2016b). Impact of an automated system for endocytoscopic diagnosis of small colorectal lesions: an international web-based study. Endoscopy. *48*, 1110–1118.

Nagai, K., Ishihara, R., Ishiguro, S., Ohta, T., Kanzaki, H., Yamashina, T., Aoi, K., Matsuura, N., Ito, T., Fujii, M., et al. (2014). Endoscopic optical diagnosis provides high diagnostic accuracy of esophageal squamous cell carcinoma. BMC Gastroenterol. *14*, 141.

Nagami, Y., Tominaga, K., Machida, H., Nakatani, M., Kameda, N., Sugimori, S., Okazaki, H., Tanigawa, T., Yamagami, H., Kubo, N., et al. (2014). Usefulness of non-magnifying narrow-band imaging in screening of early esophageal squamous cell carcinoma: a prospective comparative study using propensity score matching. Am J Gastroenterol. *109*, 845-54.

Schlemper, R.J., Dawsey, S.M., Itabashi, M., Iwashita, A., Kato, Y., Koike, M., Lewin, K.J.,

Riddell, R.H., Shimoda, T., Sipponen, P., et al. (2000). Differences in diagnostic criteria for esophageal squamous cell carcinoma between Japanese and Western pathologists. Cancer. *88*, 996-1006.

Shimizu, Y., Kato, M., Yamamoto, J., Ono, Y., Katsurada, T., Ono, S., Mori, Y., Nakagawa, M., Nakagawa, S., Itoh, T., et al. (2006). Histologic results of EMR for esophageal lesions diagnosed as high-grade intraepithelial squamous neoplasia by endoscopic biopsy. Gastrointest Endosc. *63*, 16-21.

Shimizu, Y., Takahashi, M., Yoshida, T., Ono, S., Mabe, K., Kato, 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 (with video). Gastrointestinal endoscopy, *78*, 351–358.

Shimizu, Y., Yoshida, T., Kato, M., Hirota, J., Ono, S., Nakagawa, M., Kobayashi, T., Kubota, K., Asaka, M.(2010). Low-grade dysplasia component in early invasive squamous cell carcinoma of the esophagus. J Gastroenterol Hepatol. *25*, 314-8.

Takahashi, M., Shimizu, Y., Ono, M., Suzuki, M., Omori, S., Yoshida, T., Mori, Y., Nakagawa, M., Ono, S., Nakagawa, S., et al. (2014). Endoscopic diagnosis of early neoplasia of the esophagus with narrow band imaging: correlations among background coloration and iodine staining findings. J Gastroenterol Hepatol. *29*, 762-8.

Urban, G., Tripathi, P., Alkayali, T., Mittal, M., Jalali, F., Karnes, W., & Baldi, P. (2018). Deep Learning Localizes and Identifies Polyps in Real Time With 96% Accuracy in Screening Colonoscopy. Gastroenterology. *155*, 1069–1078.

Yokoyama, A., Ohmori, T., Makuuchi, H., Maruyama, K., Okuyama, K., Takahashi, H., Yokoyama, T., Yoshino, K., Hayashida, M., Ishii, H. (1995). Successful screening for early esophageal cancer in alcoholics using endoscopy and mucosa iodine staining. Cancer. *76*, 928-34.

Zhu, Y., Wang, Q.C., Xu, M.D., Zhang, Z., Cheng, J., Zhong, Y.S., Zhang, Y.Q., Chen, W.F., Yao, L.Q., Zhou, P.H., et al. (2019). Application of convolutional neural network in the

diagnosis of the invasion depth of gastric cancer based on conventional endoscopy. Gastrointest Endosc. *89*, 806-815.

日本食道学会. (2015). 臨床・病理　食道癌取り扱い規約第 11 版, 非特定非営利活動法人　日本食道学会編. (東京,日本 : 金原出版株式会社).