HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	表在性非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍(superficial non-ampullary duodenal epithelial tumors：SNADETs)のエンドサイトスコピー画像のコンピューター解析と治療介入のためのアルゴリズム構築［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	久保, 茉理奈
Description	配架番号：2798
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15572号
Issue Date	2023-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90401
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	KUBO_Marina_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　久保　茉理奈

学 位 論 文 題 名

表在性非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍(superficial non-ampullary duodenal epithelial tumors：SNADETs)のエンドサイトスコピー画像のコンピューター解析と治療介入のためのアルゴリズム構築
(Computer analysis of endocytoscopic images of superficial non-ampullary duodenal epithelial tumors and establish of algorithm for therapeutic intervention)

【背景と目的】表在性非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍（superficial non-ampullary duodenal epithelial tumors: SNADETs）は近年内視鏡技術の進歩と疾患の認識の高まりにより、偶発的に発見される機会が増えている。SNADETs に対する治療は転移がない場合は外科的または内視鏡的切除が行われる。SNADETs に対する外科切除術は非常に高侵襲であり、低侵襲な治療として内視鏡切除が増加している。しかし、十二指腸は他の消化管と比べて内視鏡の操作性が悪く、筋層が菲薄であるため穿孔のリスクが高い。さらに、内視鏡治療前の生検は粘膜下層に線維化を起こし、内視鏡治療をより困難にする。そのため近年は内視鏡的に悪性度を評価する光学的生検が重要視され、治療の適応は慎重に判断される。SNADETs の内視鏡診断は他の消化管上皮性腫瘍に比べ難しく、その診断方法は確立していない。エンドサイトスコピー（Endocytoscopy: ECS）は通常観察、拡大観察（85 倍）に加え、最大倍率 520 倍の超拡大観察が施行できる内視鏡である。SNADETs の ECS 診断については既報もあるが、術者の主観によるところが大きく、客観的な診断基準には基づいていない。本研究の目的は、SNADETs の ECS 画像と病理組織像をコンピューター解析し、その相関を明らかにすること、さらに SNADETs の治療適応を判断するための客観的で組織学的裏付けに基づいた ECS 診断アルゴリズムを作成することである。

【対象と方法】対象は北海道大学病院消化器内科において、2017 年 1 月から 2021 年 7 月の間に SNADETs を疑われあるいはその精査目的に当院で ECS を含めた上部消化管内視鏡検査および病理組織学検査を受けたものを対象とした。内視鏡は GIF-H290EC および GIF-Y0074（オリンパスメディカルシステムズ社、東京）を使用した。内視鏡検査は内視鏡経験年数が 6～24 年の 10 名の医師が実施した。SNADETs を疑う病変に対し、白色光観察と狭帯域光拡大観察を行い、次に 1%メチレンブルーと 0.05%クリスタルバイオレットで二重染色を行った。病変の中心部または最も異型度が高いと考えられる部分に対し ECS 観察を施行した。通常観察で 20 mm を超える病変、陥凹面に不整がある病変、拡大観察で微細表面構造や微小血管の高度不整がある場合、ECS 観察で腺管構造の高度不整や核の円形化や大小不同を認めた場合は高異型度腺腫（high grade adenoma: HGA）または癌疑いであり治療が行われ、上記の所見を認めない病変には生検が施行された。匿名化された ECS 画像から、最も異型度が高いと予想される部位の画像を 1 病変に対し 1 画像選択した。染色不良な画像は検討から除外した。ECS 画像のコンピューター解析には ImageJ v1.53c (SAS Institute Inc., North Carolina, United States）を用いた。まず、ECS 画像を 8bit のグレースケール画像に変換し、腺管数を計測した。8bit のグレースケール画像からメチレンブルー濃染域（Densely stained area with methylene blue: DSM）が選択されるように二値化を行った。DSM の面積と個数についてコンピューターで自動計測を行った。病理組織画像は、Hematoxylin-Eosin（HE）染色のプレパラートで最も異型度が高いと思われる箇所を 400 倍で顕微鏡写真を撮影し、画像を保存した。ECS では組織の表層から 50 μm の範囲を観察できるため、病理組織表層から 50 μm にみられた腺管数をカウントし、核の数・面積を自動計測した。ECS 画像と病理組織画像について、腺管数および DSM と核の相関について解析した。最終病理診断別に非腫瘍は Vienna classification (VCL) category1 (C1)、LGA は C3、HGA および癌は C4/5 の 3 群にわけて、ECS における 1 mm^2 あたりの腺管数、ECS における

1 mm² あたりの DSM 個数、ECS における 1 画面あたりの DSM の割合について解析した。解析結果から対数尤度に基づいた決定木解析により、SNADETs の治療適応を判断するための ECS 診断アルゴリズムを作成した。

【結果】70 症例を解析し病理診断は 13 例が C1、12 例が C3、45 例が C4/5 であった。病変長径中央値（四分位範囲）は C1 で 5 (3-10) mm、C3 で 6 (5-11.5) mm、C4/5 10 (5-12.5) mm であった。ECS に伴う合併症は認めなかった。内視鏡治療後の出血はいずれの群でも見られず、穿孔を内視鏡的粘膜下層剥離術症例で 1 例認めた。

ECS 画像と病理画像の 1 mm² あたりの腺管数の相関について強い相関を認めた（ρ 0.64、P< 0.001)。ECS 画像における 1 mm² あたりの DSM 個数と病理画像における 1 mm² あたりの核個数の相関について、両者の相関は弱かった（ρ 0.04、P= 0.72)。ECS 画像 1 mm² あたりの腺管数中央値(個）については C1 で 18.8 (13.5 – 34.0) 個、C3 で 60.4 (31.3 – 105) 個、C4/5 で 125 (56.2 – 220) 個であり、すべての群間で有意差を認めた（P< 0.001）。ECS 画像 1 mm² あたりの DSM 中央値(個）は、(IQR) は、C1 で 961 (712 – 1693) 個、C3 で 1943 (1075 – 2522) 個、C4/5 で 2507 (1494 – 4006) 個であり、C1 と C3、および C1 と C4/5 の間で有意差を認めた（P= 0.001)。ECS 画像 1 画面あたりの DSM の割合中央値（IQR）については C1 で 6.75 (3.69 – 10.8) %、C3 で 10.1 (6.61 – 24.7) %、C4/5 で 21.7 (13.6 – 29.5) %であり、C1 と C4/5 で有意差を認めた（P= 0.002)。以上の結果より、治療介入を判断するための ECS 診断アルゴリズムを作成した。まず ECS 画像 1 mm² あたりの腺管数を 47 以上か 47 未満かで分け、さらに 1 画面あたりの DSM の割合によって分類し、C4/5 に該当する病変を治療適応とした。診断アルゴリズムの正診率は 87.1%、感度は 88.8%、特異度は 84%であり、ROC 曲線を描画すると AUC 0.89 であった。

【考察】SNADETs に対する内視鏡診断能の既報は散見されるが、判定基準は見本の画像分類を参考に診断者が判断する方法が一般的であり、術者の主観に基づいている。このような判定法はあいまいで再現性が乏しくあり、診断者間一致率も低い。本研究ではより客観的判断を用いることで判定者の主観を排除するために、コンピューター解析を行った。提唱した SNADETs の ECS 診断のためのアルゴリズムでは 1 mm² あたりに腺管数がいくつあるか、1 画面あたりに占める DSM の比率はいくらかを算出し、客観的な数値で判断される点が既報と異なり、新規性がある。本研究で SNADETs の ECS 画像と病理組織画像を比較したところ、1 mm² あたりの腺管数では相関が強い結果となったが、1 mm² あたりの DSM と病理組織における核の数については相関が弱い結果となった。このことから、メチレンブルーは核だけでなく細胞質も濃染すると考えられた。SNADETs に対する ECS の内視鏡診断の正診率は既報では 72.1%から 92.9%であるが、いずれの報告でも、異型度の診断は ECS 像の核の大きさや形状、表面腺管構造の形状から判断されており、医師の主観的な診断に基づいたものである。ECS は簡便な機器である一方で高倍率での撮像と画像の読影には習熟を要するが、今回試みたコンピューター解析法では、腺管数や DSM の測定結果は客観的な指標であり、診断医の習熟度は診断に影響しにくいと考えられる。

【結論】SNADETs の ECS 画像をコンピューター解析し、病理組織像に裏付けられた客観的な指標による治療介入判断のための ECS 診断アルゴリズムを作成し得た。本研究で作成したアルゴリズムにより、今後 SNADETs に対する光学的生検はより現実的となった。