

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

肝内結石症分科会

分担研究報告書

発癌ワーキング

研究分担者 中沼 安二 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理 教授

研究要旨: 肝内結石症に発生する前癌・初期病変として平坦型と乳頭型の2種類がある。今回は、乳頭型病変(胆管内乳頭状腫瘍 IPNB)の病理学的意義を検討した。154例の胆管内発育型肝内胆管癌・乳頭型の胆道癌をの内126例が IPNB に相当した。126例中4例の背景病変は肝内結石症であった。内、6例が境界病変、43例が非浸潤性癌であり、77例が浸潤癌を伴う IPNB であった。肝内結石症の発癌機序で、平坦型に加え、乳頭状の IPNB が前癌・初期癌病変として重要と考えられた

共同研究者

海野 倫明 東北大学消化器外科学分野
正田 純一 筑波大学大学院人間総合科学研究科
田妻 進 広島大学大学院総合内科
本多 政夫 金沢大学医薬保健研究域保健学系
内山 和久 大阪医科大学一般・消化器外科学

A. 研究目的

本ワーキンググループでは、肝内結石症からの発癌機序の解明と早期診断を検討する。下記の如く年度毎に目標を掲げ、本年度(2年目)の目標を完結した。

- 1年目: 平坦型病変の検討と胆管癌の生化学的バイオマーカーの検討
- 2年目: 乳頭状病変の検討
- 3年目: 胆管癌の生化学的バイオマーカーの商品化の実現

肝内結石症は難治性疾患であり、特に悪性腫瘍、特に胆管癌の合併が大きな生命予後因子となっている。従来の研究から、肝内結石症に発生する胆管癌の初期病変として、平坦型の biliary intraepithelial neoplasm (BillIN) と乳頭状の intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPNB) が重要とされている。BillIN に関しては、2010年に肝臓病理医の先生が集まり、その診断基準の作成を試みて来た。一方、IPNB に関しては、従来から知られている胆管内発育型肝内胆管癌および乳頭型胆道癌との異同が常に問題となって来た。

そこで、今年度は、本研究班肝内結石症分科会の会員を含むハイボリュームの4つの病院で経験された胆管内発育型肝内胆管癌および乳頭型胆道癌を病理学的に検討し、IPNB との異同を調査した。

B. 研究方法

研究分担者の中沼が、東北大学消化器外科学教室、東京の癌センター病理部、九州大学病理学教室、東京女子医大の消化器病センター消化器外科学教室、それに金沢大学附属病院病理部を直接訪問し、以下の症例を検討した。症例登録がコンピューターでファイルされている症例で、胆管内発育型肝内胆管癌および乳頭

型胆道癌の外科的切除材料を、検討した。検討症例は154例であり、いずれも有用な臨床情報が検討可能であり、検体の肉眼所見および組織所見を、各施設の病理医あるいは臨床医と総合的に検討した。

C. 研究結果

1. 胆管内発育型肝内胆管癌および乳頭型胆道癌の外科的切除例は154例であり、その内126例が IPNB の診断基準を満たした。IPNB と診断されなかった症例は、病理学的に癌肉腫、低分化腺癌、管状腺癌、混合型肝癌の胆管癌成分、分類不能嚢胞腺癌など、28例であった。
2. IPNB と診断された126例を異型度に基づき分類すると、低異型度群(腺腫あるいは境界病変)が6例、高異型度群(非浸潤癌, in situ 癌)が43例、種々の浸潤癌を伴う群が77例であった。
3. 表現型からみた分類では、胆腺型が48例、胃型が30例、腸型が29例、オンコサイト型が19例であった。
4. 粘液過剰産生は、45例にみられ、殆どが肝門部胆管あるいは肝内大型胆管であり、肝外胆管では殆どみられなかった。
5. IPNB 内脱分化: 36例で胆管内で増殖している部位で、中等度以下の脱分化領域があり、胆管壁あるいは周囲への浸潤と相関した。
6. IPNB の肝内での局在を Table 1に示す。

Table 1. Main clinicopathological features of 126 cases of IPNB

Age (years)	67.2 ± 10.1 (range: 35-89)
Sex (male:female)	82:44
Main location of IPNB	
ILBD, of left lobe	48 cases (38.1% ^a)
ILBD, of right lobe	16 cases (12.7%)
ILBD, of caudate lobe	8 cases (6.3%)
Hilar bile ducts	15 cases (11.9%)
Biliary tract ^a	39 cases (31.0%)
Mucus hypersecretion	45 cases (35.7% ^c)

IPNB, intraductal papillary neoplasm of bile duct; ILBD, intrahepatic large bile ducts; a, excluding hilar bile duct; b, percentage of cases according to the location of IPNB along the biliary tree; c, percent of positive case

7. 組織像とその他の組織像との関連性を Table 2A に示す。

Table 2A. Histologic grades of IPNB and other pathologic factors

	Low grade IPNB	High grade IPNB	Invasive IPNB	
			total	(minimal ^a grossly ^a)
Number of cases	6 (4.8%) ^b	43 (34.1%)	77 (61.1%)	(50 27)
Phenotypes				
PB type	0 ^c	12	36	(22 14)
Intestinal type	2	10	17	(9 8)
Gastric type	4	12	14	(12 2)
Oncocytic type	0	9	10	(7 3)
Mucus hypersecretion ^d	4	21	20	(13 7)
Foci of de-differentiation ^e *	0	4	32	(20 12)
Luminal spread				
Limited	4	18	27	(16 11)
Moderate	1	11	27	(19 8)
Extensive	1	14	23	(15 8)

IPNB, intrahepatic papillary neoplasm of bile duct; PB type, pancreatobiliary type; a, degree of ductal and periductal invasion; b, proportion of IPNB cases according to histologic grade; c, number of cases; d, moderately differentiated adenocarcinoma; *p<0.01 (Spearman's correlation test)

8. 表現型とその他の組織像との関連性を Table 2B に示す。

Table 2B. Phenotypes of IPNB and other histologic factors

	Pancreatobiliary type	Intestinal type	Gastric type	Oncocytic type
Number of cases	48 (38.1%) ^a	29 (23.0%)	30 (23.8%)	19 (15.1%)
Histologic grades				
Low grade	0	2	4	0
High grade	12	10	12	9
Invasive:	36	17	14	10
minimal	22	9	12	7
grossly	14	8	2	3
Mucus hypersecretion	12 (25.0%) ^b	12 (41.3%)	16 (53.3%)	4 (21.0%)
Foci of de-differentiation	17 (35.4%) ^c	10 (34.5%)	4 (13.3%)	5 (26.3%)
Intraluminal spread				
Limited	21	8	15	5
Moderate	11	9	10	9
Extensive	16	12	5	5

IPNB, intrahepatic papillary neoplasm of bile duct; a, proportion(%) of cases according to predominant phenotype of IPNB; b, percentage of positive cases in each phenotype; c, percentage of positive cases in each phenotype

8. 背景疾患として、4例が肝内結石症、B型慢性肝炎が1例、PSCが1例、先天性肝線維症が2例で、残りの118例では明らかな先行病変は見出せなかった。

D. 考察

従来より、IPNBと胆管内発育型肝内胆管癌と乳頭状型胆道癌との異同が問題となっていた。いずれも胆管腔内あるいは胆道腔内での発育と特徴としており、従来、この問題を中心に検討した企画はなかった。今回、分担研究者の中沼が、5施設で切除された胆管内発育型肝内胆管癌および乳頭状型胆道癌の外科的切除例を検討した結果、多くの症例がIPNBと診断された。しかし、約20%の症例は、IPNB以外の診断であり、これらの鑑別が臨床的に重要と考えられた。

今回の126例のIPNBでは、従来報告されていたIPNBの特徴が追認された。さらに、今回の検討で、IPNBの内部に脱分化が発生し、さらに浸潤を開始し、低異型度のIPNB、高異型度のIPNB、そして浸潤性のIPNBへと進展することが明らかとなった。この型の胆管腫瘍は、結節浸潤型や腫瘤形成型の胆管癌、胆道癌とは異なる発癌機序で進展することが明らかとなっ

た。そして、背景の肝胆道疾患として、4例に肝内結石症が認められたので、肝内結石症からの発癌経路として、乳頭状の前癌病変が重要と考えられた。

E. 結論

管内発育型肝内胆管癌および乳頭状型胆道癌の多くは、IPNBと診断されることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

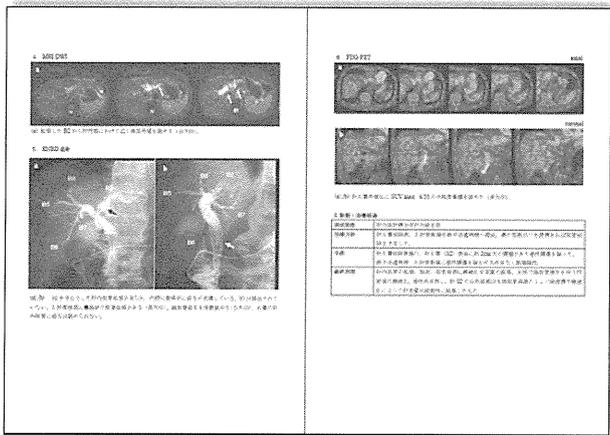
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



様々な画像診断を基に多角的かつ詳細に検討することが実臨床に有用な鑑別診断情報を提供できる唯一の方法と考えられた。前記の症例提示形式で肝内胆管癌合併肝内結石症例と非合併肝内結石症に対して行われた数多くの検査画像を掲載したアトラス作成を行う。また、手術症例においては病理マクロ像と各種画像診断を対比させて提示する。

E. 結 論

肝内胆管癌合併肝内結石症および肝内胆管癌非合併肝内結石症を対象としたアトラス作成を行うこととし、今年度その概要を確定した。2013年度中の出版予定で作業を進めている。

参考文献

1. 厚生労働省難治性肝・胆道疾患に関する調査研究班編集. 肝内結石症の診療ガイド 文光堂 東京 2011
2. 佐田尚宏. 画像WG報告-肝内結石症に合併する肝内胆管癌の診断-. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究 平成22年度総括・分担研究報告書. 162-163, 2011

F. 健康危険情報

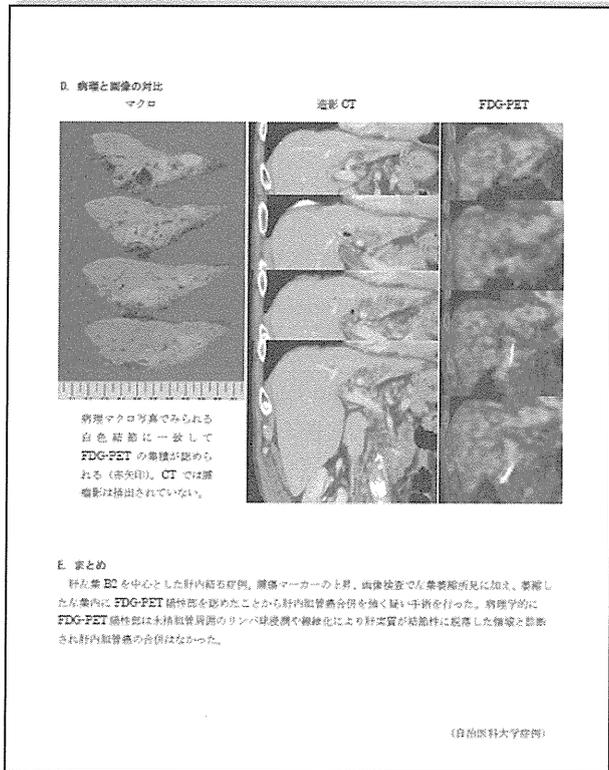
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) 小泉 大, 兼田裕司, 俵藤正信, 清水 敦, 佐田尚宏, 安田是和. 術中胆道損傷に対する胆嚢管切開による3管合流部アプローチを用いたCチューブドレナージ術. 手術 66:471-474, 2012
2. 学会発表
 - 1) 佐田尚宏, 小泉 大, 笹沼英紀. ワークショップ3「胆道癌のリスクファクター」肝内胆管癌合併肝内結石症のProfile調査. 第48回日本胆道学会 東京都 2012年9月21日(胆道26:367, 2012)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む.)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし



D. 考 察

これまでの検討で、肝内胆管癌合併症例の過半数(57%)はStage IVbで発見され、特に発見動機が腫瘤形成の例は予後不良である。腫瘤形成以前の発見が予後改善には不可欠と考えられるが、従来行われているERC, PTC(S)等のmodalityでは早期発見が困難で、新たな視点からの診断(break through)が必要と考えられた。その候補として空間分解能・時間分解能が飛躍的に進化したMD-CTや新たな視点から病変を指摘するFDG-PET, Diffusion MRIなどが有力であるが、これまでの検討では肝内胆管癌合併肝内結石症例は頻度が低く、これらの診断modalityのprofileを確定することは困難であった。今後の症例の蓄積が求められるが、肝内結石症に合併する肝内胆管癌を早期に診断するには、現時点では単一modalityによる画像診断に期待できないことから、1例1例の症例を

研究要旨：肝内結石症に対する手術療法の原則は結石の除去と胆汁鬱滞の解除であるが、何よりも再発の防止が肝要である。最も根治性のある治療として肝切除術があるが、現在の腹腔鏡の進歩に伴い、良性疾患である肝内結石症の肝切除にも応用されるべきと考えられる。今回、教室における完全腹腔鏡下肝切除術症例を従来の開腹例と比較検討した。

A. 研究目的

今回、左葉限局型肝内結石症に対して完全腹腔鏡下肝左葉切除を施行した。本来、肝内結石症は良性疾患であり、侵襲の少ないと考えられる治療法を導入すべきである。最近腹腔鏡下肝切除は保険収載され急速に普及しつつある手術である。しかし、腹腔鏡下肝切除は従来の開腹例に比較して果たして侵襲が少ないのか十分な検証が行われていない。

B. 研究方法

当科では過去6年に127例の腹腔鏡下肝切除術をしてきた。そのうち切除のみを小開腹で施行するなど補助のもの57例、すべての切除を腹腔内で行った症例は70例であった。そのうち、背景を統一するためにこの3年間に完全腹腔鏡肝切除が施行された腫瘍径が5cm以下の肝癌症例20例について、同様の条件の開腹手術例20例と比較検討した。

C. 研究結果

1. 手術因子について

手術時間は完全腹腔鏡204±107分、開腹238±93分と差がなかったが、出血量は130±222mlと406±409mlと完全腹腔鏡手術が有意に少なかった(p=0.013)。術後出血や胆汁漏、感染症などの合併症発症率は10.5%と25.0%と腹腔鏡で少ない傾向にあったが有意差はなかった。同様に、術後在院日数も完全腹腔鏡で11.9±12.1日、開腹14.3±11.1日と差はなかった。

2. 術翌日の血液データについて

血清 T-Bil は1.16±0.62mg/dl に対して、1.94±1.34 mg/dl と完全腹腔鏡例で有意に低値であった(p=0.026)。同様に白血球数8,756±3,031/μl に比較して11,043±3,160/μl と腹腔鏡で有意に低く、CRP も3.75±1.88mg/dl、5.54±2.22mg/dl と腹腔鏡症例で低値をとった。その他 GOT, GPT, アルブミン、血小板数、プロトロンビン時間などには差がなかった。

2. 単孔式肝切除の取り組みについて

我々は2009年6月より臍部1.5cm 切開のみの Glove-Port Technique による単孔式腹腔鏡下切除術を開始し、2012年末までに胆嚢摘出術235例、総胆管結石3例、胃固定術2例、リンパ節生検3例、虫垂切除術8例、肝腫瘍焼灼術2例、肝嚢胞開窓術4例、回盲部切

除術5例、捻転副脾切除術1例、さらに肝切除15例の計278例に施行した。

単孔式肝切除15例中8例は部分切除であるが、7例に外側区域切除を施行した。外側区域切除7例の疾患は転移性肝癌4例、原発性肝癌3例で、その手術時間は100-155分(中央値110分)で、出血量は平均50mlであった。

D. 考 察

腹腔鏡手術には、腹腔鏡補助下手術と完全腹腔鏡手術がある。従来、肝切除については脱転のみ腹腔鏡で施行し、脈管処理と肝切離については小開腹下に施行されることが多かった。しかし、最近では保険収載されたことに加えて、腹腔鏡手技の上達と、Device等の進歩により、すべての操作を腹腔内で行う完全腹腔鏡下切除が標準となってきた。とくに良性疾患である肝内結石は左葉限局型が多いことから、腹腔鏡下左葉切除の良い適応と考えられる。さらに結石が外側区域に限局する場合は、単孔による外側区域切除を適応することによりさらに侵襲を最小限に抑えられる可能性がある。

E. 結 論

今回の検討により腹腔鏡下肝切除は従来の開腹手術よりも安全に低侵襲で施行することが可能で、とくに結石の左葉限局型の多い肝内結石症に対しては完全肝左葉切除や単孔式外側区域切除の良い適応と考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu T, Uchiyama K, et al. Living-Donor Liver Transplantation From Donor With a Left-Sided Gallbladder With Portal Vein Anomaly. Transplantation 94(9): 60-61, 2012
2. Inoue Y, Uchiyama K, et al. Resection Margin with Anatomic or Nonanatomic Hepatectomy for Liver Metastasis from Colorectal Cancer. J. Gastrointest. Surg 16(6): 1171-1180, 2012

3. Yamamoto M, Uchiyama K, et al. Clinical outcomes of laparoscopic surgery for advanced transverse and descending colon:cancer:a single-center experience. Surg Endosc 26(6): 1566-1572, 2012
4. 内山和久：最新の肝癌手術 系統的肝切除のための工夫，大阪医科大学雑誌，2012；71：9-13.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

胆石症の手術既往を有する肝内結石症の検討

研究協力者 椰野 正人 名古屋大学大学院医学研究科腫瘍外科 教授

研究要旨：当科で過去13年間に治療を施行した肝内結石症は92例であり、うち8例が胆嚢摘出術もしくは胆嚢摘出術+総胆管切石術の既往を有していた。8例は男性5例、女性3例、平均年齢69歳であり、胆嚢摘出後平均11年経過して、肝内結石症に対し当科紹介となっている。治療法は肝切除2例、PTCS+肝切除2例、PTCS 3例、経過観察（本来は手術予定）1例であった。8例中、肝門部胆管癌を併発していた1例が癌死したが、肝門部胆管癌を併発していた1例および肝内結石症6例は治療後、胆管炎・肝内結石症の再発なく経過良好である。

共同研究者

菅原 元 名古屋大学大学院医学研究科外科感染症学
寄附講座講師

A. 研究目的

肝内結石症は良性疾患であるが、治療後も再発を繰り返すことが少なくない難治性疾患である。最近では過去に胆道系の手術既往がある症例に発症する二次性肝内結石症の報告も多く、診断・治療に苦慮する症例も少なからず存在する。今回、過去に胆石症の手術既往を有する肝内結石症手術症例を対象とし、その診断・治療について研究を行ったので報告する。

B. 研究方法

2000年1月より2012年12月までの13年間に、名古屋大学消化器外科Iで治療を施行した肝内結石症は92例であった。男性42例、女性50例であり、初診時の平均年齢は59歳（25-82歳）で、平均観察期間は5年（1-10年）であった。92例中22例（24%）に胆道系の悪性腫瘍を併発していた。そして92例中44例（48%）は、過去に肝胆道系の手術既往を有していた。今回、過去に胆石症の手術既往を有する肝内結石症手術症例を対象とし、これらの症例の詳細や、治療法、治療後の経過について検討した。

C. 研究結果

肝内結石症92例のなかで、過去の肝胆道系手術既往の内訳は、胆嚢摘出術5例、胆嚢摘出術+総胆管切石術3例、肝外胆管切除+胆管空腸吻合術22例、膵頭十二指腸切除7例、肝切除7例（うち胆道再建を伴う肝切除4例）である。以降は、胆石症に対し胆嚢摘出術および胆嚢摘出術+総胆管切石術を施行した8例を対象として検討を行う。

男性5例、女性3例であり、初診時の平均年齢は69歳（45-77歳）で、胆嚢摘出術施行後、肝内結石症の治療に対し当科紹介となるまでに平均11.5年（1-33年）経過していた。胆嚢結石の成分は紹介状に記載なく不明であった。紹介時に発熱・腹痛などの胆管炎様症状を呈していたものが5例で、残りの3例は肝内結石症に加え、胆道癌の存在が疑われての紹介であっ

た。結石の存在部位は肝内外型6例。肝内型2例であった。結石の存在する肝葉は左型4例、右型2例、両葉型2例であった。片葉の肝萎縮を4例に認め、肝硬変を1例に認めた。

診断はMDCTと直接胆道造影の所見、ERCを施行した症例ではIDUS、胆管生検の結果を総合して行った。8例中7例でERC、IDUS、胆管生検を施行している。1例を肝門部胆管癌と診断し手術予定とした。残りの7例を肝内結石症と診断し、結石が片葉にのみ存在し肝萎縮を認めた2例を手術予定とした。残る5例に対しては切石のためPTBDを留置し、PTCSを施行した。（今回の検討症例は当科で治療を施行した症例を対象としているので、当院消化器内科で経乳頭的に切石した症例は含まれていない。）切石終了後の生検で1例を肝門部胆管癌と診断し手術予定とした。3例は肝萎縮を認めず切石により治療終了とした。残る1例は肝萎縮を認めたので切石後に手術予定とした。

手術は肝右葉切除+尾状葉切除+肝外胆管切除を2例に、肝左葉切除+尾状葉切除+肝外胆管切除を1例に、肝左3区域切除+尾状葉切除+肝外胆管切除を1例に施行した。結石が片葉にのみ存在し肝萎縮を認めた1例は肝左葉切除+尾状葉切除を予定したが、麻酔導入後の抗菌薬投与により、ショック状態となったため手術を中止した。その後家族の希望で経過観察としている。診断・治療の流れを図1に示した。

治療後の経過は、肝門部胆管癌と診断された1例が癌死した。残りの7例は、胆管炎・肝内結石症の再発なく治療後の経過は良好である。

D. 考 察

近年生活様式の改善や、食生活の向上の影響で原発性肝内結石症の新規発症例は減少傾向にある。その結果、肝内結石症新規発症例における、胆道系手術既往を有する症例の相対的割合は増加傾向にある。とくに胆道再建を併施した症例で結石発症率が高い。当科で過去13年間に経験した肝内結石症92例中、33例（36%）が胆道再建の既往を有していた。今回の研究では胆道再建を施行していないが、胆道系の手術既往として胆嚢摘出ないし胆嚢摘出+総胆管切石術の既往

を有する8症例を取り上げた。これらの症例を明確に原発性と二次性に分類することは困難であるが、8例中2例は二次性肝内結石症と考えられた。1例は2年前の胆嚢摘出術中の胆道損傷に起因していると考えられ、もう1例は6年前の総胆管切石後の胆管狭窄に由来していると考えられた。胆嚢摘出に際し、総胆管や左右肝管に何らかの術中操作を加えた場合、将来遅発性の胆管狭窄や肝内結石症を発症する可能性を念頭に置いて、長期的な経過観察を行う必要がある。

診断に関しては、当科での胆道癌に対する診断方法と同様にMDCTと直接胆管造影所見をもとにして、鑑別診断を行っている。今回の症例は全例経乳頭的な検査が可能な症例であるので、7例でERC、IDUS、胆管生検を施行している。肝内結石と胆管腫瘍を鑑別する手段としてIDUSは優れた検査である。MDCTとERC、IDUS、胆管生検の結果、肝内結石症と診断した7例は、肝内結石症に対する治療を選択した。当科では結石が片葉に局在し、肝萎縮が存在する場合には原則として、萎縮肝葉を切除している。その際、肝門部胆管に狭窄を認めれば、肝門部胆管も切除・胆道再建を施行している。結石が両葉に存在する場合は、先ず切石を先行する。今回は経乳頭的な切石が不可能な症例を対象としているので、全例PTCSを施行した。PTCS終了後は胆管生検を施行し、良性疾患であることを確認している。生検の結果、肝内結石症と診断された場合、胆管狭窄や肝萎縮がなければ経過観察としている。肝萎縮を認める場合は、萎縮肝葉を切除

している。癌死した1例を除く7例は、胆管炎や肝内結石の再発なく社会復帰しており、胆嚢摘出術後の肝内結石症に対する、当科の治療方針は妥当なものと考えられた。

E. 結 論

胆嚢摘出術後に肝内結石症を発症する可能性があるため、総胆管や左右肝管に何らかの術中操作を加えた場合、術後の長期経過を注意深く観察する必要がある。肝内結石症と診断した場合、結石の局在、肝萎縮の有無、胆管狭窄の有無に配慮した治療を施行することで、良好な治療経過が得られた。

F. 健康危険情報

特になし

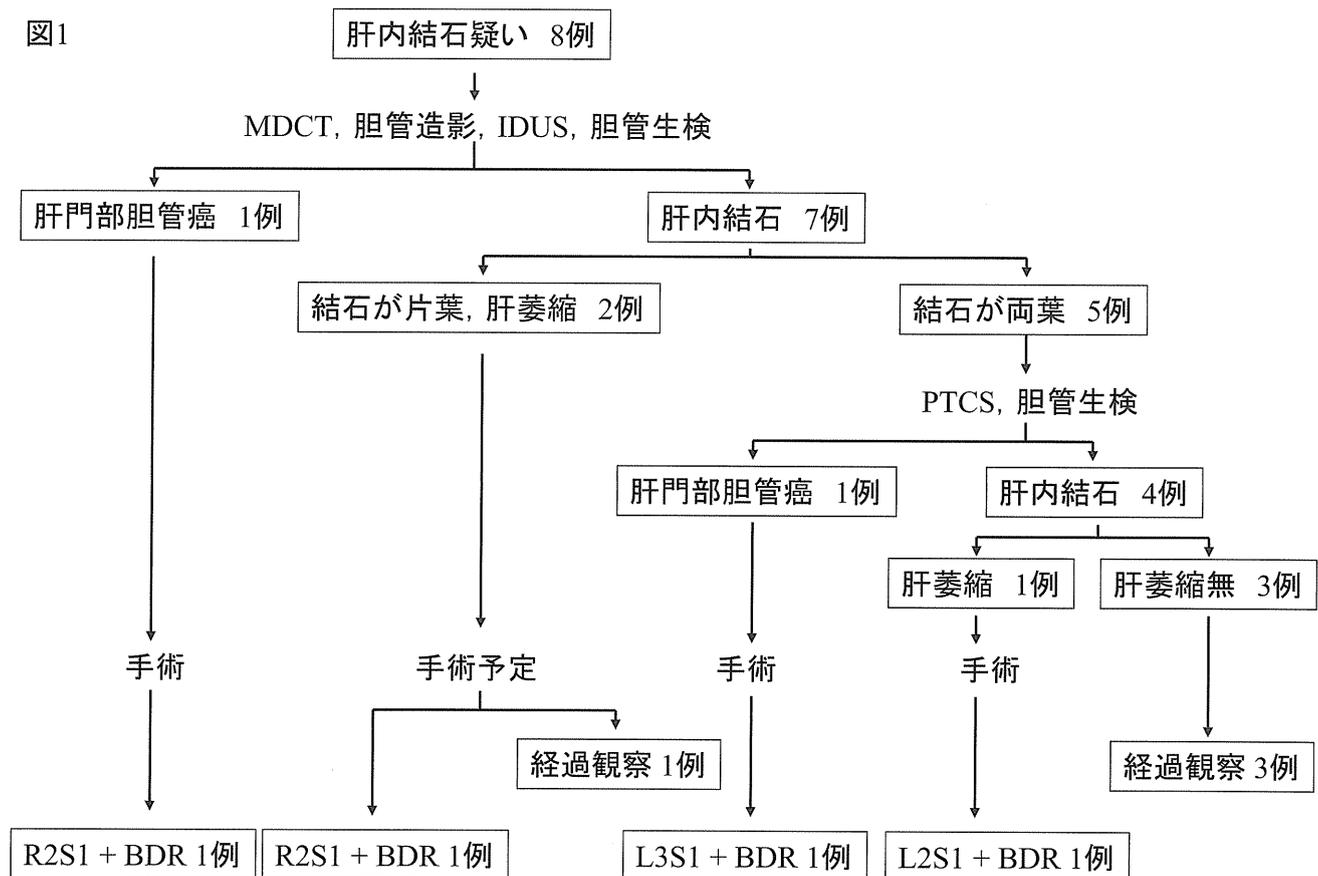
G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

図1



* R2S1+BDR; 肝右葉尾状葉切除+肝外胆管切除, L3S1; 肝左3区域尾状葉切除, L2S1; 肝左葉尾状葉切除

肝内胆管癌を併発した肝内結石症例の検討

研究協力者 八坂 貴宏 長崎県上五島病院 外科 院長

研究要旨: 肝内胆管癌を併発した肝内結石症例の検討を行い、その特徴を明らかにし、肝内結石症の診断並びに治療方針について考察した。癌の合併率は6.5%で、病型はLR型並びにIE・L型の症例で頻度が高かった。全例に肝葉萎縮を認め、萎縮肝が癌発生の母地になることが示唆された。既往手術では、截石術のみ並びに胆道再建術施行例で癌の併発率が高く、初回治療では正確な診断、適切な肝切除を選択すべきであり、胆道再建術は慎重に行うべきであると考えられた。定期的は術後観察を行っていても癌発生の早期診断は困難であり、今後新たな診断モダリティーの開発が待たれるところである。

A. 研究目的

肝内結石症は病悩期間が長い難治性の疾患で、経過中に肝内胆管癌を高率に発生することが報告されている。

今回、当院で経験した肝内胆管癌併発例の検討を行い、その特徴を明らかにし、癌発生の予測、診断並びに治療方針について考察した。

B. 研究方法

1982年1月から2012年12月までに当院で登録された肝内結石症は246例で、初診時あるいは経過中に肝内胆管癌を併発した症例は16例(6.5%)であった。

今回、これらの症例を対象として、疫学的、臨床的特徴(患者背景、住居地、病型、既往術式、観察期間、癌発生部位と結石の関係、腫瘍の形態、診断、治療法、予後など)について調査した。

なお、この他に、肝門部胆管癌3例、胆管癌4例胆嚢癌3例を認め、全胆道癌の合併は26例(10.6%)であった。

C. 研究結果

1. 患者背景

性別は男性8名、女性8名、結石診断時年齢は41~84歳(平均63.3歳)、癌診断時年齢は56~85歳(平均71.8歳)であった。生活環境は、いずれも島内の漁村で、一次産業従事者あるいはその家族であった。

2. 地域分布

島内の地区別の肝内結石症患者と癌併発患者の分布をみると、北部に多い傾向にあった。(図1)

3. 病型、肝葉萎縮

病型は、I型8例、IE型8例で、結石存在部位は、L型9例、R型1例、LR型6例であった。16例全例に肝葉萎縮を認めた。

肝内結石症全例の病型と癌の併発の病型を比較検討すると、LR型並びにIE・L型に癌の併発が多かった。(表1)

4. 既往術式

胆道系の手術既往は13例に認め、手術回数は1回7例、2回6例であった。最終の既往術式は、截石術のみ3例、截石+胆道再建術4例、外側区域切除術4例、

外側区域切除+胆道再建術1例、左葉切除+胆道再建術1例であった。

肝葉萎縮があり手術既往のある肝内結石症89例の最終既往術式と癌併発率を調べると、肝切除のみ8.2%、肝切除+胆道再建術13.3%、截石術のみ25.0%、截石術+胆道再建術30.8%で、截石術のみ並びに胆道再建術施行例で、癌の併発率が高かった。(表2)

5. 観察期間

初診時に癌と診断された2例を除く14例の観察期間は、14カ月から308カ月(平均135カ月)であった。観察期間別にみると、5から10年が5例(31.3%)、10年以上が6例(37.5%)であった。また、通院の有無では、9例(56.3%)が通院ありであったが、定期受診にも関わらず、癌の早期診断は困難であった。(表3)

6. 癌発生部位と腫瘍形態

癌の発生部位は外側区域6例、内側区域3例、左主肝管2例、前区域2例、後区域3例であった。

結石と癌との位置関係では、結石存在部位が11例、外側区域に結石があつて内側区域に発生したものが3例、左主肝管の狭窄部位に発生したものが2例であった。腫瘍形態は、胆管内発育型(乳頭型)2例、腫瘍形成型9例、浸潤型5例であった。(表4)

7. 術前診断、腫瘍マーカー陽性率

診断は、主にCT、MRIで行われたが、術前診断が可能なものは14例で、2例は術後の切除標本並びに病理所見で癌と診断されたものであった。腫瘍マーカーは、CEAが56.2%、CA19-9が81.3%で陽性であった。(表5)

8. 治療、予後

切除率は50%で、肝垂区域切除1例、区域切除3例、葉切除4例であった。治癒切除は4例で、そのうち2例は、3年、17年で生存、1例は13年で他病死、1例は16カ月で癌死した。非治癒切除例、切除不能例は、最長27カ月で全て死亡した。(表6)

D. 考察

肝内結石症は難治性の疾患であり、治療の経過中に肝内胆管癌を高率に発生することが知られている。今回肝内胆管癌の併発例について、その特徴を明らかに

するために、臨床的検討を行った。

癌の合併率は6.5%で、病型はLR型並びにIE・L型に癌の併発が多かった。16例全例に肝葉萎縮を認め、萎縮肝が癌発生の母地になることが示唆された。既往手術では、截石術のみ並びに胆道再建術施行例で癌の併発率が高く、初回治療で正確な診断、適切な肝切除を選択すべきで、胆道再建術は慎重に行うべきであると考えられた。

観察期間は10年以上の経過で癌と診断される症例も37.5%あり、上記既往手術の内容によっては、長期のフォローアップが必要であろう。

また、癌の発生部位は、11例が結石存在部位であったが、3例は外側区域切除後の結石のない内側区域に、2例は左主肝管の狭窄部位に発生しており、注意が必要である。

画像診断の発達にも関わらず、早期の癌診断は困難であり、切除後の標本で乳頭状癌と診断された2例を除いては5年以上の長期生存は得られておらず、予後は不良である。今後、新たな診断モダリティーの開発が待たれるところである。

E. 結 論

- 1) 肝葉萎縮を伴うような肝内結石症例では、肝内胆管癌併発の可能性を十分念頭において結石の存在部位診断を行い、肝切除を積極的に選択すべきである。
- 2) IE, LRあるいはL型の症例、截石術のみで経過観察されている症例、胆道再建手術症例は、術後に癌の発生を高率にみえており、厳重なフォローアップが必要である。
- 3) CA19-9の感度は80%と高かったが、画像診断で癌の合併を早期に診断することは困難であり、今後の新たな診断法の確立が必要とされる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

図1
肝内胆管癌患者
の地域分布

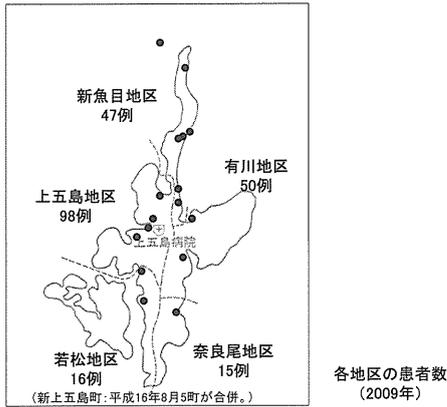


表1 肝内結石症の病型と肝内胆管癌の発生頻度

病型	L	R	LR	計
I	5/82 (6.1)	1/87 (1.1)	2/16 (12.5)	8/185 (4.3)
IE	4/38 (10.5)	0/9	4/14 (28.6)	8/61 (13.1)
計	9/120 (7.5)	1/96 (1.0)	6/30 (20.0)	16/246 (6.5)

表2 肝葉萎縮症例の既往術式と
肝内胆管癌の発生頻度

肝葉萎縮があり、手術既往のある肝内結石症: 89例	
最終既往術式	
肝切除術	4/49 (8.2)
肝切除術+胆道再建術	2/15 (13.3)
截石術	3/12 (25.0)
截石術+胆道再建術	4/13 (30.8)

(%)

表3 観察期間、通院の有無

観察期間	14ヶ月～308ヶ月 (平均135ヶ月)
初回治療時に癌と診断	2例
0～5年	3例
5～10年	5例 (31.3%)
10～20年	3例 (37.5%)
20～30年	3例
通院の有無	
初回治療時に癌と診断	2例
外来通院なし	5例
外来通院あり	9例 (56.3%)

表4 癌発生部位、結石との関係、腫瘍形態

癌発生部位 (主座)	左 外側区域 6 (S3:2, S2,3:4) 内側区域 3 左主肝管 2	右 前区域 2 (S5:1, S8:1) 後区域 3 (S6:3)
癌と結石の位置関係	結石の存在部位に発生 11 外側区域に結石、内側区域に発生 3 左主肝管狭窄部に発生 2	
腫瘍型	胆管内 2、腫瘍形成 9、浸潤型 5	
腫瘍径	1～10cm (平均4.6cm)	
個数	単発 12、多発 2	

表5 診断・腫瘍マーカー

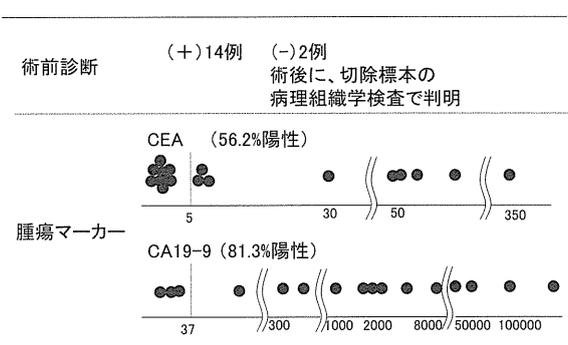


表6 治療、予後

治療 (術式)	(+)12例	切除術 8例	
		亜区域切除術 1	
		区域切除術 3	
		右、左葉切除術 4	
		その他 4例	
		試験開腹術 1	
	(-)4例	PTCDから内瘻化 3	
		無治療 4例	(生検のみ) (切除術率 50%)
予後	切除(+)	治癒切除 4	生存 2例 (3年、17年) 死亡 2例 (16カ月癌死、13年他病死)
		非治癒切除 4	死亡 4例 (5～27ヶ月)
	切除(-)		死亡 8例 (1～15ヶ月)

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

肝内胆管癌偽陽性症例の調査研究

研究協力者 森 俊幸 杏林大学医学部 消化器・一般外科学 教授

研究要旨：術前に肝内胆管癌を強く疑い手術を施行し、術後の最終病理診断で癌を認めなかった症例を「肝内胆管癌偽陽性症例」と定義し、その臨床病理像を検討する。肝内結石症を背景に発生する肝内胆管癌は診断が困難であり、時に上記の様な肝内胆管癌偽陽性症例に遭遇する。また肝内結石症を背景としない肝内胆管癌偽陽性症例も少数ながら存在する。これらの症例を検討することにより、肝内結石の炎症像や線維化の癌診断への影響を把握し、肝内結石症治療成績の改善を目指す。

A. 研究目的

肝内結石症の有無を問わず肝内胆管癌偽陽性症例の臨床病理像を検討し、肝内結石の有無による炎症像や線維化、過形成、腺腫等の相違・特徴を把握することによって、肝内結石症を背景として発生する肝内胆管癌診断精度の向上をはかり、肝内結石症の治療成績改善を目指す。

B. 研究方法

厚生労働省難治性肝・胆道疾患に関する調査研究班肝内結石症分科会所属施設、及び日本胆道学会評議員所属施設を対象施設とし、肝内胆管癌偽陽性症例の詳細な臨床病理像に関する個別調査を行う。調査項目は、患者背景（年齢、性別、居住地、嗜好、既往歴）、肝内結石の有無・病状（診断日、臨床症状、分類（IE分類、LR分類）、胆管狭窄・拡張、肝萎縮の部位、結石種類）、合併症、術前肝内胆管癌診断根拠（画像・病理）、術式、病理像、治療後の症状、転帰。非肝内結石症例においても、結石に関する項目を除き同様の調査を行う。

これらの症例を比較検討し、肝内胆管癌偽陽性症例の特徴を把握する。

(倫理面への配慮)

本研究は後ろ向き観察研究であり被験者において健康被害が生ずることはないが、個人情報や情報開示に関する問題を抱えているため、説明文書作成し、被験者に対してインフォームド・コンセントを常に行える体制を整え、自由意思の確保を最優先する。

C. 研究結果

現在未始動のため特記事項ありません。

D. 考察

同上

E. 結論

同上

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

無症状肝内結石症

研究協力者 露口 利夫 千葉大学大学院医学研究院消化器・腎臓内科学 講師

研究要旨： 検診などで偶然に指摘された無症状肝内結石症の長期予後を解析し、手術や内視鏡的治療などの介入が必要かどうかを検討した。1980年より2012年まで当科で経験した125例の肝内結石症のうち初診時に無症状であった43例を対象とした。男女比20対23，平均年齢57.3歳，平均観察期間は11.1年 (0.6-25.1年)。治療介入例は ERCP 3 例，経口胆道鏡 6 例，経皮経肝胆道鏡 1 例の10例のみであった。胆管炎を 3 例に認めたが死亡例は他病死 3 例のみであった。胆道再建術の有無のみが log-rank 検定で有意 ($p=0.004$) であり，Cox 回帰分析でも有意差を認めた (Hazard ratio 1.9, 95%CI:1.2-333.3, $p=0.039$)。無症状肝内結石症の長期予後は概ね良好であった。胆道再建術例では胆管炎のリスクが高く慎重な経過観察が必要であると考えられた。

A. 研究目的

胆石症ガイドラインにおいて無症状胆嚢結石症は経過観察可能とされており，治療介入は推奨されていない。一方，検診や他疾患精査中に偶然発見された無症状肝内結石症の取り扱いについてはこれまでまとまった報告がない。そこで当科で経験した初診时无症状肝内結石症についてその長期予後を解析し，治療介入の必要性について検討した。

B. 研究方法

1980年1月より2012年12月まで当科で経験した125例の肝内結石症のうち初診時に無症状であった43例を対象とした。男女比20対23，平均年齢57.3歳，平均観察期間は11.1年 (0.6-25.1年)。原発性対2次性は37対6，主肝管型 (左右肝管もしくは2次分枝に結石あり，以下 M 型と略) 対末梢肝管型 (以下 P 型と略) は10対33，左葉型対その他の型 (両葉，右葉型) は32対11，胆道再建術あり対なしは3対40であった。胆道再建術例の背景疾患はいずれも先天性胆道拡張症術後であった。

C. 研究結果

治療介入は10例に行われ，その内訳は ERCP 3 例，経口胆道鏡 6 例，経皮経肝胆道鏡 1 例であった。無症状例に治療介入を行った理由は合併する総胆管結石に対する治療 3 例，左右肝管に結石が存在する M 型の結石 7 例であった。治療介入に伴う重篤な合併症は認めなかった。経過観察中に急性胆管炎を 3 例 (7.0%) に認めた。死亡例は 3 例認めたがいずれも他病死であった。胆道再建の有無 (図 1)，M 型と P 型 (図 2)，原発性と 2 次性，左葉型とそれ以外の型で胆管炎を評価項目として Kaplan-Meier 法により解析した。Log-Rank 検定ではそれぞれ $p=0.004$ ， 0.078 ， 0.101 ， 0.385 であり，胆道再建の有無のみ有意差を認めた。

Cox 回帰分析によって上記 4 因子の多変量解析を行ったところ，胆道再建術有りが Hazard ratio 1.9 (95%CI: 1.2-333.3, $p=0.039$) で有意な危険因子であった。

図 1 胆道再建の有無 (1 : 有り, 0 : 無し)

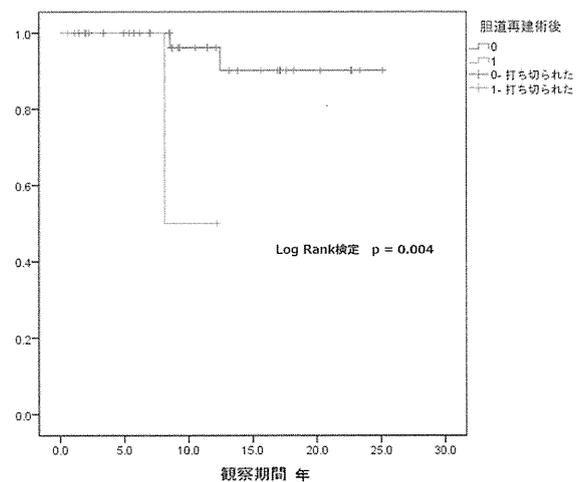
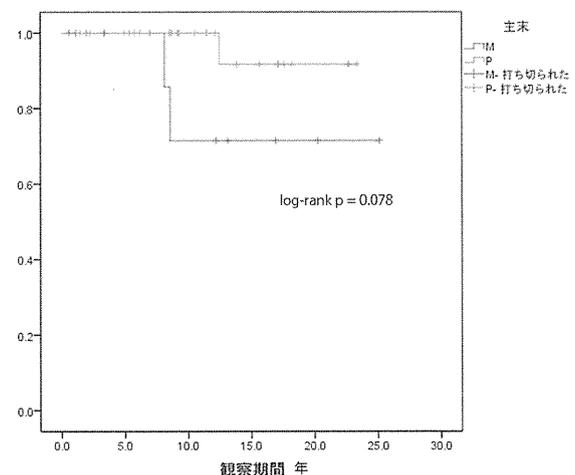


図 2 主肝管型 (M) と末梢肝管型 (P) の比較



D. 考 察

画像診断の普及に伴い silent stone と呼ばれる無症状の胆嚢結石症が診断されるようになったが，積極的治療介入は行わず経過観察が妥当とされている。同様に他疾患の精査中などに偶然に発見された無症状肝内結石症は経過観察が妥当かどうかその実態は明らかに

されていない。無症状例の背景は通常の肝内結石症と大きな差はないが末梢肝管に限局する例を多く認めた(33/43, 77%)。末梢肝管における胆管炎は区域性であり全身的な臨床症状を来しにくいことが無症状である理由の一つと考えられる。また、経過観察中の胆石関連事象は急性胆管炎3例を認めたのみであり、胆道癌発症例はなかった。胆管炎の危険因子は胆道再建術後のみであり、その背景疾患は全て先天性胆道拡張症であった。先天性胆道拡張症は肝内胆管拡張を伴うことが多く吻合部狭窄の有無を問わず結石形成をきたしやすく胆管炎を生じやすい。この点を踏まえると無症状肝内結石症は通常は経過観察が妥当であるが、背景疾患として胆道再建術後が存在する場合には積極的治療介入や綿密な経過観察をするべきであると考えられる。

E. 結 論

無症状肝内結石症の予後は概ね良好であり、経過観察が妥当であった。胆道再建術後例（先天性胆道拡張症術後）は胆管炎の危険因子であり、治療介入が必要となる可能性が高い。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tsuyuguchi T, Sugiyama H, Sakai Y, Nishikawa T, Yokosuka O, Mayumi T et al: Prognostic factors of acute cholangitis in cases managed using the Tokyo Guidelines. J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2012; 19: 557-565.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

胆管周囲付属腺の上皮層内増殖性病変に関する病理学的検討

研究分担者 中沼 安二 金沢大学医学系研究科 形態機能病理学 教授

研究要旨：肝内結石症における多段階発癌の前癌病変の一つとして胆管内乳頭状腫瘍（IPNB）がある。IPNBはまれに胆管周囲付属腺に病変の主座を置くことがあり、こうした症例をわれわれは「分枝型 IPNB」と呼ぶことを提唱している。胆管周囲付属腺には、嚢胞状拡張を伴う顕微鏡的な上皮の微小乳頭状の増生病変（cystic-micropapillary lesion）を認めることがあるが、今回、同病変の病理組織学的な特徴を検討した。病理解剖938症例を対象とした検討で、cystic-micropapillary lesionを9例（1%）に認めた。病理組織学的に、cystic-micropapillary lesionは上皮の粘液産生が豊富で、免疫染色ではMUC5AC（胃型ムチン）やcyclin D1, S100Pを高頻度に発現した。この上皮の性質は、膵臓の分枝型 IPMN（多くは gastric type）によく類似していた。Cystic-micropapillary lesionは腫瘍性の性格を有し、われわれが提唱する「分枝型 IPNB」や肝門部領域胆管癌の前駆病変である可能性が示唆された。

A. 研究目的

肝内結石症では5%前後の症例に胆管癌を合併する。胆管上皮細胞の傷害に伴う多段階発癌の前癌/早期癌病変として胆管内乳頭状腫瘍（intraductal papillary neoplasm of the bile duct, IPNB）と胆管上皮層内腫瘍（biliary intraepithelial neoplasia, BilIN）が知られており、これまでにわれわれはIPNBとBilINを対象とした検討を行ってきた。

肝内結石症では胆管周囲付属腺の増生を伴った慢性増殖性胆管炎をしばしば認める。近年、胆管周囲付属腺には多分化能を有するstem/progenitor cellが存在し、傍肝門胆管癌を含めた腫瘍発生との関連が注目されている。

IPNBではまれに胆管周囲付属腺に病変の主座を置く症例が経験され、最近、われわれはこうした病変を膵臓の分枝型 IPMNとの対比から「分枝型 IPNB」と呼ぶことを提唱した（Nakanuma Y. et al. Hepatology 2012）。

外科材料や病理解剖例の肝門部組織を病理組織学的に観察すると、胆管周囲付属腺には嚢胞状の拡張がしばしばみられ、それとともに偶発的に顕微鏡的な微小乳頭状の上皮の増生病変を認めることが経験される。こうした病変の中に分枝型 IPNBの前駆病変など、腫瘍性病変が存在する可能性があるが、同病変の病理組織学的な特徴はこれまで検討されていない。

今回、胆管周囲付属腺にみられる嚢胞状拡張を伴う上皮の微小乳頭状の増生病変の病理組織学的な特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

当教室で1972年から2012年に行った病理解剖938症例を対象とした。肝門部の組織プレパラートを観察し、胆管周囲付属腺の嚢胞状拡張と上皮の微小乳頭状病変を認める症例（以下、同病変をcystic-micropapillary lesionと呼称）を抽出した。また、上皮の増生を伴わず嚢胞状拡張のみを示す病変（以下、cystic lesionと呼称）を抽出した。ここでは直径2

mm以上に拡張した胆管周囲付属腺を嚢胞状拡張があるとみなした。正常な胆管周囲付属腺の対照として組織学的正常肝（11例）を使用した。

抽出した症例に対し、粘液染色としてAlcian blue染色、免疫染色としてMUC1, MUC2, MUC5AC, cyclin D1, CEA, S100P, p53, Ki-67に対する1次抗体を用いた染色を行い、cystic-micropapillary lesionとcystic lesionの病理組織学的特徴を比較検討した。染色結果を3段階で半定量的に評価し、Fisher's exact test, Mann-Whitney's U testによる統計学的検討を行った。

C. 研究結果

検討した病理解剖938例中、cystic-micropapillary lesionは9例（1%）、cystic lesionは40例（4%）に認めた。嚢胞状の変化は同一症例でしばしば多発して認められたが、最大の嚢胞径の平均値はcystic-micropapillary lesionが3.5mm、cystic lesionが3.9mmであり、両者に統計学的有意差はなかった。

背景肝疾患との関連では、cystic-micropapillary lesionは4例が肝硬変、1例は傍肝門胆管癌を合併していた。Cystic lesionはその半数の20例が肝硬変を合併し、肝硬変の成因別ではアルコール性肝硬変に合併する頻度が高かった。

病理組織学的に、cystic-micropapillary lesionの微小乳頭状の上皮は円柱状で、核異型の程度は軽度ものが大部分であった（図1）。粘液の染色で、cystic-micropapillary lesionの全例にAlcian blue染色に陽性を示す細胞内粘液をよく認めた（図2）。統計学的に、cystic-micropapillary lesionにおける粘液産生の程度はcystic lesionより有意に亢進していた。また、正常の胆管周囲付属腺との比較では、cystic-micropapillary lesionの粘液産生の程度は漿液腺より粘液腺に類似していた。

免疫染色では、MUC1は正常の漿液腺での陽性率が高かった。胃型ムチンであるMUC5ACは正常の粘液腺およびcystic-micropapillary lesionで陽性となる頻度

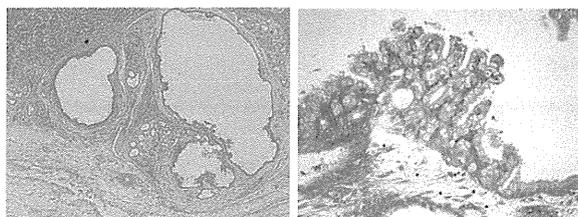


図1 Cystic-micropapillary lesionの病理組織像

が高かった（図2）。Cyclin D1は cystic-micropapillary lesion の一部の症例のみが陽性を示した（図2）。肝門部や肝外胆管癌で発現することが知られる S100P は、cystic-micropapillary lesion で高率に陽性となった（図2）。MUC2と p53は検討したすべての群であった。

Cystic-micropapillary lesion と cystic lesion における染色結果を半定量的に評価し比較した結果、粘液産生と MUC5AC, cyclin D1, S100P の発現が cystic-micropapillary lesion で有意に亢進していた。また、Ki-67標識率は、cystic-micropapillary lesion（平均9.7%）が cystic lesion（平均4.8%）より有意に高値を示した。

D. 考 察

今回の検討結果から、cystic-micropapillary lesion は低頻度ながらも存在し、病理組織学的に cyclin D1 や S100P の発現があること、Ki-67標識率が高率であることなど、腫瘍性の性格を有する可能性が示唆された。また、粘液産生が豊富であることや、胃型ムチンである MUC5AC を高率に発現することは、膵臓の分枝型 IPMN（多くは gastric type）の性質と共通していた。

Cystic-micropapillary lesion は9例中、4例に肝硬変（アルコール性1例、原因不明3例）に合併していた。通常、IPNBに肝硬変は合併しないが、今回は9例という少ない症例数での結果であり、cystic-micropapillary lesion が肝硬変に合併しやすい病変かどうかは不明である。

Cystic-micropapillary lesion と BillIN との異同は必ずしも明確でないが、cystic-micropapillary lesion が BillIN と異なる特徴の一つとして、全例で粘液産生が豊富であった点があげられる。

正常の胆管周囲付属腺との比較では、cystic-micropapillary lesion は漿液腺より粘液腺に近い性質を示しており、粘液腺に由来する可能性が示唆された。また、最近、粘液産生性の肝門部胆管癌が胆管周囲付属腺に由来することが文献的に報告されているが、腫瘍発生の観点から、胆管周囲付属腺は漿液腺より粘液腺がより高い腫瘍化のポテンシャルを有している可能性がある。

E. 結 論

Cystic-micropapillary lesion は腫瘍性の性格を有し、われわれが提唱する「分枝型 IPNB」や肝門部領域胆

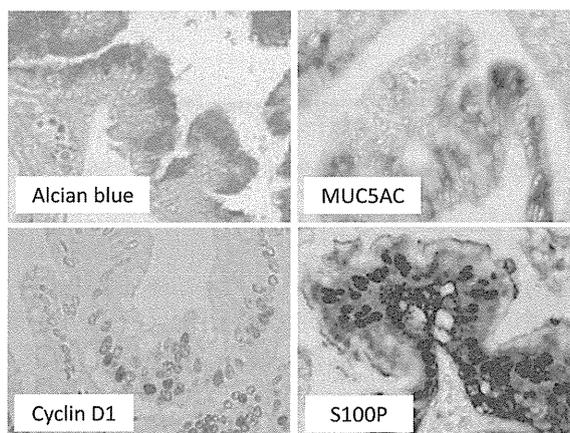


図2 Cystic-micropapillary lesionの組織染色結果

管癌の前駆病変である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakanuma Y, Sato Y. Cystic and papillary neoplasm involving peribiliary glands: A biliary counterpart of branch-type intraductal papillary mucinous neoplasm? *Hepatology*. 2012; 55: 2040-1
2. Harada K, Shimoda S, Kimura Y et al. Significance of IgG4-positive cells in extrahepatic cholangiocarcinoma: Molecular mechanism of IgG4 reaction in cancer tissue. *Hepatology*. 2012; 56: 157-64
3. Xu J, Igarashi S, Sasaki M et al. Intrahepatic cholangiocarcinomas in cirrhosis are hypervascular in comparison with those in normal livers. *Liver Int*. 2012; 32: 1156-64
4. Igarashi S, Matsubara T, Harada K et al. Bile duct expression of pancreatic and duodenal homeobox 1 in perihilar cholangiocarcinogenesis. *Histopathology*. 2012; 61: 266-76
5. Kimura Y, Harada K, Nakanuma Y. Pathologic significance of immunoglobulin G4-positive plasma cells in extrahepatic cholangiocarcinoma. *Hum Pathol*. 2012; 43: 2149-56
6. Matsubara T, Sato Y, Sasaki M et al. Immunohistochemical characteristics and malignant progression of hepatic cystic neoplasms in comparison with pancreatic counterparts. *Hum Pathol*. 2012; 43: 2177-86
7. Nakanuma Y, Sato Y, Ikeda H et al. Intrahepatic Cholangiocarcinoma With Predominant "Ductal Plate Malformation" Pattern: A New Subtype. *Am J Surg Pathol*

- 2012; 36: 1629-1635.
8. Gandou C, Harada K, Sato Y et al. Hilar cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma share similar histopathologies, immunophenotypes, and development-related molecules. *Hum Pathol* 2012 (in press)
 9. Sato Y, Harada K, Sasaki M et al. Histological characteristics of intraepithelial carcinoma of the bile duct with respect to biliary intraepithelial neoplasia-3 and intraepithelial spread of cholangiocarcinoma. *Virchows Archiv* 2013 (in press)
 10. 佐々木素子, 中沼安二. 胆・膵腫瘍の分子病理診断. *最新医学* 2012; 3: 405-11
 11. 中沼安二, 原田憲一, 佐藤保則ほか. 胆道癌幹細胞の同定と臨床的意義-胆管周囲付属腺のインパクト-肝胆膵 2012; 65: 95-105
 12. 中西喜嗣, 大原正範, 中沼安二ほか. 胆管付属腺に発生する IPNB と悪性化. *肝胆膵* 2012; 65: 495-502
 13. 佐藤保則, 中沼安二. 胆管内上皮性腫瘍 BilIN と癌化. *肝胆膵* 2012; 6: 503-10
 14. 中沼安二. 膵癌・胆道癌-診断・治療 Q&A. IPNB (胆管内乳頭状腫瘍) について詳しく教えてください. *膵・胆道癌 FRONTIER* 2012; 2: 34-7
 15. 中沼安二, 佐藤保則, 中西喜嗣. 分枝型胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB, branch type): その病理学的特徴と発生・進展機序. *胆道* 2012; 26: 592-8
 16. 中沼安二. 肝内胆管癌の腫瘍分類-最近の展開, 新たな提案を踏まえて-日消誌 2012; 109: 1865-71
2. 学会発表
1. Sasaki M, Matsubara T, Sato Y et al. The overexpression of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) may be related to malignant behaviors in intraductal papillary neoplasm of the bile duct. The 101st USCAP ANNUAL MEETING
 2. Sato Y, Harada K, Sasaki M et al. Characterization of possible precursors of intraductal papillary neoplasm of the bile duct involving peribiliary glands. AASLD
 3. Sato Y, Gandou C, Harada K et al. Perihilar cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma share similar histopathologies, immunophenotypes and development-related molecules: a suggestion of a common carcinogenetic process. AASLD
 4. Sato Y, Harada K, Sasaki M et al. Clinicopathological significance of S100 protein expression in cholangiocarcinoma. AASLD
 5. 佐々木素子, Hsu Maylee, 中沼安二. 肝内胆管癌発癌過程における K-ras 遺伝子変異. 第101回日本病理学会総会
 6. 佐藤裕英, 池田博子, 原田憲一ほか. 胆道系に同時性・異時性多発した intraductal (intracystic) papillary neoplasm (IPN) の1例. 第101回日本病理学会総会
 7. 林一樹, 佐藤保則, 原田憲一ほか. 胆管癌の発癌過程における S100ファミリータンパク質の発現動態と組織診断マーカーとしての有用性. 第101回日本病理学会総会
 8. 佐藤保則, 原田憲一, 佐々木素子ほか. 胆管癌の発癌過程における S100ファミリータンパク質の発現動態の解析. 第48回日本肝臓学会総会
 9. 五十嵐紗耶, 原田憲一, 佐藤保則ほか. 胆管周囲付属腺における胎児期関連因子、幹細胞関連マーカーの発現. 第48回日本肝臓学会総会
 10. 佐藤保則, 松原崇史, 原田憲一ほか. 胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB) の側方進展病変と胆管上皮層内腫瘍 (BillN) の免疫組織化学的形質の比較検討. 第48回日本肝臓学会総会
 11. 丸藤ちひろ, 佐藤保則, 五十嵐紗耶ほか. 肝門部胆管癌での胎生期発現タンパク質の発現様式: 病理学的意義に注目して. 第48回日本肝臓学会総会
 12. 佐藤保則, 中西喜嗣, 中沼安二. 分枝型胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB, branch type) の病理学的特徴とその発生進展様式. 第48回日本胆道学会学術集会
 13. 佐藤保則, 中沼安二. 胆道癌の発癌過程における S100ファミリータンパク質の発現動態と胆道癌診断への応用. 第48回日本胆道学会学術集会
 14. 佐々木素子, Maylee Hsu, 中沼安二. 肝内胆管癌, 上皮内異型病変, 胆管周囲付属腺における K-ras 遺伝子変異の検討. 第48回日本胆道学会学術集会
 15. 佐藤保則, 丸藤ちひろ, 五十嵐紗耶ほか. 肝門部胆管癌での胎生期発現タンパク質の発現様式とその病理学的意義. 第48回日本胆道学会学術集会
 16. 原田憲一, 佐藤保則, 中沼安二. 慢性胆管炎に合併する BilIN, 胆管癌における IgG4組織反応. 第16回日本肝臓学会大会
 17. 佐藤保則, 原田憲一, 佐々木素子ほか. 胆管上皮層内腫瘍 (BillN) の診断基準の作成-スコアリングによる BilIN 異型度分類の試み. 第16回日本肝臓学会大会
 18. 佐藤裕英, 佐藤保則, 原田憲一ほか. 傍肝門領域胆管癌例での胆管周囲付属腺の病理学的変化. 第54回日本消化器病学会大会
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

胆汁中 lysophosphatidylcholine の胆管上皮細胞に与える細胞障害とそのメカニズムの解明

研究協力者 田妻 進 広島大学病院 総合内科・総合診療科 教授

研究要旨: 肝内結石症において胆汁中で上昇する lysophosphatidylcholine (lysoPC) の胆管上皮細胞に対する影響について検討を行った。lysoPC はアポトーシスを主体とした細胞障害を惹起した。lysoPC は G 蛋白質共役型受容体 G2A の発現を誘導し、そのリガンドである酸化遊離脂肪酸を同時添加することでさらに強い細胞障害を呈したことから、lysoPC による細胞障害に G2A が関与していることが示唆された。

共同研究者

菅野 啓司 広島大学病院 総合内科・総合診療科

A. 研究目的

肝内結石症では胆汁中の lysoPC および phospholipase A2 (PLA2) が有意に上昇していることが報告されている。胆汁中に豊富に存在する phosphatidylcholine は PLA2 の作用で加水分解され lysoPC と遊離脂肪酸が産生される。本研究では胆管上皮細胞に対する lysoPC の影響について *in vitro* で検討を行った。

B. 研究方法

胆管癌細胞株 HuCCT-1 および不死化胆管上細胞株 MMNK-1 細胞に対し lysoPC を添加し、細胞増殖動態、アポトーシス、アポトーシスシグナル伝達経路の解明を行った。さらに、lysoPC による G2A 発現への影響とそのリガンドである酸化遊離脂肪酸の胆管上皮細胞に与える影響について解析を行った。

C. 研究結果

lysoPC は両細胞株に対し、アポトーシスを主体とした細胞障害を惹起した。これらの細胞障害性に対し、phosphatidylcholine は細胞保護的に働いた。アポトーシスのシグナル伝達経路については、デスレセプターを介した経路とミトコンドリアを介した経路の両者が寄与していることが判明した。lysoPC 関連受容体である G2A の発現を検討したところ、初代ヒト胆管上皮細胞、HuCCT-1 に発現を認め、lysoPC を添加することで有意な発現の誘導を認めた。さらに、G2A のリガンドである遊離脂肪酸を lysoPC に同時添加することで、lysoPC 単独時に比較して、さらに強い細胞障害を認めた。

D. 考察

本研究において有意な細胞障害を示した lysoPC および酸化遊離脂肪酸は PC を基質とした PLA2 の加水分解産物であり、肝内結石症における PLA2 の上昇は胆管上皮障害とそれに引続く胆管細胞癌の発生に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。これらの病態に関与する分子候補として G2A 受容体が挙げられ、治療戦略上重要な分子である可能性が判明した。

E. 結論

胆汁中の lysoPC は G2A の発現を誘導し、G2A のリガンドである酸化遊離脂肪酸は lysoPC との併用により強い細胞障害を来した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 大年加純, 藤田啓子, 埜越崇範, 木村康浩, 木平健治, 岸川暢介, 松田聡介, 生田卓也, 菅野啓司, 田妻進: Lysophosphatidylcholine によるヒト胆管上皮癌細胞株でのアポトーシス誘導機構. 胆道 2011, 25: 637-644.

2. 学会発表

1) 大年加純, 藤田啓子, 永田圭耶, 埜越崇範, 木村康浩, 中島美佳, 岸川暢介, 松田聡介, 生田卓也, 菅野啓司, 田妻進, 木平健治: Lysophosphatidylcholine によるヒト胆管上皮癌細胞株でのアポトーシス誘導機構. 第46回日本胆道学会学術集会, 広島市, 2010

2) 菅野啓司, 齋藤美希, 永田圭耶, 岸川暢介, 藤田啓子, 串畑重行, 田妻進: 胆汁組織の変化による胆管上皮障害の基礎的検討: lysophosphatidylcholine の G2A を介したアポトーシス誘導. 第48回日本肝臓学会総会, 金沢市, 2012.

3) Kanno K, Saito M, Nagata K, Ikuta T, Fujita K, Kishikawa N, Tazuma S: Lysophosphatidylcholine induces apoptotic cell death in biliary epithelial cell: Implication to biliary oncogenesis based upon cholangitis and/or pancreaticobiliary maljunction.

62rd. Annual Meeting, American Association for the Study of Liver Disease. San Francisco, USA, 2011.

4) Sugiyama A, Kanno K, Saito M, Fujita K, Kishikawa N, Okamoto M, Kikuchi Y, Yokobayashi K, Kushihata S, Mizooka M, Saeki T, Nakashima M, Tazuma S: Lysophosphatidylcholine induces apoptotic cell death in biliary epithelial

cell: Implication to biliary oncogenesis associated
with pancreaticobiliary maljunction.
Falk Symposium, Wien, Austria, 2012.

- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

胆管癌を標的とするハイブリッドペプチドによる新しいバイオ療法の開発

研究協力者 正田 純一 筑波大学医学医療系 医療科学 教授

研究要旨：胆道系悪性腫瘍の治療成績の向上には、新しい有効な治療の開発が必要である。胆嚢および胆管癌細胞に対する新しいバイオ療法として、膜融解性ハイブリッドペプチド HER2-lytic の抗腫瘍効果を *in vitro* モデルにおいて検討した。HER2-lytic は用量依存性に胆管癌細胞の増殖を抑制した。また、HER2-lytic の抗腫瘍効果は、gefitinib および GW2974 の tyrosine kinase inhibitor であるとほぼ同等であった。これらの結果より、HER2-lytic は胆道系悪性腫瘍に対する新しいバイオ治療薬として有用である可能性が示唆された。

共同研究者

川上 浩司 京都大学大学院医学研究科
薬剤疫学教授

A. 研究目的

胆道系悪性腫瘍（胆道癌）は、その発生と進展環境の複雑性、また、それに関連すると考えられる癌進展様式の多様性を示すこと、現行の化学療法や放射線療法に対して抵抗性を示す事が多いため、完全治癒の期待出来ない難治性の癌である。胆道癌の治療成績の向上と生命予後の改善には、胆道癌の増殖、浸潤、転移の癌進展の分子機構にかかわる腫瘍生物因子を同定し、それらの因子を標的とする新しい有効な治療手段の開発が重要である。近年、細胞殺傷能力を有するペプチドや強力な抗腫瘍効果を有するペプチドが複数報告されている。川上らは癌細胞表面分子と結合する特異的な「弾頭ペプチド」と癌細胞膜融解による細胞殺傷効果を有する「爆薬ペプチド」を精力的に組み合わせ、抗癌活性を有する「ハイブリッドペプチド」の作製に成功した。そこで、本研究では、胆道癌に対する新しいバイオ療法を確立する目的で、胆道癌の表面分子である癌遺伝子の HER2 を標的とし、HER2 リガンドと抗癌ペプチドとの組み合わせにより新規ハイブリッドペプチド（HER2-lytic）を作製した。本 HER2-lytic の抗癌効果について検証した。

B. 研究方法

8 種のヒト胆道癌由来細胞株を用いて *in vitro* 実験を行った。胆道癌細胞株に対する HER2-lytic の細胞障害効果を検討するために、HER2-lytic を 0-1000 μ g/ml の濃度で 24 時間反応させ、MMT アッセイ法にて評価した。

また、HER2-lytic の抗腫瘍効果を、HER2 に対する抗体医薬品である Trastsumab、EGF 受容体や HER2 の tyrosine kinase inhibitor である gefitinib および GW2974 と比較した。

C. 研究結果

HER2-lytic を用いて行った細胞障害性実験では、8 種の細胞株すべてにおいて HER2-lytic 濃度依存性に細胞増殖の低下が認められた。HER2 リガンドを欠く

lytic のみでは細胞障害性は殆ど認められなかった。本 HER2-lytic の抗腫瘍効果は HER2 を介するものと考えられた。

一方、HER2 抗体である Trastsumab には、いずれの胆道癌細胞株に対する抗腫瘍は認められなかった。tyrosine kinase inhibitor の gefitinib および GW2974 との比較では、HER2-lytic の IC50 値は gefitinib および GW2974 のものと同等であり、同等の抗腫瘍効果を発揮した。

D. 考察

ヒト胆道癌における EGF 受容体や HER2 遺伝子の発現に関する報告において、Nonomura らが肝内胆管癌における EGF 受容体（59.5%）の発現率を解析し、いずれも正常対照に比して有意に増加していると報告している。また、Nakazawa らは胆道癌における HER2 の発現頻度について解析し（胆嚢癌 15.7%、乳頭部癌 11.5%、肝外胆管癌 5.1%、肝内胆管癌 0%）、腫瘍部位による差異を報告している。さらに、川本らは、胆道癌における EGF 受容体と HER2 の発現頻度を解析し、EGF 受容体 11.7%、リン酸化 EGF 受容体 6.8%、HER2 遺伝子 31.6%、リン酸化 HER2 遺伝子 21.1% と報告し、HER2 遺伝子の発現頻度の高さを強調している。分子標的治療薬として臨床試験の成績が報告されている分子は EGF 受容体・HER2 のみである。今回のヒト胆道癌細胞株を用いた HER2-lytic の抗腫瘍効果の検討では、HER2-lytic の良好な細胞障害が 8 種中 8 種で認められた。HER2-lytic の良好な抗腫瘍効果が観察された。K-ras 遺伝子を伴う癌腫では tyrosine kinase inhibitor の効果は減弱することが知られていることより、HER2 の抗腫瘍効果に期待が持てる。

E. 結論

胆道癌、HER2 を標的とするハイブリッドペプチド療法（HER2-lytic）は、胆道癌に対する新規バイオ治療としての有用である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし