

表1 胆管細胞のEMTあるいはEMT-like changeの関与が想定される疾患・病態

疾患・動物モデル	EMTに関連する因子	文献
ヒト疾患・病態		
原発性胆汁性肝硬変	ND	13
	SPRR2A	15
	TGF- β , Smad, T細胞	16
原発性硬化性胆管炎	ND	14
	TGF- β , Smad, T細胞	16
胆道閉鎖症	Snail, LOXL1	17
	poly (I:C), bFGF, TGF- β 1	18
	ND	19
先天性肝線維症	TGF- β 1, Smad	20
非アルコール性脂肪性肝疾患	Hedgehog	21
アルコール性肝硬変	TGF- β , Smad, T細胞	16
移植肝慢性拒絶	TGF- β 1, T細胞	22
動物モデル		
ラット胆管結紮	Hedgehog	23

ND, not determined.

よく研究されてきたが、肝胆道系においても上皮系細胞、すなわち肝細胞と胆管細胞のEMTが線維化に関与するという仮説のもとで研究が進行してきた。肝細胞のEMTに関しては、培養系でTGF- β 1/Smadを介した肝細胞のEMTを示した論文⁸⁾や四塩化炭素投与によるマウス肝線維化モデルを用いたZeisbergら⁹⁾の報告などがあるが、後者の論文には否定的な見解もある¹⁰⁾。また、 α -SMAを発現したMF-HSCに肝細胞マーカーの発現(MET)を誘導しうることも知られている^{11,12)}。

2. 胆管細胞EMT

2007年頃から胆管細胞のEMTという新しい概念を適応して、具体的なヒトの肝胆道系疾患の胆管硬化や肝線維化の病態を説明しようとする試みが行われるようになった。Robertsonら¹³⁾は肝移植後の原発性胆汁性肝硬変(PBC)の再発に胆管細胞のEMTが関与

している可能性を、肝組織を用いたS100A4, pSmad2/3, vimentinに対する免疫染色により示した。

その後、同じ研究グループから、原発性硬化性胆管炎(PSC)における胆管細胞のEMTの関与を示唆する成績が報告された¹⁴⁾。PSC症例の組織切片に対してS100A4とCK19(胆管上皮マーカー)の2重免疫染色を行い、胆管上皮においてEMTを獲得した細胞を同定し、その出現頻度がPSCの線維化のステージと正に相関することをその論文の中で示した。

現在までに報告された、胆管細胞のEMTもしくはEMT-like changeの胆管硬化や肝線維化への関与が想定される疾患・病態を表1に示す。PBC, PSC以外では胆道閉鎖症や先天性肝線維症, 非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD), アルコール性肝硬変, 移植肝における慢性拒絶などがある。動物モデルでは

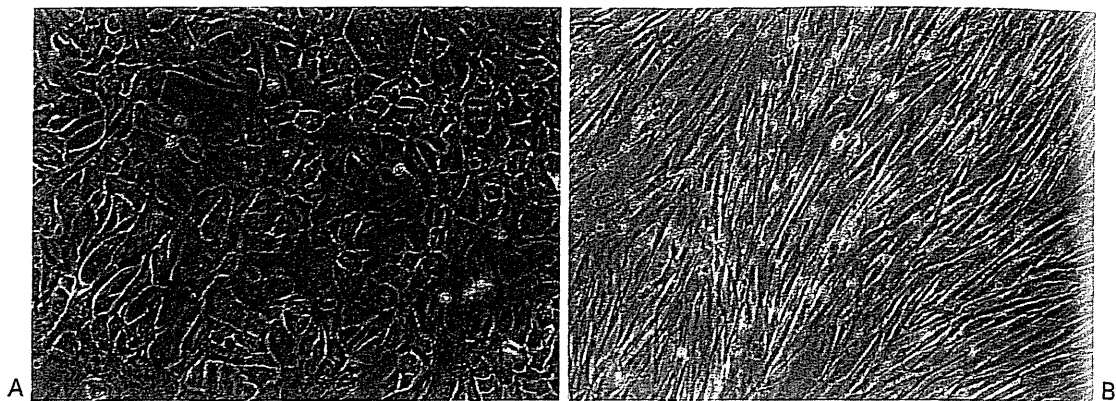


図1 ヒト培養胆管細胞

ヒト培養胆管細胞(A)にTGF- β 1とbFGFを同時に作用させると細胞形態が紡錘形に変化する(B).
(文献18より引用)

ラットの胆管結紮による biliary fibrosis が代表的である。なお、表1には非腫瘍性疾患のみを示したが、胆管癌でも癌細胞のEMTが癌の高度悪性化に関与することが報告されている^{24~26}。

ヒト疾患を対象とした胆管細胞のEMT研究は、組織切片を用いた免疫染色による検討が主体となっているが、細胆管にS100A4やvimentinなどのEMTマーカーの発現を認めることから、細胆管の線維化への関与を指摘した報告がある^{14~16,19}。細胆管は肝progenitor cellに由来する可能性があるが、細胆管にEMTマーカーの発現があることは肝progenitor cellとの関連からも興味深い。また、EMTの誘導において、炎症反応の際に浸潤するT細胞と胆管細胞との相互作用に注目した報告もある^{16,22}。なお、いずれの報告でも、組織切片上でCK7やCK19などの胆管上皮マーカーとMFマーカーである α -SMAが胆管細胞に共発現することはないようである。

胆管細胞がEMTを起こした際に発現が亢進あるいは活性化される細胞外マトリックス関連の分子として、fibronectin, laminin β 3,

MMP-2, MMP-9やcollagen chaperoneであるHSP47などがある^{15~17,19,20,22,23}。

以下、胆道閉鎖症における胆管細胞のEMT、および先天性肝線維症における胆管細胞のEMT-like changeの病態形成への関与について、われわれが行った研究成果を紹介する。

3. 胆道閉鎖症

胆道閉鎖症の病因としてレオウイルスやロタウイルス(ともに二本鎖RNAウイルス)感染が想定されている。これまでにわれわれは、胆管細胞は二本鎖RNAウイルスの認識受容体であるToll様受容体3 (TLR3)を有しており、TLR3リガンドである合成二本鎖RNAのpoly (I:C)に反応してNF- κ BやIRF-3が活性化し、IFN- β などの抗ウイルス因子の産生がみられることを報告しており、レオウイルス科ウイルス感染が胆道閉鎖症の病態形成に関与していることを示した²⁷。

胆道閉鎖症におけるEMTの関与を検討するために、ヒト培養胆管細胞にpoly (I:C)を反応させたところ、CK19とE-cadherinの発現が低下し、bFGFの発現が誘導された¹⁸。TGF- β 1の発現に有意な変化はなかったが、

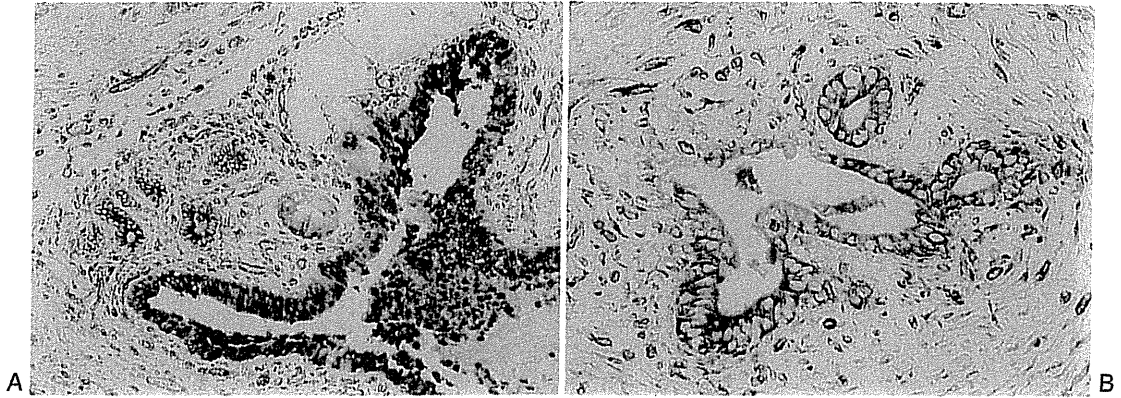


図2 胆道閉鎖症の肝外胆管

胆道閉鎖症の肝外胆管でのCK19 (blue)とvimentin (brown)の2重免疫染色. 傷害像に乏しい胆管上皮ではCK19の発現は保たれている(A). 傷害胆管上皮ではCK19の発現低下とvimentinの発現を認める(B). (文献18より引用)

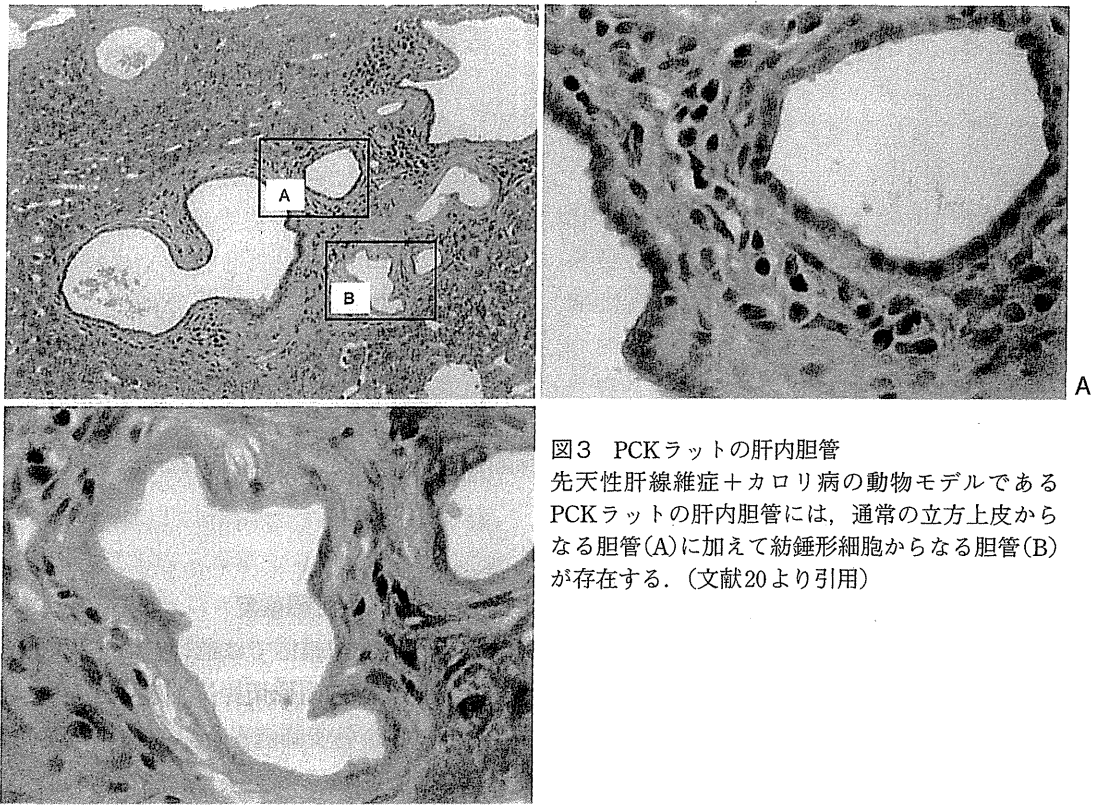


図3 PCKラットの肝内胆管

先天性肝線維症+カロリ病の動物モデルであるPCKラットの肝内胆管には, 通常の立方上皮からなる胆管(A)に加えて紡錘形細胞からなる胆管(B)が存在する. (文献20より引用)

TGF- β 1のpseudoreceptorであるBambiの発現低下がみられ, TGF- β 1に対する感受性が亢進することが示唆された. また, 培養胆管細胞にTGF- β 1とbFGFを同時に作用さ

せると線維芽細胞様に細胞形態が変化した(図1).

組織切片を用いた免疫染色による検討では, 胆道閉鎖症の肝外胆管や胆管付属腺の上

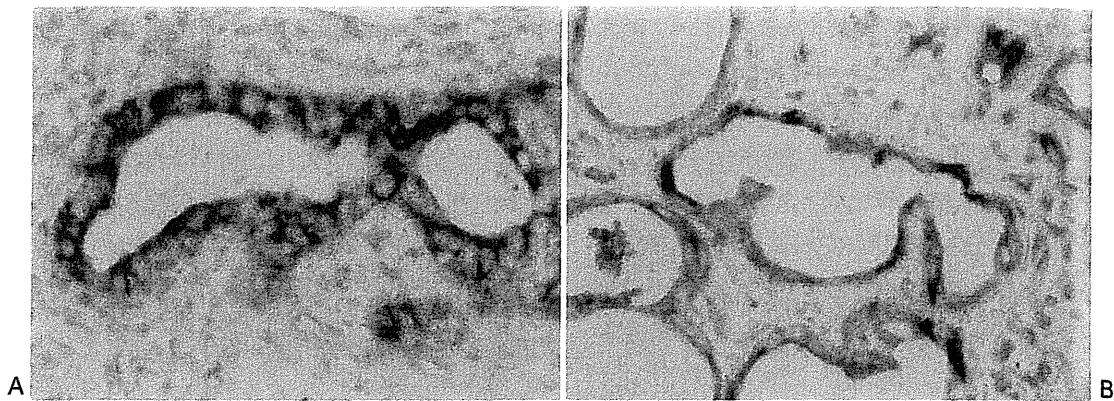


図4 PCKラットの肝内胆管

PCKラット肝でのCK19 (blue)とvimentin (brown)の2重免疫染色. 立方上皮からなる胆管ではCK19の発現は保たれている(A). 紡錘形細胞からなる胆管ではCK19の発現低下とvimentinの発現を認める(B). (文献20より引用)

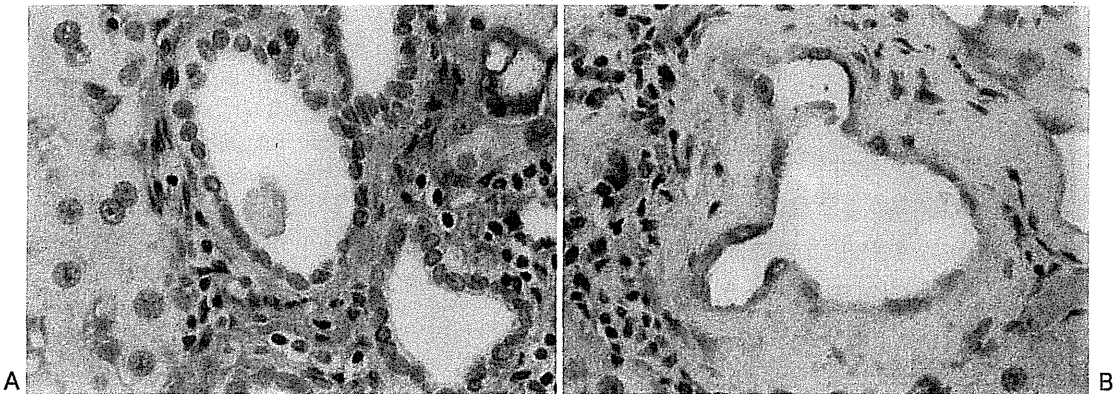


図5 PCKラットの肝内胆管

Fibronectinの免疫染色で立方からなる胆管に陽性所見は認めないが(A), 紡錘形細胞からなる胆管にはfibronectinの発現を認める(B). (文献20より引用)

皮にTLR3の発現を認め、傷害胆管上皮においてNF- κ Bの活性化を認めた. 炎症や傷害像に乏しい胆管上皮ではCK19とE-cadherinの発現は保たれていたが、傷害胆管ではこれら上皮系マーカーの発現が低下または消失し、vimentinの発現を示す細胞を認めた(図2). 以上の結果から、胆道閉鎖症における二本鎖RNAウイルスに対する自然免疫応答を介した胆管細胞のEMTの関与が示唆された.

4. 先天性肝線維症

先天性肝線維症では進行性の肝線維化を認めるが、その組織切片でMFマーカーである α -SMAの免疫染色を行い、線維化部位におけるMFの数を対照疾患(アルコール性肝線維症/肝硬変、ウイルス性肝炎/肝硬変)と比較したところ、その数は先天性肝線維症において有意に少なかった²⁸⁾.

われわれはこれまでに、先天性肝線維症+カロリ病の動物モデルとして確立された

polycystic kidney (PCK)ラットを用いその病態解明を試みてきたが、PCKラットの肝内胆管には通常の立方上皮からなる胆管細胞に加えて、紡錘形～扁平な形態を示す細胞からなる胆管が混在して存在する(図3)²⁰⁾。先天性肝線維症で肝内のMF数が少ないことはそれ以外の細胞の肝線維化への関与を示唆するが、PCKラットではこの紡錘形の胆管細胞がEMTの形質を示す細胞であると仮説し、肝線維化における胆管細胞のEMTの関与をさらに検討した。

PCKラットの肝組織切片を用いて免疫染色を行うと、紡錘形の形態を示す胆管細胞ではCK19の発現低下とvimentinの発現誘導を認めた(図4)。また、紡錘形の胆管細胞にfibronectinが発現していた(図5)。In vitroの検討でPCKラットの培養胆管細胞にTGF- β 1を反応させるとCK19の発現低下、vimentinとfibronectinの発現亢進を認めた。しかし、E-cadherinやZO-1の発現に変動はみられず、TGF- β 1の作用により胆管細胞の細胞形態が紡錘形に変化することもなかった。以上の結果より、一連の変化はEMT-likeではあるが、純粋なEMTとは異なる現象であると考えた。なお、PCKラットの肝組織で認めたvimentinとfibronectinの発現を示す紡錘形の胆管細胞が、ヒト先天性肝線維症のいかなる細胞に相当するかはまだわかっていない。

4 おわりに

胆管細胞のEMTと線維化の関連について概説した。近年、肝細胞のEMTを否定する論文が報告されたが¹⁰⁾、同様にマウスのgenetic labelingによる検討で胆管細胞のEMTあるいはHSCのMETに対して否定的な論文も出ている²⁹⁾。こうしたEMTに懐疑的な論文を受けて、近年、海外の主要な消化

器病雑誌では肝線維化におけるEMTの関与についての議論が誌上で活発に行われている^{30,31)}。成熟した胆管細胞が α -SMAを発現しcollagenを産生するMFに形質転換するとは考えにくいですが、どの程度の細胞形質の変化をもって胆管細胞のEMTとするかの定義が現時点で必ずしも明確でないことは問題と思われる。

文 献

- 1) Choi SS, Diehl AM : Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology* 50 : 2007-2013, 2009
- 2) Ikegami T, Zhang Y, Matsuzaki Y : Liver fibrosis: possible involvement of EMT. *Cells Tissues Organs* 185 : 213-221, 2007
- 3) Zeisberg M, Neilson EG : Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 119 : 1429-1437, 2009
- 4) Yang J, Weinberg RA : Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 14 : 818-829, 2008
- 5) Grunert S, Jechlinger M, Beug H : Diverse cellular and molecular mechanisms contribute to epithelial plasticity and metastasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4 : 657-665, 2003
- 6) Klymkowsky MW, Savagner P : Epithelial-mesenchymal transition: a cancer researcher's conceptual friend and foe. *Am J Pathol* 174 : 1588-1593, 2009
- 7) Higashiyama R, Moro T, Nakao S et al : Negligible contribution of bone marrow-derived cells to collagen production during hepatic fibrogenesis in mice. *Gastroenterology* 137 : 1459-1466 e1451, 2009
- 8) Kaimori A, Potter J, Kaimori JY et al : Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem* 282 : 22089-22101, 2007
- 9) Zeisberg M, Yang C, Martino M et al : Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 282 : 23337-23347, 2007
- 10) Taura K, Miura K, Iwaisako K et al : Hepatocytes do not undergo epithelial-mesenchymal transition

- in liver fibrosis in mice. *Hepatology* 51 : 1027–1036, 2010
- 11) Sicklick JK, Choi SS, Bustamante M et al : Evidence for epithelial-mesenchymal transitions in adult liver cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291 : G575–583, 2006
 - 12) Yang L, Jung Y, Omenetti A et al : Fate-mapping evidence that hepatic stellate cells are epithelial progenitors in adult mouse livers. *Stem Cells* 26 : 2104–2113, 2008
 - 13) Robertson H, Kirby JA, Yip WW et al : Biliary epithelial-mesenchymal transition in posttransplantation recurrence of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 45 : 977–981, 2007
 - 14) Kirby JA, Robertson H, Marshall HL et al : Epithelial to mesenchymal transition in primary sclerosing cholangitis. *Liver Int* 28 : 1176–1177, 2008
 - 15) Demetris AJ, Specht S, Nozaki I et al : Small proline-rich proteins (SPRR) function as SH3 domain ligands, increase resistance to injury and are associated with epithelial-mesenchymal transition (EMT) in cholangiocytes. *J Hepatol* 48 : 276–288, 2008
 - 16) Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL et al : Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Lab Invest* 88 : 112–123, 2008
 - 17) Diaz R, Kim JW, Hui JJ et al : Evidence for the epithelial to mesenchymal transition in biliary atresia fibrosis. *Hum Pathol* 39 : 102–115, 2008
 - 18) Harada K, Sato Y, Ikeda H et al : Epithelial-mesenchymal transition induced by biliary innate immunity contributes to the sclerosing cholangiopathy of biliary atresia. *J Pathol* 217 : 654–664, 2009
 - 19) Deng YH, Pu CL, Li YC et al : Analysis of Biliary Epithelial-Mesenchymal Transition in Portal Tract Fibrogenesis in Biliary Atresia. *Dig Dis Sci*, 2010 [Epub ahead of print]
 - 20) Sato Y, Harada K, Ozaki S et al : Cholangiocytes with mesenchymal features contribute to progressive hepatic fibrosis of the polycystic kidney rat. *Am J Pathol* 171 : 1859–1871, 2007
 - 21) Syn WK, Jung Y, Omenetti A et al : Hedgehog-mediated epithelial-to-mesenchymal transition and fibrogenic repair in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 137 : 1478–1488 e1478, 2009
 - 22) Rygiel KA, Robertson H, Willet JD et al : T cell-mediated biliary epithelial-to-mesenchymal transition in liver allograft rejection. *Liver Transpl* 16 : 567–576, 2010
 - 23) Omenetti A, Porrello A, Jung Y et al : Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans. *J Clin Invest* 118:3331–3342, 2008
 - 24) Lee MJ, Yu GR, Yoo HJ et al : ANXA8 down-regulation by EGF-FOXO4 signaling is involved in cell scattering and tumor metastasis of cholangiocarcinoma. *Gastroenterology* 137 : 1138–1150, 1150 e1131–1139, 2009
 - 25) Sato Y, Harada K, Itatsu K et al : Epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- β 1/Snail activation aggravates invasive growth of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 177 : 141–152, 2010
 - 26) Li T, Li D, Cheng L et al : Epithelial-mesenchymal transition induced by hepatitis C virus core protein in cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 17 : 1937–1944, 2010
 - 27) Harada K, Sato Y, Itatsu K et al : Innate immune response to double-stranded RNA in biliary epithelial cells is associated with the pathogenesis of biliary atresia. *Hepatology* 46 : 1146–1154, 2007
 - 28) Ozaki S, Sato Y, Yasoshima M et al : Diffuse expression of heparan sulfate proteoglycan and connective tissue growth factor in fibrous septa with many mast cells relate to unresolving hepatic fibrosis of congenital hepatic fibrosis. *Liver Int* 25 : 817–828, 2005
 - 29) Scholten D, Osterreicher CH, Scholten A et al : Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 139 : 987–998, 2010
 - 30) Wells RG : The epithelial-to-mesenchymal transition in liver fibrosis: here today, gone tomorrow? *Hepatology* 51 : 737–740, 2010
 - 31) Popov Y, Schuppan D : Epithelial-to-mesenchymal transition in liver fibrosis: dead or alive? *Gastroenterology* 139 : 722–725, 2010

* * *

IgG4関連硬化性胆管炎と胆管癌

中 沼 安 二* 木 村 康* 原 田 憲 一*

索引用語：IgG4, 腫瘍免疫回避, 制御性T細胞, FOXP3, 胆道癌

1 はじめに

近年, IgG4関連疾患が全身的に分布することが, わが国の研究者により明らかになりつつある¹⁾. この疾患群では, 病変中に多数のIgG4陽性形質細胞の浸潤を認め, 血中のIgG4値の上昇を伴う例が多い. ステロイド治療に奏効するのが特徴である. 肝胆道系ではIgG4関連硬化性胆管炎IgG4-related sclerosing cholangitis (IgG4-SC)とIgG4関連炎症性偽腫瘍IgG4-related hepatic inflammatory pseudotumor (IgG4-HIP)が代表的である. IgG4-SCは, 胆道の閉塞や狭窄を特徴とする疾患であり, 胆管癌や原発性硬化性胆管炎(PSC)との鑑別が臨床的に問題となる. IgG4-HIPとIgG4-SCは, 同じくIgG4関連疾患である自己免疫性膵炎に高率に合併する^{1~4)}.

また, 膵癌などの悪性腫瘍において, IgG4陽性の形質細胞浸潤を伴う症例や血中でIgG4が高値となる症例が最近, 報告され注目されている^{5~8)}. さらに, IgG4関連疾患

群でも, しばしば硬化性病変や腫瘍形成を伴うことから, IgG4関連疾患は常に腫瘍, 特に悪性腫瘍との鑑別が病理診断学的に問題であると同時に, 臨床的にチャレンジングな課題となりつつある⁹⁾. 肝胆道領域でも, IgG4-SCやIgG4-HIPは, 画像上, 胆道癌と類似しており, 画像や臨床像から, 両者の鑑別が試みられているが, 臨床の現場では, その正確な鑑別は必ずしも容易ではない⁹⁾. さらに胆道癌とIgG4-SCやIgG4-HIPとでは治療法が, 大きく異なっており, 誤診すると患者に対する不利益が極めて大きい.

本稿では, IgG4-SC, IgG4-HIPの病理像とIgG4高値の機序に関して, 簡単に考察し, 次いでIgG4陽性形質細胞の浸潤を伴う胆道癌でのIgG4産生の機序に関するわれわれの研究^{10, 11)}を紹介する.

2 IgG4関連硬化性胆管炎 (IgG4-SC), IgG4関連炎症性偽腫瘍 (IgG4-HIP)

IgG4-SCでは, 肝内大型胆管, 肝門部胆管, 肝外胆管に病変が形成され, 特に肝門部胆管

Yasuni NAKANUMA et al : IgG4-related sclerosing cholangitis and cholangiocarcinoma

*金沢大学大学院医学研究科形態機能病理学 [〒 920-8640 石川県金沢市宝町 13-1]

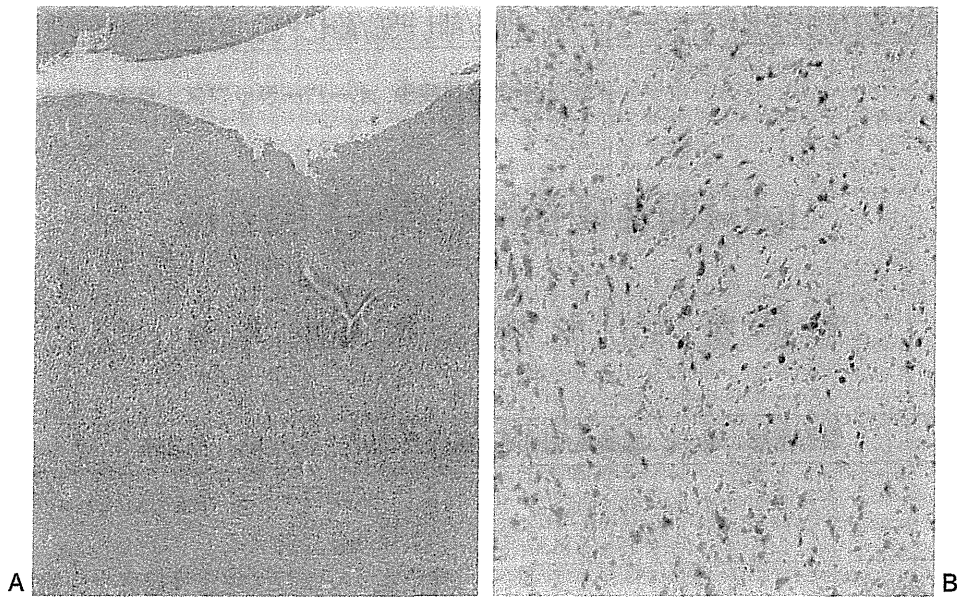


図1

A : IgG4関連硬化性胆管炎. 胆管壁の肥厚, 多数のリンパ球, 形質細胞浸潤をみる. HE染色.
 B : IgG4関連硬化性胆管炎. 病変部に多数のIgG4陽性細胞の浸潤をみる. IgG4免疫染色.

および膵内胆管が高率に障害され, 胆管の狭窄や閉塞性黄疸を呈し, 臨床的に, また画像上, 胆道癌との鑑別が常に問題となる. さらにIgG4-HIPでは, 肝門部, 肝内に腫瘤形成があり, 同時に胆管硬化像を呈するので, 常に悪性腫瘍との鑑別が臨床的に問題となる^{1~4)}. また, IgG4-SCでは, 肉眼的には, 胆管が不規則, また偏側性に障害され, 肥厚, 肥大し, 肉様であり, 腫瘍に類似している. IgG4-HIPは, IgG4-SCにみられるこれらの腫瘤状病変が誇張されて出現したものと理解されている. 経験的に, 外科的切除材料ではIgG4-SCとIgG4-HIPと胆道癌との肉眼的鑑別は困難である. しかし, 病理組織学的には, これらの疾患では, 病変部胆管壁への高度のリンパ球, 形質細胞の浸潤, それに線維増生を伴う. 病変部でのIgG4陽性形質細胞の著明な浸潤と線維増生が共通してみられる(図1A, B). 好酸球の浸潤もみられ, 胆道癌

との鑑別は困難ではない.

IgG4-SC, IgG4-HIPでは病変組織へのIgG4陽性形質細胞の密な浸潤が特徴的な所見である. IgG4はIgGの3%程度と最も少ないサブクラスであるが, IgG4関連硬化性疾患の多くの患者では血中IgG4が高値(通常135 mg/dl以上)となる. 現在, IgG4の産生異常がIgG4-SC, IgG4-HIPを含めたIgG4関連疾患の病態形成に重要な免疫現象として注目されている. そして, これら疾患はステロイド治療に奏効するのが特徴である.

IgG4は補体活性化機能を有しておらず, IgG4関連疾患でのIgG4の病的意義については不明な点が多い. 最近, IgG4関連疾患の病態形成にCD4+CD25+FOXP3+の制御性T細胞(Treg細胞)の関与あるいは機能異常が注目されている^{4,12,13)}. つまり, 私どもは病変部のサイトカイン発現状態を検討し, IgG4関連疾患ではIL-4, IL-5, IL-13な

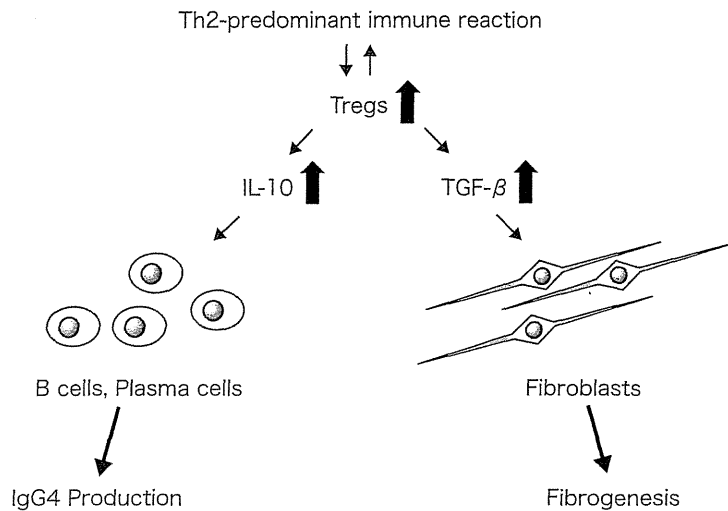


図2 IgG4関連硬化性疾患での免疫病理
病変部は、Th2優位の免疫環境にあり、これに関連して制御性T細胞(Treg)の増加がみられる。Tregから分泌されるIL-10がB細胞を刺激して、IgG4産生形質細胞の分化を誘導し、さらに同じくTregから分泌されるTGF- β が線維芽細胞を刺激し、増生に関連する(文献20より)。

どのサイトカインの発現が亢進しており、Th2型のサイトカイン環境にあり、さらにCD4+CD25+FOXP3+の制御性T細胞(Treg細胞)が多くみられることを報告した^{4,12)}。さらにKayobuらは、TregのマーカーであるFoxp3陽性のリンパ球の数が、IgG4陽性形質細胞の数と正の相関関係を示すことを報告している¹³⁾。IgG4-SCやIgG4-HIPでは、Treg細胞から産生されるIL-10が、B細胞からIgG4産生形質細胞へのクラススイッチの亢進やIgG4陽性細胞の増殖分化促進に関与し、さらにTGF- β が病変局所での線維増生に関連している可能性がある(図2)^{4,12~14)}。しかし、原発性硬化性胆管炎(PBC)では、病変中に多くのTregの浸潤がみられるが、IgG4陽性の形質細胞の浸潤はほとんどみられない^{13,15)}。IgG4関連疾患で、病変部がTh2型の免疫環境にある原因やTregが増加する機序、そしてIgG4産生機序は、不明である。

3 IgG4反応を伴う胆道癌

IgG4陽性形質細胞の浸潤は、日頃の病理標本の経験から、IgG4-SCやIgG4-HIP以外の胆道系疾患の病変部でもみられる。臨床的に問題となるのは、胆道癌および膵癌においてIgG4陽性細胞を伴う症例、あるいは血中のIgG4が高値を示す症例の存在することあり、IgG4-SCやIgG4-HIPとの鑑別診断上、重要である^{5~8,10)}。

腫瘍免疫ではTregが重要な役割を果たすことが知られている。このTregは、上述したようにIgG4反応と深く関連する。事実、血清IgG4高値を伴う膵癌症例^{5~8)}やIgG4関連疾患を背景に発癌した膵癌、胆管癌症例^{16,17)}も報告されている。またTreg細胞が膵癌などの悪性腫瘍の免疫回避、病態進展に関与していることも報告されている¹⁸⁾。今回、胆道癌におけるIgG4陽性形質細胞浸潤

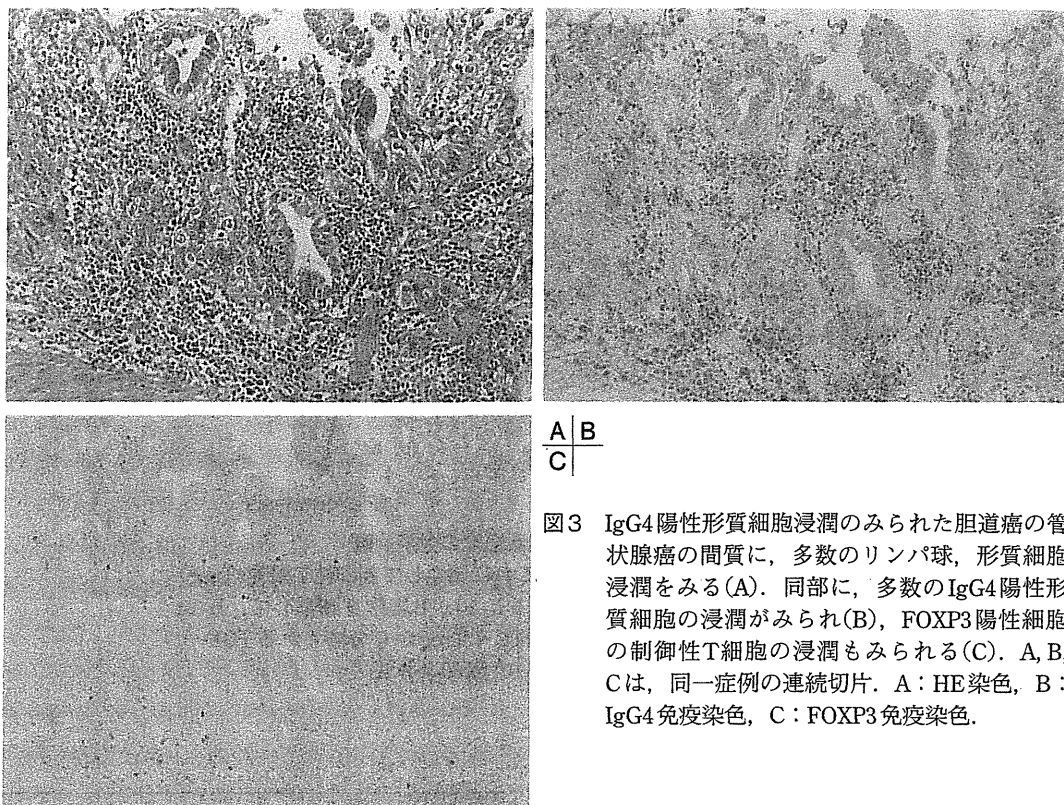


図3 IgG4陽性形質細胞浸潤のみられた胆道癌の管状腺癌の間質に、多数のリンパ球、形質細胞浸潤をみる(A)。同部に、多数のIgG4陽性形質細胞の浸潤がみられ(B)、FOXP3陽性細胞の制御性T細胞の浸潤もみられる(C)。A, B, Cは、同一症例の連続切片。A：HE染色，B：IgG4免疫染色，C：FOXP3免疫染色。

について検討し、胆道癌におけるIgG4反応の意義について腫瘍免疫反応の観点から検討を行った^{10,11)}。

IgG4陽性形質細胞の浸潤：IgG4陽性形質細胞数が高倍率の顕微鏡下で平均10個(10/HPF)以上の症例をIgG4陽性例、10/HPF未満の症例をIgG4陰性例とすると、IgG4陽性例は全68症例(胆嚢癌39例、肝外胆管癌20例、乳頭部癌8例、肝内胆管癌1例)のうち21例(30.9%)に認められた。IgG4陽性形質細胞浸潤は腫瘍の中心部に比し腫瘍辺縁部の間質浸潤部で目立つ傾向があったが(図3A, B)、管腔面に露出した癌の固有層内や隣接する非癌部胆道上皮層内にもIgG4陽性形質細胞浸潤を伴う症例もあった。これらの成績より、IgG4関連疾患の肝胆道系疾患の鑑別診断に際し、胆道癌の存在を常に念頭に置くべきで

あり、病理学的には生検材料などの微小な検体では癌細胞の同定を含め、細心の注意が必要である。さらに、今回検討した胆道癌の中には、IgG4関連疾患からの発癌を示唆するような50/HPF以上の著明なIgG4陽性形質細胞を伴う症例もあった。なお、IgG4関連疾患の病理学的診断基準は5～50/HPFと報告により幅があり、また臓器によっても設定値が異なる¹⁹⁾。

他の浸潤リンパ球との関連性：CD8陽性の細胞障害性T細胞(CTL)は腫瘍免疫のeffector cellsとして注目されており、Tregは腫瘍免疫回避機構に関連している¹⁸⁾。そこで、CD8陽性CTLとFOXP3陽性Tregとの関連性を検討した。なお、Treg細胞の浸潤程度をCD4陽性細胞数に対するFOXP3陽性細胞数の比で評価した。IgG4陽性細胞浸潤

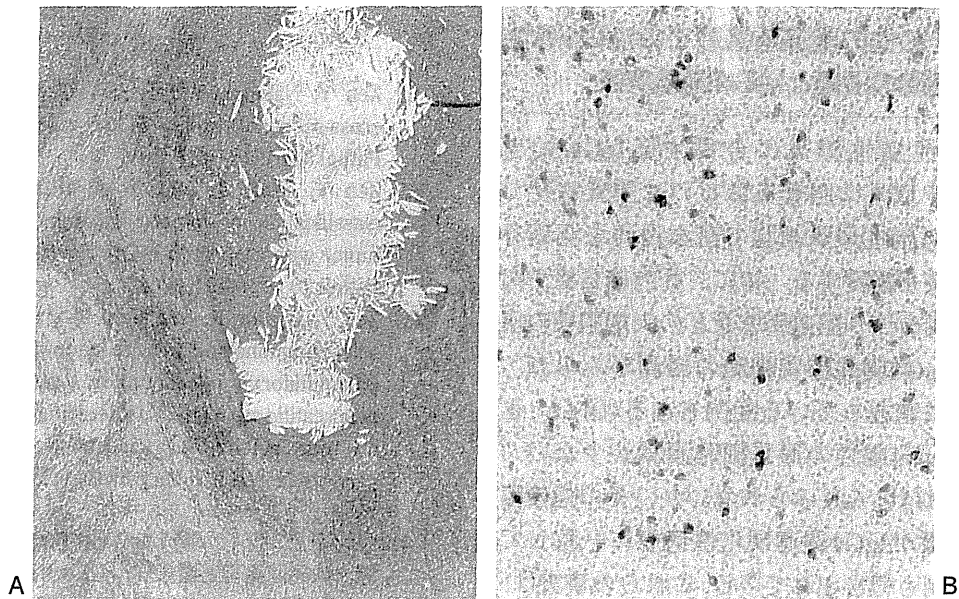


図4 肝内結石症

中心部にコレステリンをみる(A)。同部で、多数のIgG4陽性細胞の浸潤をみる。
A：HE染色，B：IgG4免疫染色

を伴う胆道癌症例ではFOXP3陽性のTreg細胞も散見された(図3C)が、IgG4陽性細胞を認める領域とは完全に一致していない例もみられた。IgG4陽性細胞数とFOXP3陽性細胞数との関連性では、IgG4陽性細胞を伴う症例の多くはFOXP3陽性Treg細胞も散見され、FOXP3/CD4比はIgG4陽性例で高値であった。また、CD8陽性CTLは腫瘍内および腫瘍周囲に浸潤を認めたが、IgG4陽性例では陰性例に較べ腫瘍細胞間に浸潤しているCD8陽性CTLが少ない傾向がみられた。

膵癌、胆道癌でのIgG4陽性細胞の浸潤の病的意義：膵癌での研究では、膵癌の発癌、進展に伴い、癌組織中へのTreg細胞の浸潤が増加し、癌細胞間に浸潤する細胞傷害性T細胞浸潤は逆に減少すること、さらにはTreg細胞の浸潤が多い膵癌患者は予後が悪いことが報告されており、Treg細胞が膵癌に対する免疫反応の調節、特に腫瘍免疫回

避に関与していると考えられている¹⁸⁾。胆道癌を対象とした今回の検討でも、IgG4陽性形質細胞浸潤を伴う胆道癌症例では、FOXP3陽性Treg細胞の浸潤が目立ち、これらの症例では、腫瘍細胞間に浸潤するCD8陽性のCTLは少数であった。したがって、胆道癌では膵癌と同様、腫瘍細胞がTreg細胞を介して腫瘍免疫回避を惹起しており、その結果としてIgG4陽性形質細胞浸潤が随伴していると推測される。腫瘍組織に対するIgG4陽性細胞の作用や役割については不明であるが、IgG4陽性形質細胞浸潤が胆道癌の悪性度の指標となる可能性が示唆された。

いずれにしても、現在のところ、IgG4-SCやIgG4-HIでは、絶対的かつ特異的な診断マーカーがないので、胆道癌、特にIgG4陽性胆道癌を厳密かつ確実な方法で鑑別する手法の確立が、今後の重要な検討課題と考えられる。

4

その他の胆道系疾患でのIgG4陽性細胞の浸潤とIgG4関連疾患

自己免疫性膵炎に合併するIgG4-SCやIgG4-HIP以外の胆管炎あるいは胆管病変でも、IgG4陽性形質細胞の密な浸潤を認める症例を時々経験する。特に、肝内結石症や肉芽腫形成を伴う胆道疾患などの大型胆管の疾患で、IgG4陽性形質細胞の浸潤がみられ、部分的に密在している症例もある(図4)。さらに、IgG4陽性の形質細胞浸潤が少ない、あるいはほとんどみられないが、その他の臨床病理像がIgG4関連硬化性疾患に一致している症例も報告されている。これらの事実は、IgG4陽性形質細胞の浸潤や血中でのIgG4値の上昇は、これらIgG4陽性硬化性疾患の1つの特徴ではあるが、疾患特異的な病変ではないことを示している。IgG4関連硬化性疾患の病態の解析、また各種の慢性疾患でのIgG4陽性細胞の浸潤機序に関する今後の研究が必要である。

5

まとめ

IgG4-SCやIgG4-HIPではIgG4陽性形質細胞の浸潤が目立つが、胆道癌においてもIgG4陽性細胞を伴う症例が存在する。これら疾患では、いずれもTreg細胞がIgG4反応に関連していることが示唆され、IgG4-SCやIgG4-HIPではTh2有意の免疫環境が、また胆道癌では腫瘍免疫回避がTregの増加がIgG4産生亢進に関連している可能性が示唆された。IgG4関連疾患群では、しばしば硬化性病変や腫瘍形成を伴うことから、常に腫瘍、特に悪性腫瘍との鑑別が問題であると同時に、臨床的にチャレンジングな課題となりつつある。この課題の解決のためには、本格的な臨床研究、基礎研究が必要である。

文 献

- 1) Zen Y, Nakanuma Y : IgG4-related disease: a cross-sectional study of 114 cases. *Am J Surg Pathol* 34 : 1812-1819, 2010
- 2) Zen Y, Fujii T, Sato Y et al : Pathological classification of hepatic inflammatory pseudotumor with respect to IgG4-related disease. *Mod Pathol* 20 : 884-894, 2007
- 3) Zen Y, Harada K, Sasaki M et al : IgG4-related sclerosing cholangitis with and without hepatic inflammatory pseudotumor, and sclerosing pancreatitis-associated sclerosing cholangitis: do they belong to a spectrum of sclerosing pancreatitis? *Am J Surg Pathol* 28 : 1193-1203, 2004
- 4) 中沼安二, 全 陽 : IgG4関連硬化性疾患の病態・病態. *病理と臨床* 27 : 17-24, 2009
- 5) Raina A, Krasinskas AM, Greer JB et al : Serum immunoglobulin G fraction 4 levels in pancreatic cancer: elevations not associated with autoimmune pancreatitis. *Arch Pathol Lab Med* 132 : 48-53, 2008
- 6) Ghazale A, Chari ST, Smyrk TC et al : Value of serum IgG4 in the diagnosis of autoimmune pancreatitis and in distinguishing it from pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 102 : 1646-1653, 2007
- 7) Kamisawa T, Chen PY, Tu Y et al : Pancreatic cancer with a high serum IgG4 concentration. *World J Gastroenterol* 12 : 6225-6228, 2006
- 8) Dhall D, Suriawinata AA, Tang LH et al : Use of immunohistochemistry for IgG4 in the distinction of autoimmune pancreatitis from peritumoral pancreatitis. *Hum Pathol* 41 : 643-652, 2010
- 9) Kubota K, Kato S, Uchiyama T et al : Discrimination between sclerosing cholangitis-associated autoimmune pancreatitis and primary sclerosing cholangitis, cancer using intraductal ultrasonography. *Dig Endosc* 23 : 10-16, 2011
- 10) 木村 康, 原田憲一, 中沼安二 : IgG4関連硬化性胆管炎と胆管癌. *消化器と免疫* 2011 (印刷中)
- 11) Kimura Y, Harada K, Nakanuma Y : IgG4 reaction in cholangiocarcinoma reflects tumor immunity involving regulatory T cells (in preparation) .
- 12) Zen Y, Fujii T, Harada K et al : Th2 and regulatory immune reactions are increased in immunoglobulin G4-related sclerosing pancreatitis and cholangitis.

- Hepatology 45 : 1538-1546, 2007
- 13) Koyabu M, Uchida K, Miyoshi H et al : Analysis of regulatory T cells and IgG4-positive plasma cells among patients of IgG4-related sclerosing cholangitis and autoimmune liver diseases. J Gastroenterol 45 : 732-741, 2010
 - 14) Jeannin P, Lecoanet S, Delneste Y et al : IgE versus IgG4 production can be differentially regulated by IL-10. J Immunol 160 : 3555-3561, 1998
 - 15) Sasaki M, Ikeda H, Sawada S et al : Naturally-occurring regulatory T cells are increased in inflamed portal tracts with cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. J Clin Pathol 60 : 1102-1107, 2007
 - 16) Motosugi U, Ichikawa T, Yamaguchi H et al : Small invasive ductal adenocarcinoma of the pancreas associated with lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. Pathol Int 59 : 744-747, 2009
 - 17) Oh HC, Kim JG, Kim JW et al : Early bile duct cancer in a background of sclerosing cholangitis and autoimmune pancreatitis. Intern Med 47 : 2025-2028, 2008
 - 18) Hiraoka N, Onozato K, Kosuge T et al : Prevalence of FOXP3+ regulatory T cells increases during the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma and its premalignant lesions. Clin Cancer Res 12 : 5423-5434, 2006
 - 19) Deshpande V, Sainani NI, Chung RT et al : IgG4-associated cholangitis: a comparative histological and immunophenotypic study with primary sclerosing cholangitis on liver biopsy material. Mod Pathol 22 : 1287-1295, 2009
 - 20) 全 陽, 中沼安二 : IgG4関連疾患におけるサイトカイン発現と制御性T細胞の動態. IgG4関連疾患への誘い -IgG4研究会モノグラフ-. 川茂行, 川野充弘編, 前田書店, 金沢, 93-97

* * *

<第46回日本胆道学会学術集会記録>

教育講演

胆道の臨床病理 —BiIIN を中心として—

中沼 安二

要旨：肝内胆管および胆道の前癌病変・早期癌病変として、平坦型の biliary intraepithelial neoplasia (BiIIN) と乳頭型の intraductal papillary neoplasm (IPN) の2種類の上皮内病変がある。BiIIN は、顕微鏡下で同定され、BiIIN-1, -2, -3 に異型度分類される。軽度異型、中等度異型、高度異型で、BiIIN-3 は上皮内癌に相当する。これらの上皮内異型病変は、2010年 WHO の消化器腫瘍分類の改訂で、認知された。この改訂で、従来、用いられて来た肝胆管嚢胞腺腫/嚢胞腺癌と呼ばれた疾患名がなくなり、膵臓型粘液性嚢胞性腫瘍 mucinous cystic neoplasm (MCN) の概念が肝胆道系に導入され、類縁疾患・鑑別すべき疾患として嚢胞型 IPN (嚢胞型 IPNB (IPN of bile duct) とも呼ばれる) や胆管周囲嚢胞等が記載されている。これらの名称を用いた臨床研究、基礎研究が期待される。

索引用語： BiIIN 分類 悪性度 胆管癌 IPN MCN

はじめに

胆管癌および胆道癌は、難治性の悪性腫瘍であり、発見時、既に進行している症例が多く予後不良である^{1)~5)}。そして現在、早期発見・診断が求められ、外科的切除が現在、胆道癌の唯一の根治的な治療とされている。最近、外科手術手技が進歩し、画像診断手法やバイオマーカーの開発が進み、外科的に切除される症例も少なからず経験されるようになってきた。しかし、胆道癌と診断される時点ではすでに、外科的切除不能の症例も多いのが現状である。また、手術不能例に対して、ステントによる姑息的治療が行われているが、根治的なものではない。また、進行胆道癌に対して十分な予後改善をもたらす化学療法や放射線療法も確立されていない^{1)~4)}。

従来、胆管癌および胆嚢癌を含む胆道癌には前癌病変、癌関連病変・早期癌病変(非浸潤性)の存在することが知られており、これらは種々の名称で呼ばれていた。胆管・胆嚢上皮デスプラジア、腺腫、異型上皮、上皮内腫瘍、早期胆嚢癌、乳頭腫、乳頭腫症、粘液産生胆道腫瘍などが代表的である^{6)~9)}。2009年から2010年にかけて、WHOの消化器腫瘍の分類が10年ぶりに

改訂された^{10)~12)}。この中で、特に胆道癌、肝内胆管癌の前癌病変・早期癌病変に関しても、大きな改訂があった。まず、肝内胆管癌の前癌病変あるいは早期癌病変として、平坦型の biliary intraepithelial neoplasia (BiIIN) と乳頭型の intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPN) なる名称が採用された。我々が従来、胆管癌で研究し、提唱していた病変である^{8)~12)}。さらに、肝胆道系に膵臓で確立されつつある粘液性嚢胞性腫瘍 mucinous cystic neoplasm (MCN) が存在することが記載され、これに関連して肝胆管嚢胞性腺腫/腺癌 hepatobiliary cystadenoma/cystadenocarcinoma なる診断名を用いないことになった。

本稿では、私どもの教室で従来行って来た BiIIN に関する研究、それに2010年のWHO消化器腫瘍の改訂に伴い、胆道系での新しい分類、特に前癌・早期癌病変およびその展開に関して述べ、さらに粘液性嚢胞性腫瘍についても簡単に述べる。

I. 胆管系、胆道の分類

胆道は大きく、胆管系、胆嚢、乳頭部に分類される。胆管系はさらに、肝外胆管、肝門部胆管、肝内大型胆管、それに肝内小型胆管に分類される(図1)。肝外胆管~肝内大型胆管は、疎な結合組織内にあり、肝内小型胆管が位置する肝内での環境とは大きく異なる。肝

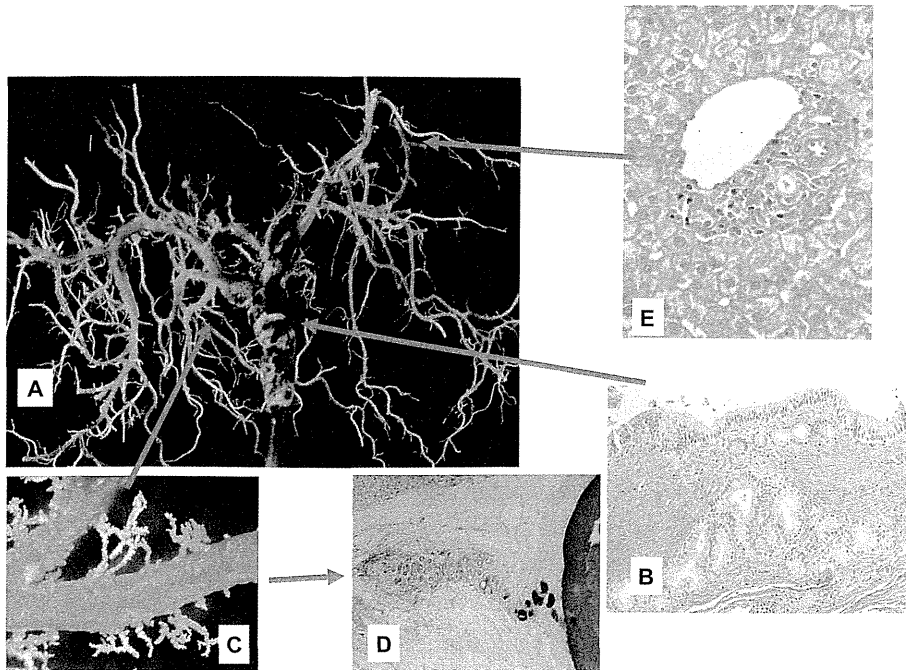


図1 胆道系の解剖. A: 胆管系の鋳型. 正常剖検肝より作成. B: 肝外胆管の胆管壁. 壁内に付属腺をみる. HE 染色. C: 胆管鋳型の拡大像. 胆管周囲付属腺が胆管に付着している. D: 胆管周囲付属腺の組織像. HE 染色. E: 肝内小型胆管 (小葉間胆管). HE 染色.

内外胆管は、一層の立方あるいは円柱上皮で覆われており、肝内大型胆管や肝外胆管では胆管被覆上皮に粘液顆粒が検出される。さらに肝外胆管～肝内大型胆管の周囲には付属線が分布している⁷⁾¹³⁾。この付属腺は小葉構造を呈し、固有の導管を介して、胆管腔と連続する。付属線小葉には、粘液線と漿液腺がみられ、頻度は低く、また量は少ないが腺外分泌腺が付属腺内に混在しており、腺外分泌腺のみからなる腺房も存在する。

II. 胆管癌, 胆道癌

肝内外胆管に発生する癌腫は、総合的に胆管癌 cholangiocarcinoma と呼称される^{3)~5)}。現在、大きく肝内胆管癌 intrahepatic cholangiocarcinoma, 肝門部癌 hilar cholangiocarcinoma, それに肝外胆管癌 extrahepatic cholangiocarcinoma に分けられる。胆嚢癌は肝外胆管癌と一緒に胆道癌 biliary tract carcinoma と呼ばれる。なお、肝門部近くの肝内大型胆管に由来する肝内胆管癌と肝門部癌, 総胆管の肝門部近くに発生する胆管癌は、主に臨床的, 治療医学的な観点から、傍肝門胆管癌 perihilar cholangiocarcinoma と総称する試みがなされている³⁾。胆管癌, 胆嚢癌の殆どが腺癌であり、高分化型～

中分化型の乳頭状, 管状の腺癌であることが多く, 浸潤部では豊富な線維性間質を伴うことが多い。肝内外胆管癌の殆どは, 管腔面が微小乳頭状腺癌であり, 浸潤に伴い管状腺癌の形態を示し, また浸潤先端部では, 癌の異型度が高まることが知られている。また, 胆管内腔あるいは胆嚢内腔に乳頭状に増殖する腫瘍あるいは癌も存在する。また, 胆道癌, 胆管癌では, 病変部周囲の胆管の粘膜面上皮内癌あるいは腫瘍が認められる。これらの病変は臨床サイドでは, 癌の側方粘膜進展と考えられており, 特に乳頭状腫瘍で, 側方粘膜進展の頻度と範囲が広いことが注目されている⁸⁾¹⁴⁾。

胆嚢癌 carcinoma of the gallbladder の殆どは, 腺癌であり, 胆嚢内腔面では, 乳頭状～微小乳頭状腺癌であり, 浸潤すると管状・微小乳頭状腺癌の形態を示し, また浸潤先端部では, 癌の分化度が低下することが知られている。また, ロキタンスキー・アシヨフ洞 (RA 洞) への上皮内進展も知られている。

III. 胆管癌, 胆道癌と前癌病変・初期癌病変

A. 従来の前癌病変, 初期癌病変に関する名称
肝内大型胆管および肝門部胆管を含めた胆道に発生

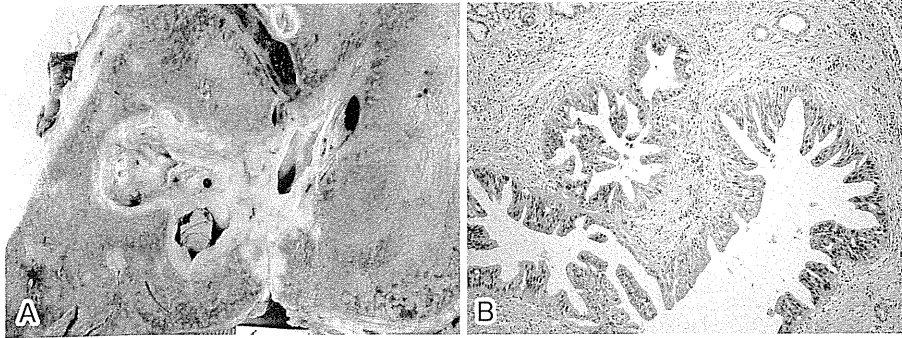


図2 肝内結石症に合併した胆管癌と上皮内異型病変。A：肝内結石症の結石含有胆管周囲に肝内胆管癌をみる。B：肝内結石症＋肝内胆管癌の非癌部胆管で、胆管上皮の異型増殖をみる。BiINに相当する。HE染色。

する腺癌の前癌病変あるいは初期癌病変として、デスプラジア、胆管異型上皮、腺腫 adenoma、乳頭腫 papilloma、乳頭腫症 papillomatosis、乳頭状腫瘍、粘液産生胆道腫瘍 mucin producing bile duct tumor 等が知られている⁷⁾⁹⁾¹³⁾(図2)。しかし、これら病変は胆管、胆嚢粘膜上皮層内の腫瘍性あるいは異型病変であり、それぞれの病変のカバーする領域は、お互いにオーバーラップしている、あるいは類似していると思われる。しかし、これら病変の異同や比較に関する研究は、殆どなされておらず、胆道癌の前癌病変の基礎研究、臨床研究および臨床応用の大きな障害になっていると思われる。

B. WHO2010 が提唱した胆管癌、胆嚢癌の前癌病変・初期癌病変

2009年から2010年にかけて、WHOの消化器腫瘍の組織分類が10年ぶりに改訂された。胆管・胆道系腫瘍に関しても、いくつかの改訂があった。その中で、最も大きな改訂点として、胆管・胆道系の前癌・早期の癌病変(上皮内病変 intraepithelial neoplasm)が、大きく平坦型 BiIN と乳頭型病変 IPN の2種類に整理・分類され、それぞれの異型度の規準が示された。これらの病変は、私どもが、肝内結石症に合併する胆管癌の前癌病変あるいは上皮内癌として、従来より報告していた病変であり、この概念が、今回のWHO消化器腫瘍の改訂で、肝内胆管系のみならず胆嚢を含めた胆道系に幅広く採用された。従来、デスプラジア、腺腫、乳頭腫などの多くの名称で呼ばれていた病変^{13)~22)}が、BiIN および IPN なる共通した用語で検討されることが期待される。なお、IPNは、我々が従来、胆管系で IPNB と呼んでいた病変である¹⁰⁾¹¹⁾。

1. BiIN

非浸潤性の胆管上皮の腫瘍性、異型病変であり、顕微鏡下に同定される。従来より、肝内結石症やその他の慢性胆道炎・胆管炎や胆道形成異常例に発生する胆管癌では、浸潤癌部以外の肝内大型胆管に、胆管被覆上皮に種々の異型病変が見られることが知られている^{6)15)~18)}。これらの病変は、癌を合併しない原発性硬化性胆管炎(PSC)や先天性の胆道形成異常疾患でも認められる。そして、BiINは胆管癌、胆道癌の多段階発癌過程を反映する病変と考えられる^{15)~17)}。また、胆石症や胆石症＋胆嚢癌の非癌部の胆嚢粘膜にも、類似の異型病変がみられ、BiINと呼ぶことが出来る³⁾。反応性、炎症性の胆管病変でも、胆管上皮の過形成性あるいは反応性の異型性病変が出現するが、これとは区別する必要がある。なお、BiIN類似の異型病変は肝内小型胆管にも認められ、特に慢性進行性肝疾患で経験されることがある¹⁹⁾。また、カロリ病や先天性肝線維症でも、小型胆管にBiIN病変をみることがある。

1) 形態学的特徴

顕微鏡下に認められる病変であり、肉眼的に平坦型病変である。顕微鏡的には、胆管被覆上皮の核の大型化(核/胞体比の増加を伴う)、濃染、多層化、大小不同を示し、極性の乱れや核の管腔側への迫り出し像も種々の程度にみられる。胞体の濃染もみられる。平坦な病変も見られるが、多くの病変は微小乳頭状の増殖パターンを示す。なお、反応性の胆管上皮の増殖性病変、異型病変(図3A, B, C)との鑑別が重要である。なお、従来の研究は、主として胆管固有上皮での研究や異型度分類が中心であるが、胆管には化生性変化がみられることがあり、これらの化生病変での異型度の

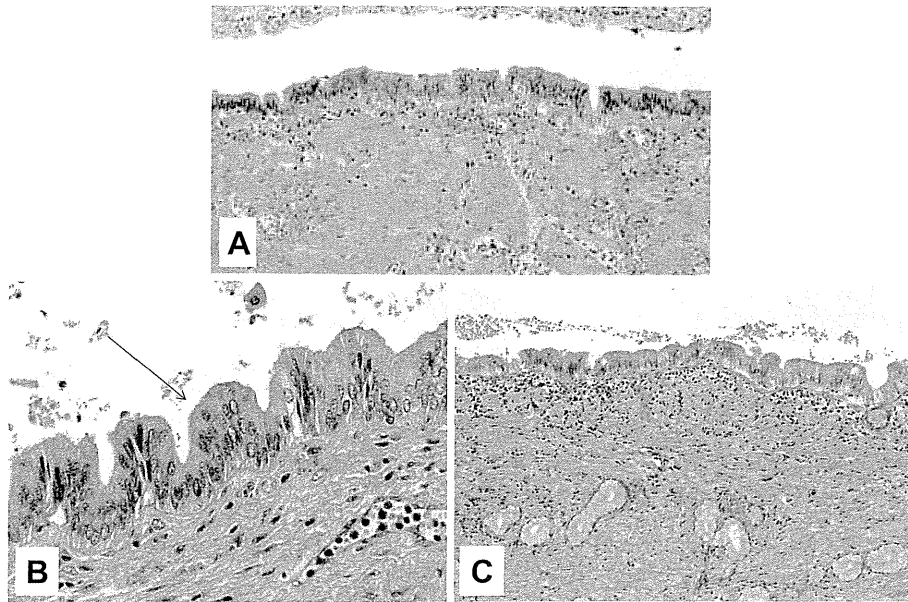


図3 胆管被覆上皮に見られた反応性，過形成病変 (A, B, C). 多層化や軽度の核の大小不同をみるが，クロマチンは繊細で均質 (→)，極性は保たれている．HE 染色．

評価の指標を今後，検討する必要がある．さらに，肝内外胆管や胆嚢では，しばしば炎症性変化が同時に見られ，これに伴う胆管上皮の障害が異型度判断の妨げになることが経験されている．BiIN の判断は，炎症性病変の少ない部位で行うことを勧められるが，炎症部での異型度判断も今後の大きな研究課題である．

2) 反応性病変と BiIN 異型度分類

反応性の病変は慢性胆管炎でしばしば認められる．細胞密度の増加と軽度の多層化が主体の病変で (図 3 A, B, C)，核は円形あるいは卵形で，核縁は平滑 (図 3B の→)．クロマチンは繊細で，均質で，上皮内への炎症性細胞をみるのが少ない．明らかな腫瘍性の細胞異型はない．平坦あるいは低乳頭状の病変で，範囲は局所性から広範囲に及ぶ．

BiIN は，その異型度により，BiIN-1 (low grade)，BiIN-2 (intermediate grade)，BiIN-3 (high grade) に分類される．BiIN-1 は，従来の軽度異型あるいは軽度のデスプラジアに，BiIN-2 は中等度のデスプラジアに相当する．BiIN-3 は，高度のデスプラジアあるいは上皮内癌に相当する異型度を示す．BiIN は，種々の局面を形成するが，その異型度が強くなるにつれて，局面の面積あるいは範囲が広がる傾向があり，顕微鏡下では，隣接する複数の肝内大型胆管内腔面に BiIN 病変

を認める例が多い．

BiIN-1：腫瘍性の細胞異型を有するが悪性といえるほどの細胞異型はなく，核の多層化をみるが，細胞極性は保たれている (図 4A)．核の多層化，軽度の核の大型化 (核/胞体比の増加を伴う) や大小不同，核の形はややいびつとなる (図 4A の→)．核濃染を示す胆管病変で，しばしば低乳頭状の病変である．病変は局所性から領域性に分布する．

BiIN-2：BiIN-1 病変が全体につよくなり，さらに核の管腔縁への迫り出しがあり，核が管腔縁に面している様にみえる (図 4B の→)．明確な核形不整があるが悪性といえるほどの細胞異型なく，細胞極性の乱れは軽い．病変の範囲は領域性～広汎に分布する．

BiIN-3：BiIN-2 の病変が強くなるに加え，明らかな極性の乱れが出現する (図 5A, B, C)．核形がいびつとなり，異型度的には，上皮内癌と考えられる (図 5B, C の→)．核分裂像をみることがある．多くは，BiIN-2 と連続性のある異型病変であり，BiIN-2 との鑑別が問題となる．しかし，このような BiIN-3 に加え，奇異な形態を示す核や胞体を示す癌性胆管上皮もみられる．この病変，特に後者の病変と癌の側方進展あるいは癌が再度，胆管内腔に入り，上皮内病変を形成する，いわゆる胆管での cancerization との鑑別は困難である．

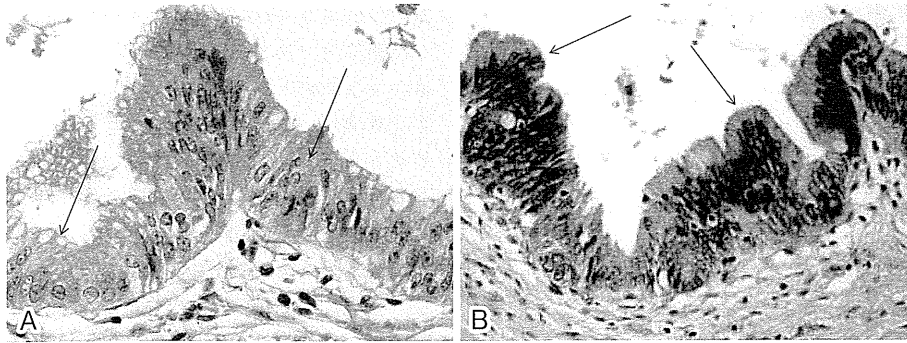


図4 BiIN 病変(胆管被覆上皮の上皮内腫瘍性増殖). A (BiIN-1)では軽度異型がみられる. 核の大小不同, 多層化をみる (→). B (BiIN-2)では中等度の異型をみる. 核の多層化が目立ち, 核の内腔への迫り出しや濃染がみられる (→). HE 染色.

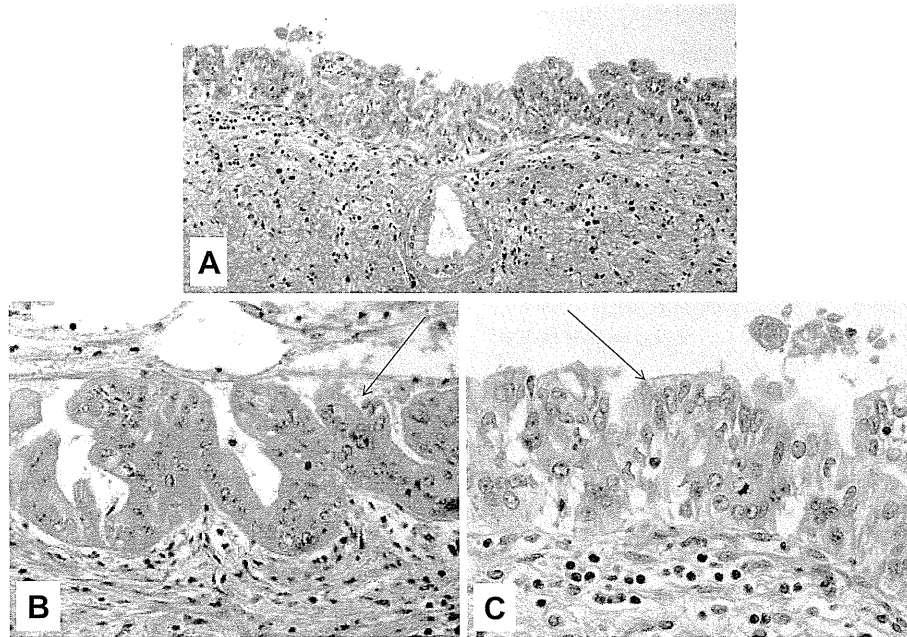


図5 BiIN 病変(胆管被覆上皮の上皮内腫瘍性増殖) (A, B, C). 核の大小不同, 核形の乱れ, 極性の乱れがあり (→), いずれも高度異型を示し, 悪性と考えられる (BiIN-3).

明らかに悪性といえる細胞異型を伴う。悪性といえるほどの細胞異型はなく、び漫的もしくは部分的に細胞極性の乱れがあり、病変の範囲は領域性～広汎に分布する。

BiIN 病変の異型度のアルゴリズムを図6に示す。

なお, BiIN に関する研究は, 従来は, 主として, 肝内結石症の肝内大型胆管を中心に研究が進んでおり, その性状が明らかにされて来た。しかし, BiIN 病変は,

胆管周囲付属腺, 肝外胆管や胆嚢, また肝内小型胆管や細胆管にもみられることが知られているが(図7A, B), これらの部位では, 系統的な研究は殆どなされておらず, 今後の更なる研究が必要と思われる。

3) 胆管癌への進展と分子病理学

BiIN 病変, 特に BiIN-3 が, 通常型の胆管癌および胆道癌へと進展すると考えられる。しかし, 具体的な浸潤プロセスや進展機序に関して, 不明な点が多く残

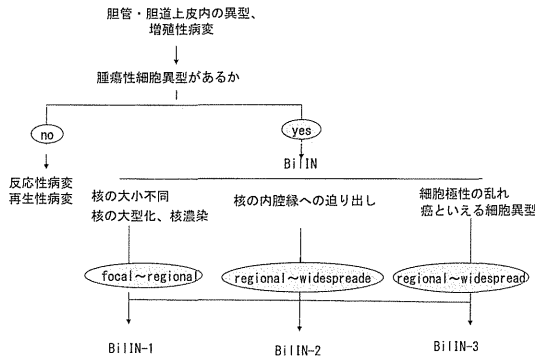


図 6 胆管・胆道粘膜上皮層内増殖性、異型病変の病理診断アルゴリズム。

されている。BiIN3 から通常型の胆管癌，胆道癌（管状腺癌，微小乳頭状腺癌）へと進展すると考えられている。

胆道癌あるいは胆管癌の少なくとも一部は肝内結石症や原発性硬化性胆管炎，また先天性の胆道形成異常などの慢性胆道障害，炎症を背景に発生することが知られている¹¹⁾²⁰⁾。慢性胆道障害の局所では，胆管上皮は異常な胆汁酸や酸化ストレスに暴露しており，炎症細胞および間質細胞，さらには傷害胆管上皮から種々のサイトカインや増殖因子，多くの生物学的活性化物質が産生，分泌される。その結果として，癌細胞あるいは前癌細胞がアポトーシス，細胞老化や免疫監視機構から回避し，無制限な増殖能や浸潤や転移に関連する分子や酵素の活性化を獲得するとされている。また腫瘍細胞の上皮間質形質転換epithelial mesenchymal transition (EMT) も胆道癌の発生・進展に関連することが注目されている。EMT は，上皮細胞が間葉系細胞の形質や形状を獲得する現象であり，癌細胞が間葉系様の細胞に変化することにより，間質内への侵入が容易となり，転移も発生し易くなると考えられている。また，浸潤時に，腫瘍内で産生，分泌される prostaglandin E2 (PGE2)，cyclooxygenase-2 (COX2)，matrix metalloproteinase (MMP) 等の内因性腫瘍促進因子が直接的，間接的に腫瘍の進展に重要であり，胆道癌でもこれらの内因子の演ずる役割が注目されている^{4)21)~24)}。図 8 に，現在知られている胆道癌にみられるこれらの生物学的現象とこれに関連する分子の概略を示す。

これらの中で，何が最も重要なのかに関しては今後の検討であるが，以下に我々が注目している P16^{INK4a} が関係する細胞老化と胆管癌の進展に関して，述べる。

EZH2 はポリコーム群タンパクのうちの 1 つで，ヒストン修飾蛋白であり，ヒストンのメチル化により癌抑制遺伝子を抑制するとされており，また各種の癌において過剰発現していると報告されている。癌抑制遺伝子である P16^{INK4a} の発現低下がいくつかの悪性腫瘍の発生進展に関係していることが知られている。胆道癌に関しては，その前癌病変である BiIN1 では P16^{INK4a} の発現がしばしば見られるが，BiIN の進展に従い発現が低下し，浸潤癌では P16^{INK4a} の発現は殆どみられない。一方，ポリコーム蛋白である EZH2 の発現が胆道癌の多段階発癌である BiIN1→BiIN 2→BiIN 3，それに浸潤癌と進展に従い，発現率が亢進し，逆に癌抑制遺伝子 P16^{INK4a} との発現低下に関連していることが明らかとなっている（図 9AB，10AB）¹⁵⁾。EZH2 の過剰発現が P16^{INK4a} プロモーターのメチル化を誘導し，その結果として P16^{INK4a} の発現低下を来したと考えられる²⁴⁾。

4) BiIN の臨床

胆管癌，胆道癌の根治的治療は，現時点では，早期発見と切除が唯一の方法と思われる。上述のごとく，胆管癌，胆道癌の前癌病変，初期病変である BiIN の発見とその異型度の評価，それに胆道系での局在を臨床病理学的に行う必要がある。BiIN は，顕微鏡的な病変であり，画像でこの病変を検出し，さらにその異型度を判断することは現時点では試みられていない。現在，血清および胆汁などの臨床資料を用いた診断が試みられている。

また，現在，胆道内視鏡の進歩に伴い，胆道および肝内胆管，特に大型胆管での粘膜面の観察をかなりの精度で行える様になって来た。これに伴い，胆道，胆管の粘膜病変の性状を，胆道内視鏡を駆使して，精査し，さらに診断，治療を行える可能性も出て来ている。前述の如く，BiIN は，胆道あるいは肝門部胆管，肝内大型胆管にみられ，さらに BiIN2/3 は，胆道粘膜に領域あるいは局面を形成することが明らかとなっている。従って，これらの領域性の BiIN 病変は，胆道内視鏡により，確認あるいは同定出来る可能性がある。今後の，胆道内視鏡を用いた BiIN 病変の発生と進展，さらには異型度の診断を可能とする臨床研究が期待される。さらに，胆道内視鏡で，biIN2/3 病変が，肉眼的に同定されると，これを狙った粘膜生検による検索が可能となると期待される。病変部粘膜病変の粘膜切除も可能となるかもしれない。いずれにしても今後の臨床研究課題である。

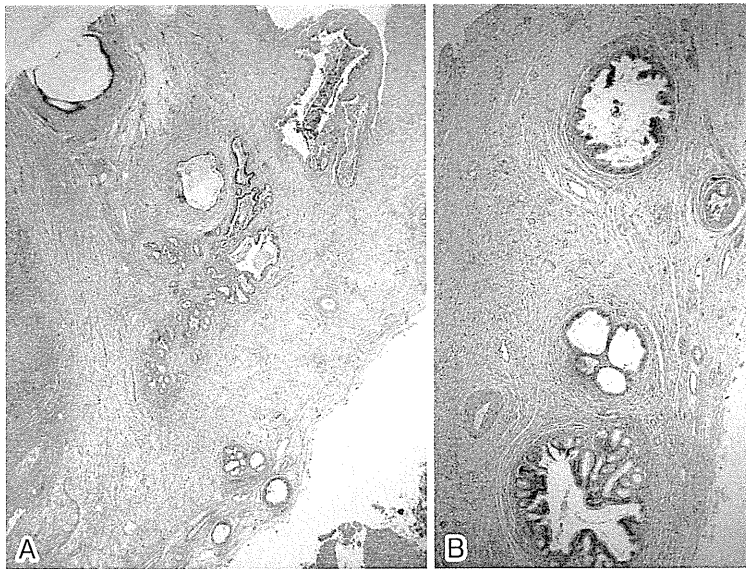


図7 肝内結石症にみられた胆管壁内付属腺の増殖性、異型病変. BiINに相当する像を示す. A, B : HE 染色.

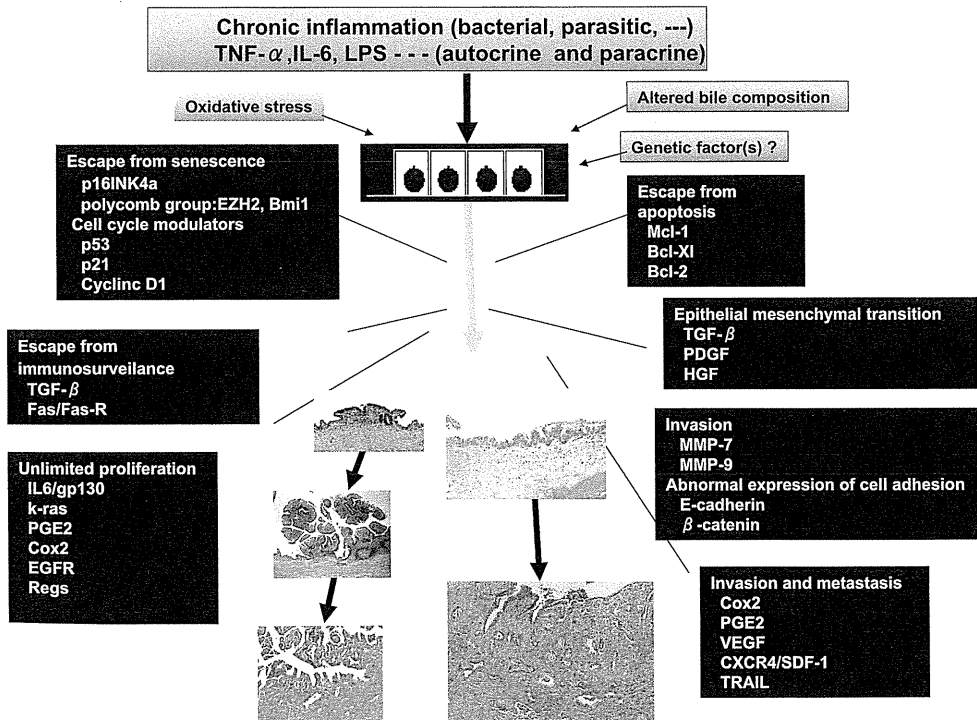


図8 胆道癌発生の分子病理学. 胆道癌発生には平坦型異型病変 (BiIN) と乳頭状異型病変 (IPN) からの進展がある. 多数の分子, 遺伝子が胆道発癌と癌進展に関連している.