

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

Hirschsprung病類縁疾患： Hirschsprung病類縁疾患に対する病理学的検討

研究分担者（順不同） 中澤 温子 国立成育医療研究センター病理診断部 部長
小田 義直 九州大学大学院医学研究院形態機能病理学 教授

【研究要旨】

HD病類縁疾患で最も多いhypoganglionosis(HG)についてHuC/D 抗体を用い、簡便で再現性のある組織学的診断方法を検討した。HGでは24例全例切除腸管1cmあたりの神経節細胞数は20個未満であった。生検部位を含めたHGの病理診断ガイドラインの作成を行った。

研究協力者

孝橋 賢一（九州大学医学研究院 講師）
畑中 政博（獨協大学越谷病院 助教）
三好 きな（九州大学医学研究院 大学院生）

Statistics ver. 21を用い、検定を行った。

2. HG病理診断ガイドラインの作成

当研究班において小児外科医、病理医が討論し、全国調査の結果も踏まえて、HG病理診断ガイドラインの作成を行った。

A. 研究目的

HD病類縁疾患で最も多いhypoganglionosis (HG)について、免疫組織学的評価を行い、病理診断ガイドラインを作成する。

（倫理面への配慮）

本研究における病理診断は、関連法規を遵守し、倫理委員会の承認を経た上で、検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って実施した。

B. 研究方法

1. HGの免疫組織学的評価

対象：対照となる正常腸管として、手術検体26例（日齢1日～10歳）、HG 24例（日齢1日～15歳；空腸13例、回腸8例、結腸3例）の全層生検ホルマリン固定パラフィン切片。

方法：HuC/D抗体を用いた免疫染色標本を作成し、切除腸管1cmあたりの筋層間神経叢におけるHuC/D陽性細胞を計数する。陽性細胞の計数方法は、Maya Swaminathanらの論文（Human Pathology, 41, 1097-1108, 2010年）に記載されている基準を用いた。各群の平均値比較は統計ソフト IBM SPSS

C. 研究結果

1. HGの免疫組織学的評価

HG群では対照群と比較してHuC/D陽性細胞が有意に少なく、全例20個/cm未満であった。対照群の中に、HuC/D陽性細胞が20個/cm以下の症例が5例（臍腸管遺残 1, メッケル憩室 1, NEC 1, 鎖肛 1, 胎便性腹膜炎 1）認められたが、その原因は明らかでなかった。

2. HG病理診断ガイドラインの作成

当研究班での検討の結果、下記のガイドラ

イン(案)を作成した。

Isolated congenital hypoganglionosis (hypoganglionosis)の病理診断ガイドライン(案)

Hypoganglionosisは新生児期にイレウスとして発症することがほとんどであり、鑑別診断として小腸閉鎖、Hypoganglionosis、Hirschsprung病、Immaturity of gangliaが挙げられる。小腸閉鎖は術中所見で診断できるが、Hypoganglionosis、Hirschsprung病、Immaturity of gangliaの鑑別は術中所見、術中迅速診断では不可能な場合が多いため、常時対応可能な病理医がいる場合を除き術中迅速診断は行わない。

新生児イレウスで緊急開腹手術を行う場合には、Hypoganglionosisの病理診断を正確に行うために、腸管全層を観察できる十分な検体(目安としては1cm長)を採取する(下図参照)。全層生検の検体採取は、(1)caliber changeより十分口側小腸に人工肛門を造設し、全周(竹輪状)標本、(2)回腸末端、(3)S状結腸(もしくは横行結腸)で行う。標本は直ちに通常ホルマリン固定を行いパラフィン切片のHE染色による診断を原則とする。

(1)に正常サイズのplexusが存在しganglion cellも正常で、(2)(3)にganglion cellがない場合はHirschsprung病と診断される。この場合(3)には肥大神経線維束が存在する。

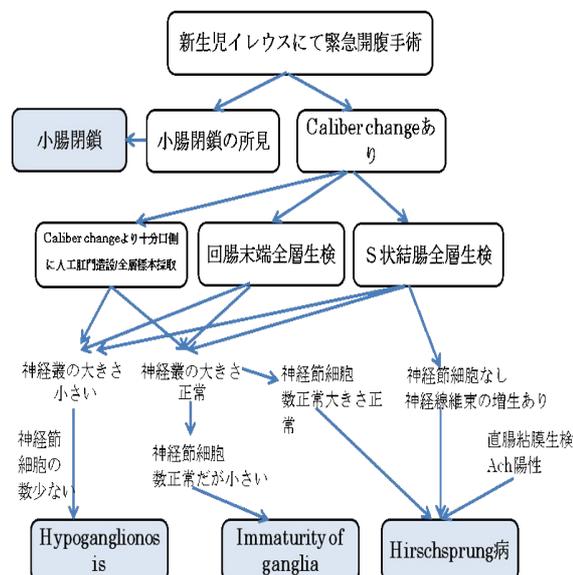
(1)(2)(3)に正常サイズのplexusが存在し、ganglion cellの数は正常だが大きさが小さく胞体が少ない場合はImmaturity of gangliaと診断される。Immaturity of gangliaでは、gangliaが小さく、神経節細胞も小型で細胞質が狭く、未熟である。

(1)(2)(3)ともganglion cellは存在するが少なく、大きさも小さい場合 isolated congenital hypoganglionosisと診断される。Ganglion cellの数が極めて少ない場合はHirschsprung病の無神

経節腸管との区別が難しい場合もある。Hypoganglionosisでは結腸のganglion cellは小腸よりもやや多いことが多く、また肥大神経線維束は欠如するので、診断の一助となる。

もし(1)(2)(3)に全くganglion cellがない場合は非常にまれであるがTotal intestinal aganglionosisとなる。

なおHypoganglionosisの病理診断には、HuC/D抗体を用いた免疫組織化学染色を行うと、ganglion cellが特異的に染色されるので、小型の未熟なganglion cellとSchwan細胞を区別するのに極めて有効である。Ganglion cellの数を正確に数えることも可能である。



*Immaturity of gangliaについては、人工肛門切除時に神経叢、神経細胞に異常がないことを確認し、最終的に診断を確定する。

D. 考察

腸管壁内神経細胞が存在するにもかかわらず腸管蠕動不全を来たすHD類縁疾患の診断や分類に関して、いまだ一定のコンセンサスが得られていない。これはHD類縁疾患の希少性だけでなく、HD類縁疾患の病理学的診断はH.E染色やAchE染色による形態学的検討が主であ

り、診断の精度や再現性に問題があることが理由としてあげられる。近年、新たなアプローチとして免疫組織化学染色によるHD類縁疾患の病理学的診断・分類の試みが報告されるようになったが、HD類縁疾患の定義に利用されるまでには至っていない。

今回、HGについては、HuC/D染色にて、概ね、20個/cm以上のHuC/D陽性細胞があれば、HGの可能性は低いと考えられた。対照群の中に、HuC/D陽性細胞が20個/cm以下の症例が5例（臍腸管遺残 1，メッケル憩室 1，NEC 1，鎖肛 1，胎便性腹膜炎 1）認められたが、その原因は明らかでなかった。

今回の全国調査の登録症例全例で、新生児期早期に腸閉塞症状を認めた。したがって新生児期の腸閉塞の緊急手術時に、HGの病理診断に必要な全層生検を行うことを想定し、生検部位や方法（腸管全周を人工肛門造設部で採取するなど）について、病理診断ガイドライン（案）を作成した。今後この方法により、統一された全層生検のデータが集積すれば、HGの診断基準として、具体的な数値が策定できると考えられる。

E．結論

HGの病理診断ガイドラインの策定にあたり、腸管神経叢の神経節細胞について免疫組織化学染色により、評価を試みた。

HuC/D抗体を用いた免疫組織学的検討では、HG症例の筋層間神経節細胞は全例で20/cm未満であった。

HDとの鑑別を確実にを行うことを主旨とし、HG病理診断のためのガイドライン（案）を作成した。

F．研究発表

1．論文発表

該当なし

2．学会発表

1. Masahiro Hatanaka, Astuko Nakazawa, Nastuko Nakano, Chizuko Haga, Hajime Okita, Kentaro Matuoka, Mariko Aoki, Akihiro Igarashi, Junko Fujino, Makoto Suzuki, Yuki Ishimaru, Kazunori Tahara, Hitosi Ikeda. Pathological Evaluation of Hypo ganglionosis using Immunohisto chemistry. 第46回太平洋小児外科学会議, Hunter Valley, Australia 2013.4.10.
2. 畑中政博, 中野夏子, 羽賀千都子, 大喜多肇, 松岡健太郎, 中澤温子: 免疫組織化学染色を用いたヒルシュスプルング病類縁疾患に対する病理学的評価. 第50回日本小児外科学会学術集会, 東京, 2013.6.1.
3. 畑中政博, 中野夏子, 羽賀千都子, 大喜多肇, 松岡健太郎, 中澤温子: 免疫組織化学染色を用いた腸管神経叢発育の評価. 第102回日本病理学会総会, 札幌, 2013.6.7.

G．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