

EUS-FNA による 1 型自己免疫性膵炎の病理組織診断についての 多施設共同研究

研究分担者 能登原憲司 倉敷中央病院 主任部長

研究要旨：EUS-FNA 組織診断の有用性を検討し、「自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス」を作成した。膵癌 86 例、非腫瘍 89 例の生検組織を集積し、0.5mm 長以上の組織が採取された膵癌 65 例、非腫瘍 76 例について検討したところ、生検診断は主に IgG4 陽性細胞の数の評価（92.1%で $>10/\text{HPF}$ ）により、国際コンセンサス診断基準、本邦臨床診断基準 2011 での自己免疫性膵炎確診に貢献できた。病理医の間で議論を深め、さらに生検検体の検討結果も加味して「自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス」を作成した。診断者間診断一致を検討したところ、膵癌と自己免疫性膵炎の鑑別においてこのガイドンスは有効で、特に acinar-ductal metaplasia について解説することにより、膵癌の偽陽性が著しく減少した。しかしながら、自己免疫性膵炎の診断における有効性についてはさらなる検討が必要と考えられた。

共同研究者：

神澤 輝美（都立駒込病院）
岩崎 栄典（慶應義塾大学 消化器内科）
菅野 敦（東北大学病院 消化器内科）
窪田 賢輔（横浜市立大学 がん総合医科学）
倉石 康弘（信州大学 内科学第二教室）
児玉 裕三（神戸大学 消化器内科）
阪上 順一（京都府立医科大学 消化器内科学）
清水 京子（東京女子医科大学 消化器内科学）
内藤 格（名古屋市立大学 消化器・代謝内科学）
仲瀬 裕志（札幌医科大学 消化器内科）
西野 隆義（東京女子医科大学八千代医療センター）
本谷 雅代（札幌医科大学 消化器内科）
川 茂幸（松本歯科大学 内科学）
上原 剛（信州大学 病態解析診断学）
笠島 里美（金沢大学医薬保健研究域病態検査学）
相島 慎一（佐賀大学 診断病理学分野）
大池 信之（昭和大学藤が丘病院 臨床病理診断科）
川島 篤弘（金沢医療センター 病理診断科）
小嶋 基寛（国立がん研究センター東病院）

田尻 琢磨（東海大学八王子病院 病理診断科）
内藤 嘉紀（久留米大学病院 病理診断科・病理部）
平林 健一（東海大学 病理診断学）
福嶋 敬宜（自治医科大学 病理学講座）
福村 由紀（順天堂大学 人体病理病態学講座）
古川 徹（東北大学 病理形態学分野）
三橋 智子（北海道大学病院 病理診断科）
山口 浩（東京医科大学 人体病理学）
池浦 司（関西医科大学内科学第三講座）
岡崎 和一（関西医科大学 内科学第三講座）

A. 研究目的

EUS-FNA(超音波内視鏡下穿刺吸引法)で得られた、1 型自己免疫性膵炎を含む非腫瘍性疾患ならびに膵癌症例の組織標本を集積し、以下の点を明らかにする。

1. EUS-FNA の生検組織を解析し、その有用性を検討する。
2. 非腫瘍性疾患の組織標本を複数の病理医間で共有し、診断に際しての問題点を明らか

にし、1 で得られたデータも踏まえて生検診断のためのガイドンスを作成する。

3. 同一の組織標本を複数の病理医が診断し、膵癌と非腫瘍性病変、さらには1型自己免疫性膵炎と他の非腫瘍性疾患を正しく鑑別できるか検証するとともに、ガイドンスの有用性を検証する。

B. 研究方法

1. 研究対象

昨年度までに症例の集積、2010年1月から2017年12月までにEUS-FNAが行われ、組織診断に足る十分な材料が採取された次の2つの患者群を対象とし、集積した。いずれの患者群も、EUS-FNAで正しい病理診断が得られたか否かは問わない。

1) 他の病理学的アプローチ、あるいは臨床経過から膵癌（膵管癌）で間違いない症例

2) 臨床所見、経過から自己免疫性膵炎（1型、2型）や腫瘤形成性膵炎などの非腫瘍性疾患で間違いない症例

2. 臨床データの収集

以下の項目についてのデータを収集した。

- 1) 臨床所見（年齢、性別）
- 2) 臨床診断
- 3) 血液所見（IgG4）
- 4) 画像所見（膵病変の局在部位・病変分布、他臓器病変の有無と部位）
- 5) 病理所見（細胞診診断、組織診断）
- 6) ステロイド治療の有無と効果
- 7) EUS-FNAの生検針（針の種類、大きさ）と穿刺回数

3. 組織検体の収集

各施設の研究協力者、ならびに病理診断科/検査室の責任者に、依頼状により病理標本（スライドグラス）の貸与を依頼した。HE標本

のほか、EVG等の弾性線維染色、IgG4免疫染色、IgG免疫染色を収集した。いずれがない場合や染色不良である場合は後日、依頼状により未染色標本10枚（困難であれば可能な枚数）の提供、あるいはパラフィン・ブロックの貸与を依頼し、病理組織解析施設にて標本作製を行った。病理医間での共有のため、染色標本からバーチャルスライドを作成した。

4. EUS-FNA生検の有用性の検討

病理組織解析責任者が組織学的評価、弾性線維染色、免疫染色の評価を行った。膵癌症例の評価は、1型自己免疫性膵炎との鑑別の観点から、間質の性状に注目した。バーチャルスライドのスケールの機能を用い、HE標本の長さを計測した。免疫染色標本は、IgG4陽性細胞の多い3視野でIgG4、IgG陽性細胞数を計測し、IgG4陽性細胞数の最大値および平均、IgG4/IgG陽性細胞比を算出した。

5. ガイドンス作成

メンバー（5名の病理医）の間で、非腫瘍の症例のうち採取量の多いものをバーチャルスライドで共有した。HE染色、弾性線維染色、IgG4およびIgG免疫染色の標本を公開した。免疫染色の評価は病理組織解析責任者がカウントしたもの（具体的な数値）を共有した。3回の分科会およびメール審議を行い、問題点を全員で抽出して議論し、病理組織解析責任者が1型自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス案を作成し、全員で議論、修正を行った（第1版）。最後に、診断者間診断一致の検討に参加した病理医の意見を反映させて病理分科会案（第2版）とした。最終案はさらに分科会や班会議、メール審議にて岡崎班班員、日本膵臓学会膵炎調査研究委員会自己免疫性膵炎分科会委員に提示し、意見を募るとともに、さらに生検の有用性の検討で得られたデータに基づいて修正し、ガイドン

スを完成させた（最終版）。

6. 診断者間診断一致についての検討

ガイドンス作成グループとは別の病理医 8 名が、膵癌、非腫瘍を含む 41 症例をバーチャルスライドで診断した。参加した病理医は、最初は HE 標本のみで膵癌か非腫瘍かを診断し（第 1 ステップ）、非腫瘍とした症例については特殊染色の評価（弾性線維染色、IgG4 染色はバーチャルスライドで提供、IgG4 陽性細胞数、IgG4/IgG 比は数値で提供）の後に 1 型自己免疫性膵炎か否かを回答した（第 2 ステップ）。第 2 ステップでは花筈状線維化、閉塞性静脈炎等の所見の有無についても回答した。次に、作成した 1 型自己免疫性膵炎生検診断のガイドンス（第 1 版）についてパワーポイントファイルで学習した後、1 回目（第 1 回）とは異なる症例を用いて再度同様に評価を行った（第 2 回）。

第 1 回と第 2 回は標本の質が同じになるよう、膵癌、非腫瘍についてそれぞれ、標本を長さ（バーチャルスライドの計測機能を使用して計測）によって順位付けし、第 1 回の評価には上位から奇数番を、第 2 回の評価には偶数番を使用した。

（倫理面への配慮）

研究実施に係る情報・試料を取扱う際は、特定の個人を直ちに判別できる情報（氏名、住所、診療録番号等）は利用せず、研究対象者とは無関係の番号（研究対象者識別コード）を付して匿名化として管理し、研究対象者の秘密保護に十分配慮する。本研究は関西医科大学（番号 1017207）、倉敷中央病院（同 2778）の倫理委員会で承認され、研究協力施設においても倫理委員会の審査を依頼した。

C. 研究結果

昨年度までに症例の集積（膵癌 86 例、非腫瘍 89 例）、特殊染色、バーチャルスライドの作成を完了した。本年度は結果の解析とガイドンス作成、診断者間診断一致についての検討を行った。

1. EUS-FNA 生検の有用性

膵癌、非腫瘍の組織検体のうち、0.5mm 以上の組織が採取できていた膵癌 65 例、非腫瘍 76 例を検討対象とした。6 例の膵癌症例は炎症細胞浸潤のない線維化のみで、特殊染色は行わなかった。

花筈状線維化（40.8%）、閉塞性静脈炎（31.6%）、膵管上皮周囲への細胞浸潤（25.0%）、神経周囲炎（7.9%）、動脈周囲炎（3.9%）が認められた。花筈状線維化、閉塞性静脈炎、膵管上皮周囲の炎症のある検体はない検体と比較して有意に検体が大きかったが、5mm 長以上の検体に限って検討すると花筈状線維化についてはこの有意差が消失した。IgG4 陽性細胞 >10/HPF は 92.1%、IgG4/IgG 陽性細胞比 >40% は 88.2% の症例に認められ、3 視野平均でも IgG4 陽性細胞 >10/HPF は 78.9%、IgG4/IgG 陽性細胞比 >40% は 68.4% の症例で満たされていた。採取時の artifact による形質細胞の破砕が免疫染色標本のバックグラウンド染色になり、生検標本での IgG4 陽性細胞数評価が困難になる、あるいは過少評価される原因であった。IgG4 陽性細胞数と血清 IgG4 値は関連していた。

本邦の自己免疫性膵炎診断基準 2011（JPS 2011）の組織診断項目に基づく、32 例（42.1%）は組織学的確診（項目 4 つのうち 3 つ以上合致）で、39 例（51.3%）は 2 項目合致であった。画像、臨床情報を含め診断基準に基づく検証を行ったところ、びまん性病変を形成した 23 例はほとんどが血清 IgG4、他臓器病変で確診となり、組織像が確診のために必要であった症例は 1 例のみであったが、

巣状あるいは分節状病変を形成した 53 例のうち国際コンセンサス診断基準 (ICDC) では 15/42 例 (39.4%)、JPS 2011 では 25/42 例 (51.3%) で組織像が診断に必須で、さらにそれ以外の 9 例では ERCP あるいは組織像で診断とできた。

2. ガイダンス作成

研究方法で述べたステップを完了し、資料 1 に示す「自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス」を完成した。議論を通じて、EUS-FNA 生検による膵癌との鑑別についても解説することとした。

3. 診断者間診断一致についての検討

腫瘍と非腫瘍の鑑別を問う第 1 ステップの κ 値は、第 1 回が 0.780 と良好で、さらに第 2 回では 0.851、第 2 回の第 2 ステップで 0.946 と向上がみられた。第 2 回の第 2 ステップでの向上は、異なるスライスの HE 標本を新たに提供したことが診断の向上につながった。膵病理専門の 7 名に絞ると、第 1 回が 0.879、第 2 回が 0.958、第 2 回の第 2 ステップでは 0.986 と極めて良好な結果であった。

第 1 ステップの誤答のうち、非腫瘍を腺癌としたもの (偽陽性) は全回答の中で第 1 回はのべ 10 例、第 2 回は 1 例と減少した。これは acinar-ductal metaplasia (ADM) についてのガイドンスでの解説が有効であったと考えられる。腺癌症例を非腫瘍とした誤答 (偽陰性) は全回答の中で第 1 回はのべ 18 例、第 2 回は 14 例であった。膵病理専門の 7 名に限ると 8 例から 2 例に減少したものの、それ以外の 2 名では 10 例から 12 例に増加した。

一方、第 2 ステップでの花筈状線維化、閉塞性静脈炎、膵管上皮周囲の炎症、多数の IgG4 陽性細胞についての κ 値は、第 1 回/第 2 回においてそれぞれ、0/231/0.262、0.457/0.327、0.272/0.097、0.598/0.325 で、

多数の IgG4 陽性細胞を除くと芳しくなく、ガイドンスによる改善も得られなかった。中央診断との一致率を診断者ごとに比較したところ、花筈状線維化は一致率の向上がみられたが、閉塞性静脈炎、膵管上皮周囲の炎症はむしろ低下しており、ガイドンスの記載内容と自身の考えとの間で判断に迷っていることが伺われた。

D. 考察

1 型自己免疫性膵炎は、全身性疾患である IgG4 関連疾患 (血中 IgG4 高値、病変内 IgG4 陽性細胞増加を特徴とする原因不明の全身性疾患) の膵病変である。膵臓の腫大や腫瘤形成が特徴で、膵癌との鑑別が臨床的に重要である。現在は、画像診断、血清 IgG4 値、組織所見、他臓器病変の有無、ステロイドの有効性の有無をもとに、ICDC あるいは JPS 2011 (現在は改訂されて、JPS 2018) に基づいて診断が行われている。組織所見は特徴的で、条件を満たせば組織所見のみから 1 型自己免疫性膵炎の診断が確定するが、従来の検討は主に切除材料や Tru-cut 生検に基づくものであり、EUS-FNA による生検組織は検体量に問題があり、あまり議論されていない。

従来の EUS-FNA は十分な組織採取が困難であり、細胞診標本とセル・ブロック標本を併用し、特に細胞診検査を重視した診断が行われてきた。細胞形態から診断が可能である膵癌については、感度 (85~89%)、特異度 (96~98%) が極めて高く、膵癌を診断あるいは除外するための重要な検査と位置づけられてきたが、1 型自己免疫性膵炎の診断にはある程度大きな組織検体で組織像を評価することが必要であるため、診断に足る組織を採取することが困難であった。22 ゲージの生検針で生検診断の有用性を報告している論文はあるものの、病理医による生検組織の解析は十分に行われていないのが実情である。近年、穿

刺針の改良で EUS-FNA においても大きな組織検体の採取が可能となっており、生検診断可能なレベルに到達しつつあるが、一方で病理診断に当たっては従来とは異なるアプローチが必要となる。さらに、1 型自己免疫性膵炎が疑われる症例においては検体のすべてあるいは多くを組織検査に回すことがあるが、膵癌の診断および除外が組織標本のみで可能か、今まで検討は行われていない。

EUS-FNA 生検の 1 型自己免疫性膵炎診断における有用性を検討したところ、5mm 以下の症例も含めて解析すると花筈状線維化あり群はなし群よりも優位に組織が大きかったが、5mm 以上の症例に限って検討すると有意差は消失した。これは、大きな検体が採取されていても、特に炎症の消退のため典型的な花筈状線維化が消失することがあるためと考えられる。花筈状線維化は 1 型自己免疫性膵炎の組織学的確診の上で重要な所見で、これが得られないために確診にならないケースも少なからず存在していた。

しかしながら、今回の検討では免疫染色の結果向上により組織診断項目 2 項目合致が 92.1%と過去の報告よりも高頻度で、このことにより ICDC および JPS 2011 に基づいて 1 型自己免疫性膵炎の確診に組織所見が貢献することが明らかになった。免疫染色の向上した理由として、微小検体では形質細胞が採取時に破砕され、免疫染色の評価困難、あるいは IgG4 陽性細胞数の過少評価をきたすのに対し、大きな検体では破砕が乏しいことが理由と考えられた。

EUS-FNA 生検の有用性の検討も踏まえて「自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス」を完成させたが、これにより組織診断の均てん化、質向上が期待される。

「自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス」の有用性を検証するため、診断者間診断一致についての検討を行ったところ、特に

非腫瘍症例を膵癌と誤診する偽陽性例が減少し、ガイドンスの中で ADM について詳しく解説した効果と考えられた。一方で、膵癌を非腫瘍と誤診する偽陰性例の減少については、膵病理専門医では有効であったと思われるが、それ以外の病理医では有効でなかった。これは、膵癌診断への慣れの違いによるもので、異型の弱い膵癌を診断するには本ガイドンスのみでなく、偽陰性を減らすためには他の成書での学習、経験が必要と考えられる。ただ、偽陰性を減らすことは本ガイドンスの目的ではなく、これ以上踏み込むことは避けることにした。

自己免疫性膵炎の診断一致については、各所見の診断一致が芳しくない結果となった。ただ、今回の検証は膵病理専門医あるいは IgG4 関連疾患専門の病理医（当研究班班員）によりなされ、ガイドンス使用者として本来想定している一般病理医ではない。そのため、今後は一般病理医を対象とする同様の検証を行う方針である。

E. 結論

EUS-FNA 組織診断の有用性の検討と、自己免疫性膵炎の組織診断ガイドラインの作成を目的に研究を行った。EUS-FNA による大きな生検組織の採取は、特に免疫染色の向上により自己免疫性膵炎の確診に貢献できた。

「自己免疫性膵炎生検診断のためのガイドンス」は膵癌との鑑別に有効であったが、自己免疫性膵炎の診断についてはさらなる検証が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugimoto M, Takagi T, Suzuki R, Konno N, Asama H, Sato Y, Irie H, Watanabe K, Nakamura J, Kikuchi H, Takasumi M, Hashimoto M, Kato T, Hikichi T, Notohara K, Ohira H. Can the wet suction technique change the efficacy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for diagnosing autoimmune pancreatitis type 1? A prospective single-arm study. *World J Clin Cases*. 2020 Jan 6;8(1):88-96.
2. Kawa S, Kamisawa T, Notohara K, Fujinaga Y, Inoue D, Koyama T, Okazaki K. Japanese Clinical Diagnostic Criteria for Autoimmune Pancreatitis, 2018: Revision of Japanese Clinical Diagnostic Criteria for Autoimmune Pancreatitis, 2011. *Pancreas*. 2020 Jan;49(1):e13-e14.
3. Kamisawa T, Nakazawa T, Tazuma S, Zen Y, Tanaka A, Ohara H, Muraki T, Inui K, Inoue D, Nishino T, Naitoh I, Itoi T, Notohara K, Kanno A, Kubota K, Hirano K, Isayama H, Shimizu K, Tsuyuguchi T, Shimosegawa T, Kawa S, Chiba T, Okazaki K, Takikawa H, Kimura W, Unno M, Yoshida M. Clinical practice guidelines for IgG4-related sclerosing cholangitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2019 Jan;26(1):9-42.
4. 神澤 輝実, 中沢 貴宏, 田妻 進, 全 陽, 田中 篤, 大原 弘隆, 村木 崇, 乾 和郎, 井上 大, 西野 隆義, 内藤 格, 糸井 隆夫, 能登原 憲司, 菅野 敦, 窪田 賢輔, 平野 賢二, 伊佐山 浩通, 清水 京子, 露口 利夫, 下瀬川 徹, 千葉 勉, 岡崎 和一, 滝川 一, 木村 理, 海野 倫明, 吉田 雅博, 川 茂幸, 日本胆道学会, 作成委員会, Delphi 法によ

る専門家委員会, 評価委員会, 厚生労働省難治性疾患等克服研究事業「IgG4 関連疾患の診断基準ならびに治療指針の確立を目指す研究班」, 厚生労働省難治性疾患等克服研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する研究調査班」. IgG4 関連硬化性胆管炎診療ガイドライン .胆道 .33 巻 2 号 ,169-210 , 2019 .

2. 学会発表

1. Notohara K, Kamisawa T, Aishima S, Fukumura Y, Fukushima N, Furukawa T, Hirabayashi K, Kasashima S, Kojima M, Mitsuhashi T, Naito Y, Ohike N, Tajiri T, Uehara T, Yamaguchi H, Kawa S, Okazaki K. Can Endoscopic Ultrasound-guided Fine Needle Aspiration Biopsy Accurately Distinguish between Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Tumefactive Pancreatitis? An Interobserver Study. United States and Canadian Academy of Pathology 2020 Annual Meeting. Los Angeles, LA, USA. 2020 年 3 月.
2. 能登原憲司 .病理から見た 1 型自己免疫性膵炎の経過 .第 39 回日本画像医学会 .東京 . 2020 年 2 月 .
3. 能登原憲司 . IgG4 関連疾患における病態解析と今後の展望 .第 66 回日本臨床検査医学会学術集会 .岡山 . 2019 年 11 月 .
4. Notohara K, Kamisawa T, Iwasaki E, Kanno A, Kasashima S, Kodama Y, Kubota K, Kuraishi Y, Naitoh I, Nakase H, Nishino T, Sakagami J, Shimizu K, Ikeura T, Kawa S, Okazaki K. Efficacy and Limitations of IgG4-immunostaining and the Histological Evaluation for the Diagnosis of Type 1 Autoimmune Pancreatitis (AIP) in Endoscopic Ultrasound-guided Fine Needle

Aspiration (EUS-FNA) Biopsy. 50th Anniversary Meeting of American Pancreatic Association and Japan Pancreas Society. Maui, HI, USA. 2019 年 11 月.

5. 能登原憲司. IgG4 関連硬化性腸間膜炎 : IgG4 関連他臓器病変の有無による組織像の差異 . 第 56 回消化器免疫学会 . 京都 . 2019 年 8 月 .

6. 能登原憲司 . 1 型自己免疫性膵炎 病因と組織診断 . 日本病理学会総会 . 東京 . 2019 年 5 月 .

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1 . 特許取得

該当なし

2 . 実用新案登録

該当なし

3 . その他

該当なし