

潰瘍性大腸炎に合併した異型腺管における 増殖細胞とアポトーシス細胞の検討

東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科

鷹 橋 伸 子 鳥 居 明

東京慈恵会医科大学病理学講座

池 上 雅 博

(受付 平成 15 年 3 月 6 日)

DISTRIBUTION OF CELL PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN ULCERATIVE COLITIS WITH DYSPLASIA

Nobuko TAKAHASHI and Akira TORII

*Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine*

Masahiro IKEGAMI

Department of Pathology, The Jikei University School of Medicine

A total of 316 atypical glands were randomly selected from surgical histologic specimens of 7 cases of ulcerative colitis. The glands were classified into 4 categories on the basis of whether cells were clear (C) or dark (D) and of the presence (+) or absence (−) of differentiation toward the top portion of the gland. This subclassification resulted in 120 C (+), 62 C (−), 93 D (+), and 39 D (−) glands. Simultaneously, 32 normal glands, 40 inflammatory glands, 7 adenomas, and 17 intramucosal carcinomas were evaluated. The distributions of proliferative cells and apoptotic cells in each type of gland or tumor were analyzed with Ki-67 immunohistochemical staining and the TUNEL method, respectively. Positive cells were counted in each layer of the glands/tumors (upper third, middle third, and lower third), and the percentages of the positive cells were calculated. In all layers of D (−) glands, the percentage of proliferative cells (39.4%, upper third; 52.4%, middle third; 45.1%, lower third) was higher than in other types of glands. The distribution of apoptotic cells was shifted to the upper third in D (−) glands (50.2%, upper third; 22.7%, middle third; 13.1%, lower third). However, the distributions of proliferative cells (44.8%, upper third; 43.3%, middle third; 34.1%, lower third) and apoptotic cells (60.0%, upper third; 19.3%, middle third; 15.6%, lower third) in intramucosal carcinoma were similar to those in D (−) glands. These results suggest that atypical D (−) glands are associated with the development of cancer in ulcerative colitis.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2003; 118: 261-71)

Key words: ulcerative colitis, dysplasia, colorectal cancer, cell proliferation, apoptosis

I. 結 言

長期に経過した潰瘍性大腸炎には、癌が合併することがあり、またその周辺部粘膜には異型腺管が高率かつ多発性に併存していることが知られている¹⁾²⁾。潰瘍性大腸炎の経過観察中に異型腺管の出現がみられた場合、治療方針の決定にはその異型腺管が腫瘍性か否かを正確に診断することが重要である³⁾。

異型腺管の出現をみる潰瘍性大腸炎では、背景にある炎症の影響で、再生性と考えられる異型腺管も混在してくることは避けられず、病理組織学的に腫瘍性異型腺管と再生性異型腺管を鑑別することは時に困難である。

潰瘍性大腸炎に出現する異型腺管（以後、異型腺管と略）の異型度分類には厚生省診断基準および Riddell らの分類⁴⁾がおもに用いられている。ただし、これらの分類ではそれぞれの腺管の組織学的特徴が明記されておらず、具体性に欠け実用上適さないと考えられる。また、消化管病理医の間でも、その異型度診断に差があるのが実情である⁵⁾。

そこで今回我々は、異型腺管の組織学的な特徴を明らかにする目的で、まず異型腺管を H.E. 染色標本上で 4 つに分類した。さらに、免疫組織学的に抗 Ki-67 抗体 (MIB-1) により増殖細胞の分布を、TUNEL 法によりアポトーシス細胞の分布を検索し、異型腺管内での細胞分布を検討した。増殖細胞分布およびアポトーシス細胞分布に関しては、非潰瘍性大腸炎例から得られた正常腺管、腺腫、粘膜内癌と、潰瘍性大腸炎例より得られた異型のみられない腺管（以後、炎症腺管）との細胞

動態の違いをまず検討した。これらの所見とあわせて、異型腺管を比較検討し、組織学的にどのような特徴を持った異型腺管がより悪性度が高いと考えられるかについて明らかにした。

II. 対 象 と 方 法

1. 対象

対象は 1977 年から 1997 年まで当病理学講座にて検索された潰瘍性大腸炎の外科的手術例 35 例のうち、癌および異型腺管のみられた 7 例である。うち 2 例に癌合併がみとめられた (Table 1)。それらの中から、組織学的に腺管長軸方向の断面全体が描出可能な異型腺管を評価の対象とした。評価可能な異型腺管は総数で 316 腺管であった。

異型腺管と比較するために、正常大腸粘膜 32 例、異型腺管のみられない潰瘍性大腸炎 5 例、大腸腺腫 7 例、大腸粘膜内癌 17 例を用いた。正常大腸粘膜は大腸癌手術症例で癌より十分離れた部位の粘膜を用いた。異型腺管のみられない潰瘍性大腸炎手術症例の非活動部位より選出した腺管を、炎症腺管とした。大腸腺腫および大腸粘膜内癌は、内視鏡的切除術にて得られた非潰瘍性大腸炎例で、背景粘膜に炎症所見のみられない単発性の病変を用いた。

以上の中から腺管長軸方向の評価可能な腺管を、正常腺管では各例より 1 腺管ずつ計 32 腺管、炎症腺管では各例より 5 腺管ずつ計 40 腺管選出した。ただし、腺腫 7 例および粘膜内癌 17 例は長軸方向の断面を連続して描出することは困難であったため、各々について適宜細胞を選出し病変全体を評価した。

Table 1. Cases of UC with dysplasia

Case	Age	Gender	Duration of UC (Yrs.)	Type of UC	UC-Ca
1	45	M	6	total	+
2	48	M	9	total	+
3	34	M	10	total	—
4	30	M	5	total	—
5	43	M	6	total	—
6	29	F	14	total	—
7	22	F	9	total	—

UC: Ulcerative colitis, UC-Ca: Carcinoma with ulcerative colitis

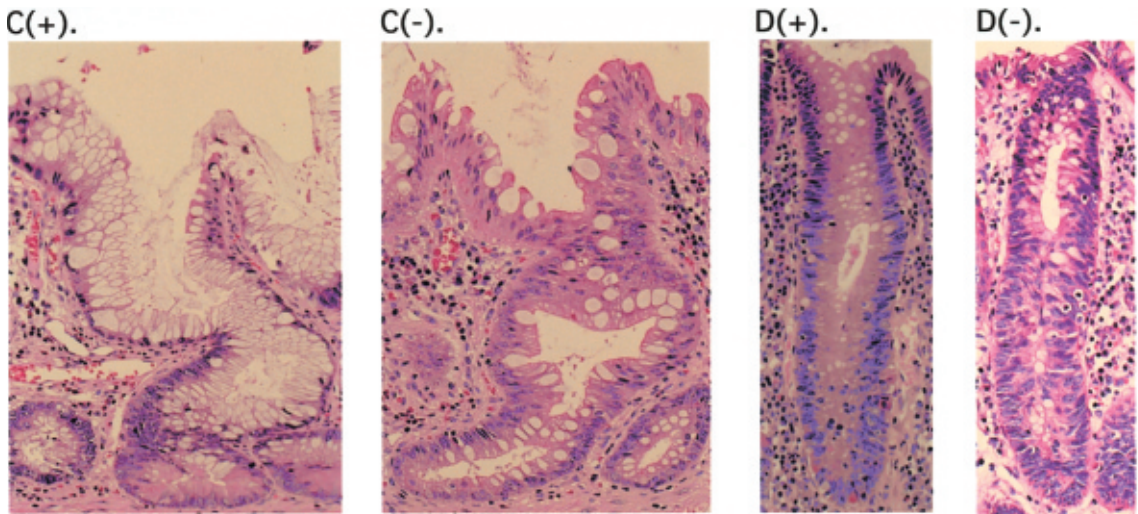


Fig. 1. Microscopic features of the 4 types of atypical glands. Clear cell type glands (C) contain abundant mucin in their cytoplasm. They are subclassified into C(+) or C(-) by cell differentiation at the surface. In contrast, cytoplasm of the dark cell type glands (D) are more eosinophilic with little mucous production. They are also subclassified into D(+) or D(-) by cell differentiation, as above.

C(+): clear cell type glands with differentiation,
 C(-): clear cell type glands without differentiation,
 D(+): dark cell type glands with differentiation,
 D(-): dark cell type glands without differentiation.

2. 異型腺管の定義、分類

異型腺管は以下のように定義した。潰瘍性大腸炎の非活動期例あるいは非活動部位において、核に腫大、クロマチン増量などの所見がみられ、また核密度が高い単一腺管あるいは集簇性の腺管で、構造異型がなく明らかな癌とはされないものを、異型腺管とした (Fig. 1)。

選出した異型腺管を光顕上から、細胞質に粘液が豊富で明るい明調型腺管 (clear cell type, 以後、明調型腺管) と、細胞質に粘液が乏しく好酸性の暗調型腺管 (dark cell type, 以後、暗調型腺管) とに分類した。明調型の腺管では、杯細胞が多く存在し粘液産生性が高い。一方、暗調型の腺管では、粘液産生性が低く、そのため杯細胞が少なく、存在しても小型の杯細胞が多くみられた。暗調型腺管では腺管全体としては、吸収上皮細胞が優位にみられた。

さらに明調型腺管と暗調型腺管それぞれを、表層分化のあるもの、すなわち正常粘膜における腺管と同様に腺管の腺底部から表層部にむかい細胞の成熟と分化がみられるものと、表層分化がない

ものに分類した。

その内訳は、明調型で表層分化のみられる腺管、みられない腺管はそれぞれ 122 腺管、62 腺管で、暗調型ではそれぞれ 93 腺管、39 腺管であった (Fig. 1)。

3. 免疫組織学的検討

ホルマリン固定パラフィン包埋標本より、3 μ m で薄切し、マイクロウエーブ処理 (95°C, 10min, クエン酸 Buffer) 後、増殖細胞を検索するため抗 Ki-67 抗体 (MIB-1, 100 倍希釈, Immunotech, France) を用いて SAB (Strept Avidin Biotin) 法でおこなった。

アポトーシスについては、これらと連続して薄切した切片に対し、Proteinkinase 処理 (20 mg/ml, 15 min) 後、Terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling method 以下 TUNEL 法 (In Situ Cell Death Detection Kit Fluorescein, Boehringer Mannheim, Germany) を行いアポトーシス細胞を検出した。

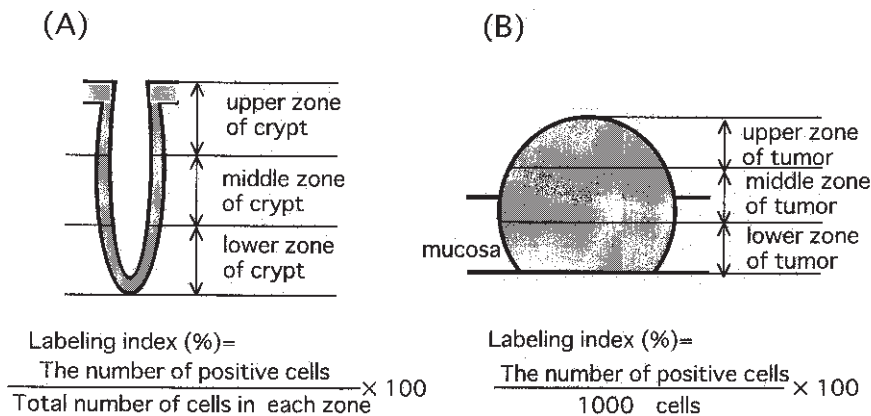


Fig. 2(A), (B). The calculation methods for the labeling index at each zone. Normal, inflammatory, and atypical glands were evaluated in the method (A). Adenoma and sporadic carcinoma were evaluated in the method (B).

4. 陽性細胞の評価方法

MIB-1 染色では、細胞の核内に存在する増殖関連抗原 Ki-67 が染色されるため、細胞周期が細胞休止期以外すなわち、G1 後期から M 期までの細胞の核が陽性となる⁶⁾⁷⁾。正常大腸腺管では、腺管内の増殖帯に一致して腺底部に分布する増殖細胞の核に陽性となる⁸⁾。TUNEL 法では、アポトーシスにより分断された DNA 断片の 3' OH 末端を標識検出するため、アポトーシスに陥った細胞の核が陽性となる⁹⁾。正常大腸腺管では、腺底部および腺管表層部に少数散見されるアポトーシス細胞の核に陽性となる¹⁰⁾。以上より、腺管の、表層部、中層部、腺底部の各部位において、増殖細胞およびアポトーシス細胞の局在が異なっていることから、腺管を 3 つに分割して検討した。

正常腺管、炎症腺管および異型腺管では、対象となる腺管の長軸を三等分する距離で、上層（表層部）、中層（中層部）、下層（腺底部）に腺管を分けた。その各層ごとに染色陽性細胞数と全体の細胞数を顕微鏡下でカウントした。カウント数は、一腺管につき、一切片上でカウント可能な全細胞を数えた。全カウント数に対し、染色陽性細胞の占める割合（百分率）を index として算出した (Fig. 2A)。

腺腫および粘膜内癌については、長軸方向に腺管全長を描出することは困難なため、腫瘍を長軸の長さで均等に三等分し、上層・中層・下層に分けた。その各層より、顕微鏡下で任意に細胞を

1,000 個カウントしそのうち染色陽性細胞の占める割合（百分率）を index として算出した (Fig. 2B)。

MIB-1 陽性細胞および TUNEL 法陽性細胞の分布様式の表記の仕方について、いずれの細胞とも腺管表層部に優位な場合を上方優位、腺管腺底部に優位な場合を下方優位、腺管全長にみられる場合を全層性と表記した。

潰瘍性大腸炎合併癌 4 例については、腫瘍が多方向へ増殖浸潤していて、三層へ分割することは困難であるため、腫瘍は分割せず、任意に 1,000 細胞カウントし、染色陽性細胞の占める割合（百分率）を index として算出した。

統計学的検索には、nonparametric test である Mann Whitney-U test を用いた。

III. 結 果

1. 臨床病理学的事項

35 例の潰瘍性大腸炎のうち、癌および異型腺管の認められた症例は 7 例である (Table 1)。年齢は 22~48 歳 (平均 35.9 歳)、性別は男性 5 症例、女性 2 症例、罹患年数 5~14 年 (平均 8.4 年)、病型はすべて全結腸型であった。7 例中 2 例に癌の合併がみられ、1 例は多発 S 状結腸癌 (① 2 型 43×40 mm, 中分化型腺癌, 深達度 mp, ② IIa 型 57×40 mm, 高分化型腺癌, 深達度 sm2 ③ Isp 型 8×7 mm, 高分化型腺癌, 深達度 m) と他の 1 例は直腸癌 (3 型 110×90 mm, 低分化型腺癌, 深達度 ss)

Table 2. Cases of UC-Ca

	Location	Growth type	Size (mm)	Depth	Histology	MIB-lindex (%)
Case 1	S	Type 2	43×40	mp	mod.	52.5
	S	II a	57×40	sm2	well	59.1
	S	I sp	8×7	m	well	37.9
Case 2	R	Type 3	110×0	ss	poor.	54.1

mod : moderately differentiated adenocarcinoma, well : well differentiated adenocarcinoma, poor : poorly differentiated adenocarcinoma

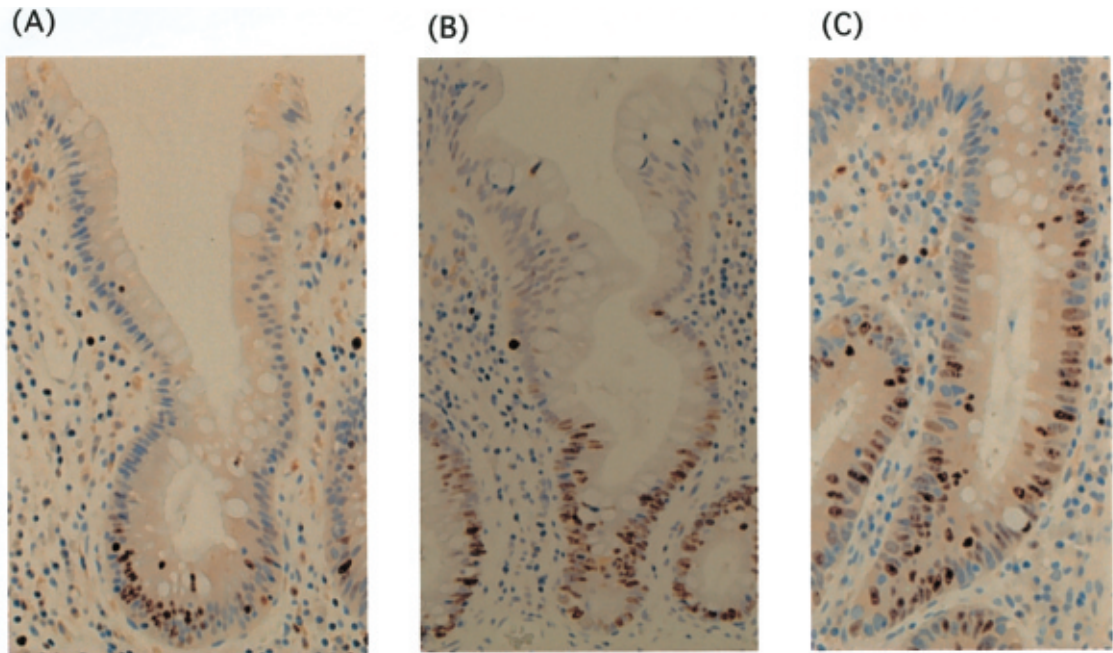


Fig. 3. Distribution of MIB-1 positive cells in normal, inflammatory, and atypical glands. MIB-1 positive cells are observed only at the bottom of the lower 1/3 layer in the normal gland (A). In the inflammatory gland (B), positive cells are distributed over the entire lower 1/3 layer in the gland. Positive cells have spread to the middle and upper areas in the atypical gland (C).

である (Table 2)。

2. MIB-1 および TUNEL 法の染色性

1) MIB-1 の染色性

正常腺管では、腺管の腺底部の細胞増殖帯に局限して陽性細胞がみられた (Fig. 3A)。

炎症腺管では、陽性細胞は腺底部から少し上方まで分布しているが、腺管下層に留まっていた (Fig. 3B)。異型腺管のうち、明調型で表層分化のある腺管では、陽性細胞は腺管下層に留まっていた。明調型で表層分化のないものと暗調型で表層分化のあるものでは、陽性細胞は腺管中層まで拡

がっていた。

異型腺管のなかでも、暗調型で表層分化がないものでは、陽性細胞が腺管の中層から上層へとさらに拡大していた (Fig. 3C)。

2) TUNEL 法の染色性

正常腺管ではアポトーシス細胞の分布が、上方優位に散在性にみられたが、腺底部にも陽性細胞が散見された (Fig. 4A)。

炎症腺管では全層性に陽性細胞がみられた (Fig. 4B)。異型腺管のうち明調型腺管では、表層分化のあるものとならないものともに、全層性に陽性

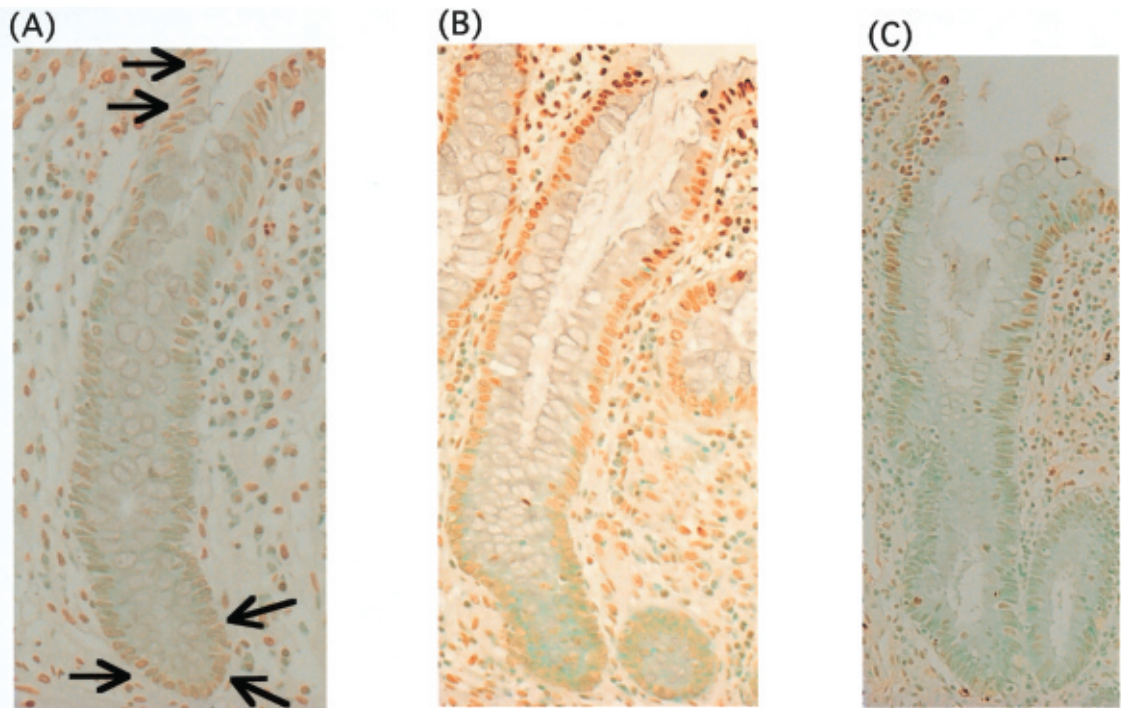


Fig. 4. Distribution of apoptotic cells by the TUNEL method. In the normal gland (A), positive cells are predominantly observed at the top portion of the gland, while less frequently seen at the bottom. Positive cells are distributed over all of the inflammatory gland (B). In the atypical gland, positive cells are predominantly distributed over the upper portion (C).

Table 3. MIB-1 index

	Upper	Middle	Lower
Normal $n=32$	0 ± 0.0^{U1}	4.9 ± 6.2^{M1}	22.5 ± 10.9^{L1}
IG $n=40$	0 ± 0.0^{U2}	15.3 ± 6.7^{M2}	30.2 ± 12.0^{L2}
Adenoma $n=7$	30.2 ± 17.7^{U3}	7.1 ± 2.9^{M3}	8.9 ± 4.5^{L3}
non UC-Ca $n=17$	44.8 ± 16.1^{U4}	43.3 ± 13.9^{M4}	34.1 ± 16.4^{L4}
C(+) $n=122$	0.5 ± 1.2^{U5}	16.6 ± 23.2^{M5}	34.7 ± 17.1^{L5}
C(-) $n=62$	12.0 ± 11.4^{U6}	45.8 ± 20.3^{M6}	34.6 ± 16.3^{L6}
D(+) $n=93$	11.8 ± 9.6^{U7}	40.2 ± 11.7^{M7}	32.8 ± 13.4^{L7}
D(-) $n=39$	39.4 ± 9.0^{U8}	52.4 ± 10.8^{M8}	45.1 ± 15.3^{L8}

Normal : normal glands, IG : inflammatory glands, non UC-Ca : intramucosal carcinoma without ulcerative colitis, C(+) : clear cell type glands with differentiation, C(-) : clear cell type glands without differentiation, D(+) : dark cell type glands with differentiation, D(-) : dark cell type glands without differentiation, Upper : upper zone of crypt or tumor, Middle zone of crypt or tumor. Lower zone of crypt or tumor. Values are expressed as mean \pm S.D.

$p < 0.05$: U1 vs. U3, U4 U2 vs. U3, U4, U6, U7, U8

U4 vs. U5, U6, U7 U5 vs. U6, U7, U8

U6 vs. U8 U7 vs. U8

M1 vs. M4 M2 vs. M4, M6, M7, M8 M3 vs. M4

M4 vs. M5

L1 vs. L2, L3, L4, L5 L2 vs. L3 L3 vs. L4 L2 vs. L7

Table 4. Apoptosis index

		Upper	Middle	Lower
Normal	<i>n</i> =32	53.9±15.2 ^{U1}	12.4±9.1 ^{M1}	18.3±13.9 ^{L1}
IG	<i>n</i> =40	65.3±10.8 ^{U2}	46.4±12.9 ^{M2}	48.6±9.2 ^{L2}
Adenoma	<i>n</i> =7	39.4±18.5 ^{U3}	2.6±1.8 ^{M3}	25.3±16.2 ^{L3}
non UC-Ca	<i>n</i> =17	60.0±11.9 ^{U4}	19.3±20.4 ^{M4}	15.6±10.9 ^{L4}
C(+)	<i>n</i> =122	66.8±11.2 ^{U5}	56.7±10.5 ^{M5}	50.4±16.9 ^{L5}
C(-)	<i>n</i> =62	58.6±10.3 ^{U6}	53.1±18.3 ^{M6}	41.7±13.2 ^{L6}
D(+)	<i>n</i> =93	53.4±17.9 ^{U7}	51.1±19.0 ^{M7}	27.2±14.2 ^{L7}
D(-)	<i>n</i> =39	50.2±14.0 ^{U8}	22.7±19.8 ^{M8}	13.1±14.1 ^{L8}

Values are expressed as mean±S.D.

p<0.05: U2 vs. U8 M1 vs. M2 M2 vs. M4, M5

L1 vs. L2 L2 vs. L7, L8 L4 vs. L5, L6 L5 vs. L7, L8

L6 vs. L7, L8

細胞がみられ、炎症腺管に類似していた。

異型腺管のなかでも、暗調型の腺管では、表層分化のあるものとないのともに、上方優位に陽性細胞の分布を認めた (Fig. 4C)。

3. MIB-1-index (Table 3)

正常腺管では、上層 0%，中層 4.9%，下層 22.5% と増殖細胞の分布が下方優位であった。

炎症腺管においても、上層 0%，中層 15.3%，下層 30.2% で、腺管内での増殖細胞の分布は下方優位の結果を示した。

腺腫では、上層 30.2%，中層 7.1%，下層 8.9% と、上方優位の結果を示した。

粘膜内癌では、上層 44.8%，中層 43.3%，下層 34.1% と全層性に増殖細胞の分布がみられた。

異型腺管における増殖細胞分布は、明調型で表層分化(+)の腺管では上層 0.5%，中層 16.6%，下層 34.7% と下方優位であった。明調型で表層分化(-)の腺管では、上層 12.0%，中層 45.8%，下層 34.6% と中下層優位であった。暗調型で表層分化(+)の腺管では上層 11.8%，中層 40.2%，下層 32.8% と中下層優位であった。暗調型で表層分化(-)の腺管では上層 39.4%，中層 52.4%，下層 45.1% と全層性に増殖細胞が分布していた。

潰瘍性大腸炎合併癌 4 例では、MIB-1 染色性は癌全体にびまん性に陽性細胞がみられ、index は各々 52.5%，59.1%，37.9%，54.1% であった (Table 2)。

4. Apoptosis-index (Table 4)

正常腺管では、上層 53.9%，中層 12.4%，下層

18.3% とアポトーシス細胞分布は上方優位であった。

炎症腺管では、上層 65.3%，中層 46.4%，下層 48.6% と全層性にアポトーシスが亢進していた。

腺腫では、上層 39.4%，中層 2.6%，下層 25.3% とアポトーシス細胞分布は上方優位であった。

粘膜内癌では、上層 60.0%，中層 19.3%，下層 15.6% とアポトーシス細胞分布は上方優位であった。

異型腺管においては、明調型で表層分化(+)の腺管では上層 66.8%，中層 56.7%，下層 50.4% とアポトーシスは全層性に亢進していた。明調型で表層分化(-)の腺管でも、上層 58.6%，中層 53.1%，下層 41.7% とやはり全層性に亢進していた。暗調型で表層分化(+)の腺管では、上層 53.4%，中層 51.1%，下層 27.2% とアポトーシス細胞分布は上方優位であった。暗調型で表層分化(-)の腺管でも、上層 50.2%，中層 22.7%，下層 13.1% と上方優位であった。

5. 各腺管および腫瘍での比較検討

1) 炎症腺管では、MIB-1-index は正常腺管と同様に下方優位であったが、下層での値が正常腺管より有意に高値であった (L1 vs. L2: *p*<0.05, Table 3)。

Apoptosis-index (以下 Apo-index) は正常腺管の上方優位とは異なり、全層性であり、とくに中層と下層では正常腺管に比して有意に高値であり (M1 vs. M2: *p*<0.05, L1 vs. L2: *p*<0.05, Table 4)，炎症腺管では全層性にアポトーシスが亢進し

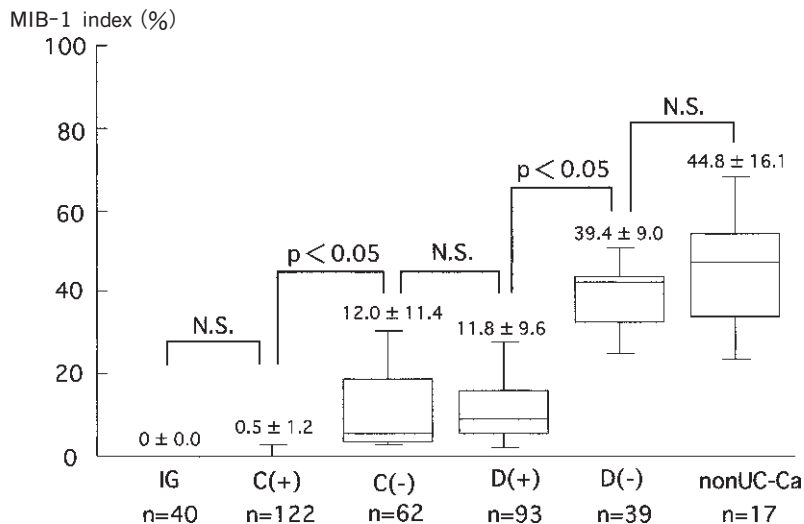


Fig. 5. MIB-index of upper zone. Values are expressed as mean \pm S.D.

ていた。

2) 腺腫では、MIB-1index は上方優位で、正常腺管に比し上層で有意に高値であったが (U1 vs. U3: $p < 0.005$, Table 3), 下層では、逆に低値であった (L1 vs. L3: $p < 0.05$, Table 3)。すなわち、腺腫での増殖細胞分布は、正常腺管や炎症腺管の下方優位とは異なり、上方優位の分布を示した。

Apo-index は上方優位で正常腺管と類似のアポトーシス細胞分布を示した。

3) 粘膜内癌では、MIB-1index は正常腺管より全層において高値であり (U1 vs. U4: $p < 0.005$, M1 vs. M4: $p < 0.005$, L1 vs. L4: $p < 0.05$, Table 3), 炎症腺管に比しても上層と中層では有意に高値であった (U2 vs. U4: $p < 0.005$, M2 vs. M4: $p < 0.005$, Table 3)。また腺腫と比べても中層と下層で有意に高値であった (M3 vs. M4: $p < 0.005$, L3 vs. L4: $p < 0.005$, Table 3)。すなわち、粘膜内癌では腫瘍全体に増殖細胞が分布し増殖活性が亢進していた。

Apo-index は上方優位で正常腺管や腺腫と類似のアポトーシス細胞分布を示した。

4) 異型腺管の検討

① 明調型で表層分化 (+) の腺管では、MIB-1index は下方優位であったが、下層で正常腺管より有意に高値であった (L1 vs. L5: $p < 0.05$, Table 3)。

Apo-index は、全層性の亢進がみられた。すな

わち、明調型で表層分化 (+) の腺管は、炎症腺管と類似の増殖細胞およびアポトーシス細胞分布であった。

② 明調型で表層分化 (-) の腺管ではMIB-1index は、炎症腺管に比し、上層と中層において有意に高値であった (U2 vs. U6: $p < 0.005$, M2 vs. M6: $p < 0.005$, Table 3)。

Apo-index は、全層で亢進していた。すなわち、明調型で表層分化 (-) の腺管は、増殖細胞活性は炎症腺管とは異なり上中層で亢進していたが、アポトーシス細胞分布は炎症腺管と類似していた。

③ 暗調型で表層分化 (+) の腺管では、MIB-1index は、炎症腺管に比し、上層と中層において有意に高値であり (U2 vs. U7: $p < 0.005$, M2 vs. M7: $p < 0.005$, Table 3), 明調型で表層分化 (-) の腺管と類似の結果であった。

Apo-index は、炎症腺管に比し腺管下層で有意に低値であった (L2 vs. L7: $p < 0.05$, Table 4)。

すなわち、暗調型で表層分化 (+) の腺管は増殖細胞およびアポトーシス細胞のどちらの点からも炎症腺管とは異なっていた。しかし、粘膜癌に比し MIB-1index は、上層で有意に低値であり (U4 vs. U7: $p < 0.005$, Table 3), 粘膜内癌ほど増殖活性が高くないといえる。

④ 暗調型で表層分化 (-) の腺管では、MIB-1index は、腺管全層性に高値であり、とくに上層

においては他の異型腺管に比し有意に高く (U7 vs. U8: $p < 0.005$, Table 3) 粘膜内癌と同等であった。

Apo-index は、炎症腺管に比し、全層において有意に低値であり (U2 vs. U8: $p < 0.005$, M2 vs. M8: $p < 0.05$, L2 vs. L8: $p < 0.05$, Table 4), 炎症腺管でみられたような腺管全層性のアポトーシスの亢進はみられなかった。

MIB-1-index の上層での結果を比較すると、明調型で表層分化 (+) の腺管は炎症腺管と同程度の増殖活性を示し、逆に暗調型で表層分化 (-) の腺管は粘膜内癌と同程度の増殖活性を示した。また、明調型で表層分化 (-) の腺管と暗調型で表層分化 (+) の腺管は両者の中間の性格を示した (Fig. 5)。

IV. 考 察

我々は潰瘍性大腸炎に合併した異型腺管を H.E. 標本上で観察し、表層分化の有無と、腺管を構成する円柱上皮細胞の細胞質の色調で分類し、それぞれの腺管の細胞動態について検討した。

増殖関連抗原 Ki-67 に対する抗体 (MIB-1) は Go 期以外の細胞増殖期 (G1, S, G2, M 期) の細胞をよく反映し、腫瘍性病変において高い染色率を示す⁶⁾⁷⁾。異型腺管においては、異型度が高くなると増殖細胞活性が亢進しており、腺管の質的診断に MIB-1 染色が有用である¹¹⁾。一方で、潰瘍性大腸炎の活動期においては、炎症の程度が強くなるにつれ、腺管内でアポトーシスが亢進するといわれている¹²⁾。また、腺腫と比して癌ではアポトーシスが低下することがいわれている¹³⁾。これらのことより、潰瘍性大腸炎に合併した異型腺管における増殖細胞とアポトーシス細胞を検索し、その結果を炎症腺管や粘膜内癌と比較することにより異型腺管の性格をより明らかにした。増殖細胞を検討するにあたり、今回は、各種病変のとくに上層において比較をおこなった。これは、腺腫や癌では、増殖細胞の分布が上層に高頻度に分布し、正常腺管や炎症腺管では、下層に優位に分布することが特徴であることによる⁶⁾⁷⁾¹¹⁾。すなわち、上層に増殖細胞が分布することが、大腸の腫瘍性病変を鑑別する重要な所見の 1 つと考えられるからである。

増殖細胞の分布は、正常腺管では腺底部に局在し、腺腫では腺管表層へと増殖帯が移行する⁸⁾。ついで腺腫の異型度が高くなるにつれ、増殖帯が表層から徐々に下方へと広がり、増殖帯の幅が拡大し、癌では腺管全層に増殖細胞がみられるようになる⁸⁾。我々の検討でも、正常腺管では増殖細胞は下方優位に分布し、腺腫では逆に上方優位に分布し、粘膜内癌では全層性に分布がみられた。一方、炎症腺管では増殖細胞は下方に分布していたが、正常腺管より増えており、炎症に伴う増殖細胞の活性亢進が示唆された。

他施設での潰瘍性大腸炎における増殖細胞の検討では、低異型度異型腺管に比し、高異型度異型腺管および癌において増殖細胞の比率が上昇するといわれている¹¹⁾。潰瘍性大腸炎で今回我々が分類した異型腺管のうち、明調型で表層分化のある腺管では、炎症腺管とほぼ同様の増殖細胞の分布と頻度を示した。明調型で表層分化のない腺管と暗調型で表層分化のある腺管では、増殖細胞の分布は正常腺管や炎症腺管のように下方優位であったが、腺管上層および中層にも増殖細胞の分布が比較的多くみられ、増殖活性が亢進しているものと考えられた。しかし上層での増殖細胞の比率は粘膜内癌ほどには高くなかった。暗調型で表層分化のない腺管では、腺管全層性に増殖細胞が分布するとともに、その比率も粘膜内癌と同等に高く、さらに、潰瘍性大腸炎に合併した癌と比べても、増殖細胞の比率は同等であった。すなわち、増殖細胞の点からみて、暗調型で表層分化がないという特徴をもつ腺管は、粘膜内癌に近いことが示唆された。

異型腺管においては、腺腫にみられるような増殖帯上方への移行⁸⁾はみられず、まず炎症に伴い下方での増殖活性亢進がみられ、中層から全層へ増殖帯の幅が下から上の方に拡大し、全層性に増殖活性が亢進すると考えられた。

TUNEL 法で同定されるアポトーシス細胞は、その核に陽性所見がみられ、正常大腸腺管では、腺底部および腺管表層部に少数散見される¹⁰⁾。潰瘍性大腸炎の炎症によりアポトーシス細胞分布が増加するといわれ¹²⁾、大腸腫瘍性病変における検討では、腺腫と高分化型腺癌を比較すると高分化型腺癌で陽性細胞率が低下しているといわれてい

る¹³⁾。我々の検討においても、アポトーシス細胞は、正常腺管では腺管の上方優位に分布していた。炎症腺管においては、全層性にアポトーシス細胞が分布し、腺管の中層、下層においては正常腺管に比べ、有意にアポトーシスが亢進していた。炎症腺管での増殖活性は、正常腺管に比べ、腺管の中下層において増加していたことと考えあわせると炎症腺管では腺管内でアポトーシスおよび細胞回転が亢進し、細胞の脱落と再生が激しく惹起されているものと考えられた。腺腫と粘膜内癌では正常腺管と同様に上方優位のアポトーシス細胞分布を示した。粘膜内癌で、全層性に増殖活性が亢進しているにもかかわらずアポトーシスの亢進がみられないことは、癌腺管では、正常腺管あるいは炎症腺管のように効率良く細胞が排除されず、それに伴い腫瘍の増殖能が高くなっていることが示唆される。

異型腺管において、明調型腺管では、表層分化のあるないによらず、炎症腺管と同様に全層においてアポトーシスが亢進していた。潰瘍性大腸炎においては、炎症によりアポトーシスが亢進することが知られており¹²⁾、アポトーシス細胞の分布と頻度からみて、明調型腺管は暗調型腺管に比し、炎症の影響をそのまま反映している状態であることが考えられた。いいかえると、アポトーシスの面からみて明調型腺管は反応性あるいは炎症性の変化であることが示唆された。さらに、明調型で表層分化のある腺管は増殖細胞の分布と頻度も炎症腺管とほぼ同等であり、増殖細胞の面からも、炎症腺管と同等に評価でき、非腫瘍性すなわち再生性腺管であることが示唆された。

明調型腺管で表層分化のない腺管と暗調型で表層分化のある腺管は、増殖細胞の分布と頻度およびアポトーシス細胞の分布と頻度は、ともに、比較的類似した結果を示した。アポトーシス細胞の分布からは、明調型腺管で表層分化のない腺管は腺管全層性にアポトーシスの亢進がみられ、暗調型で表層分化のある腺管は上中層にアポトーシスの亢進がみられ、上中層での値はほぼ同等であった。増殖細胞の分布と頻度は、腺管中下層で最も増殖細胞が多いものの、両方ともに上層で12%程度の値を示した。これは、前述した我々が非腫瘍性変化と考えた明調型で表層分化のある腺管の上

層と比較して、有意に高い値であった。また、腺管表層部に増殖細胞がみられることは、正常腺管、炎症腺管、腺腫、粘膜内癌での各々の上層での増殖細胞の頻度と比較して、腫瘍性性格を示唆するのに重要な所見のひとつと考えられる⁸⁾。この点から、明調型で表層分化のない腺管と暗調型で表層分化のある腺管は、腫瘍性腺管と考えられた。この2者の腺管のもう1つ特徴として、アポトーシス細胞の頻度がほぼ腺管全長にわたり高いことがあげられる。すなわち、増殖活性が高いことから、新しく細胞がつくられる一方で、旺盛なアポトーシスにより、比較的効率良く細胞が排除されている可能性が考えられる。したがって、これらの腺管では、つぎに述べる暗調型で表層分化のない腺管より増殖性が低いことが示唆される。

暗調型で表層分化のない腺管では、アポトーシスの亢進はみられなかった。さらに、前述したように増殖活性は他の腺管に比し、全層性に有意に高く認められ、粘膜内癌と同様の細胞動態を示した。増殖細胞とアポトーシスとは1つの腺管内で正と負の関係にあり、両者の関係がバランスよく保たれることで、その腺管の組織形態および生物学的性格が定まってくると考えられる¹²⁾。我々が分類した暗調型で表層分化のない腺管では、全長にわたり増殖細胞が多く、この腺管内ではいたるところが増殖の場であると考えられる。反面アポトーシス細胞が少ないことから、増殖した細胞が効率良く排除されず、腺底部から粘膜表層に向かう細胞の流れが強く障害されていると考えられる。このことは、暗調型で表層分化のない腺管は、粘膜内癌と同様に、腺管の増殖能が高いことを示唆し、癌と同等に扱われるべき病変と考えられた。

V. 結 語

1) 病理組織学的に異型腺管をその色調から明調型と暗調型に分類し、さらに表層分化のあるものとないものに分けることは、腫瘍性異型腺管と再生性異型腺管とを鑑別診断する上で有用であった。

2) 異型腺管のなかで暗調型で表層分化のない腺管は、高い増殖活性を示し、粘膜内癌と同様の生物学的性状を有すると考えられた。

3) 明調型で表層分化のある腺管は、再生性す

なわち非腫瘍性腺管と考えられた。

4) 明調型で表層分化のない腺管と暗調型で表層分化のある腺管は、腫瘍性異型腺管と考えられたが、その増殖活性は暗調型で表層分化のない腺管よりは低いと考えられた。

本稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科戸田剛太郎教授に深謝いたします。また御協力を賜りました病理学講座の諸兄に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 鈴木公孝, 武藤徹一郎. 炎症性腸疾患からの発がん. 最新医学 1996; 51: 1465-9.
- 2) Lennard Jones JE, Melville DM, Morson BC, et al. Precancer and cancer in extensive ulcerative colitis: findings among 401 patients over 22 years. Gut 1990; 31: 800-6.
- 3) Morson BC, Pang LSC. Rectal biopsy as an aid to cancer control in ulcerative colitis. Gut 1967; 8: 423-34.
- 4) Riddel RH, Goldman H, Ransohoff DF, Appleman HD, Fenoglio CM, Hggitt RC, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease standardized classification with provisional clinical applications. Hum Pathol 1983; 14: 931-68.
- 5) Eaden J, Abrams K, McKay H, Denley H, Mayberry J. Inter observer variation between general and specialist gastrointestinal pathologists when grading dysplasia in ulcerative colitis. J Pathol 2001; 194: 152-7.
- 6) Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol 1984; 133: 1710-5.
- 7) Key G, Becker MH, Baron B, Duchrow M, Schluter C, Flad HD, et al. New Ki-67-equivalent murine monoclonal antibodies (MIB1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three 62 base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope. Lab Invest 1993; 68: 629-36.
- 8) Johnston PG, O'Brien MJ, Dervan PA, Carney DN. Immunohistochemical analysis of cell kinetic parameters in colonic adenocarcinomas, adenomas, and normal mucosa. Hum Pathol 1989; 20: 696-700.
- 9) Umemura S, Yasuda M, Osamura RY, Kawarada Y, Sigiya T, Tsutsumi Y. Enhancement of TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) method using among bean nuclease, a single-stranded DNA digestion enzyme. J Histochem Cytochem 1996; 44: 125-32.
- 10) 井尻憲一. 腸の幹細胞とアポトーシス. 実験医学増刊アポトーシス—細胞死の機構. 東京: 羊土社; 1993. p. 104-9.
- 11) Andersen SN, Rognum TO, Bakka A, Clausen OPF. Ki-67: a useful marker for the evaluation of dysplasia in ulcerative colitis. J Clin Pathol Mol Pathol 1998; 51: 327-32.
- 12) Iwamoto M, Koji T, Makiyama K, Kobayashi N, Nakane PK. Apoptosis of crypt epithelial cells in colitis. J Pathol 1996; 180: 152-9.
- 13) Tsujitani S, Shirai H, Tatebe S, Sugamura K, Ohfuji S, Gomyo Y, et al. Apoptotic cell death and its relationship to carcinogenesis in colorectal carcinoma. Cancer (suppl) 1996; 77: 1711-6.